

细胞分裂素氧化酶（CKO/CKK）活性测定试剂盒（微板法）

产品货号：BA2824

产品规格：96样

产品简介：

细胞分裂素氧化酶(CKO/CKX, EC1.5.99.12)既能特异性催化细胞分裂素类异戊二烯侧链的不饱和键,又能控制CK的合成与降解以稳定植物体内CK的含量,是目前发现的唯一可促进内源CK降解的关键酶。

细胞分裂素氧化酶(CKO/CKX)催化底物进一步还原2,6-二氯酚靛酚(DCPIP),使该物质在600nm处的吸光值减小,通过检测600nm处的下降速率进而得到CKO/CKX酶活性大小。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	备注
提取液	液体120mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部,再加1.1mL蒸馏水溶解,并用蒸馏水稀释10倍待用。
试剂二	粉剂mg×1支	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部,再加1.1mL无水乙醇溶解待用。
试剂三	液体14mL×1瓶	2-8℃	

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、可调式移液器、低温离心机、研钵。

细胞分裂素氧化酶（CKO/CKK）活性测定：

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1. 样本制备：

取约0.2g组织(水分充足的样本可取0.5g),加入1mL提取液,进行冰浴浆,4℃×12000rpm离心15min,取上清液待测。

【注】：若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例提取。

2. 上机检测：

(1) 酶标仪预热30min以上,调节波长至600nm,所有试剂解冻至室温(25℃)。

(2) 在96孔板中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	140
样本	40
混匀,室温(25℃)下,10s时立即于600nm处读取A1,5min后读取A2, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】

1. 若A1值小于0.3,则可减少样本加样体积V1(如减至20μL,试剂三相应增加),则改变后的V1需代入计算公式重新计算。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

2. 若 ΔA 的值在零附近徘徊,可增加样本加样体积 V_1 (如增至 $80\mu\text{L}$,试剂三相应减少),或延长反应时间 T (如由 5min 后读取 A_2 延至 10min),则改变后的 V_1 和 T 需代入计算公式重新计算。

结果计算:

1. 按样本蛋白浓度计算:

酶活定义: 每毫克组织蛋白每分钟还原 1nmol 的2,6-二氯酚靛酚(DCPIP)为一个酶活力单位。

$$\text{CKO/CKX活力}(\text{nmol/min/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9] \div (V_1 \times \text{Cpr}) \div T = 95.24 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按样本鲜重计算:

酶活定义: 每克组织每分钟还原 1nmol 的2,6-二氯酚靛酚(DCPIP)定义为一个酶活力单位。

$$\text{CKO/CKX活力}(\text{nmol/min/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V_2 \times 10^9 \div (W \times V_1 \div V)] \div T = 95.24 \times \Delta A \div W$$

ϵ ---2,6-二氯酚靛酚摩尔消光系数, $2.1 \times 10^4 \text{ L/mol/cm}$; d ---96孔板光径, 0.5cm ; V ---加入提取液体积, 1mL ;
 V_1 ---加入样本体积, 0.04mL ; V_2 ---反应体系总体积, $2 \times 10^{-4} \text{ L}$; T ---反应时间, 5min ; W ---样本质量, g ; 500--
细胞或细菌总数, 500万; Cpr ---样本蛋白质浓度, mg/mL ; 建议使用本公司的BCA蛋白含量检测试剂盒。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com