Cytokinin oxidase (CKO/CKK) activity assay Kit

细胞分裂素氧化酶（CKO/CKX）试剂盒说明书

货号：BN72596 | 方法：微板法 | 规格：96 样

一、产品简介：

细胞分裂素氧化酶（CKO/CKX，EC 1.5.99.12）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。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.1mL 蒸馏水溶解，并用蒸馏水稀释 5 倍待用。
试剂二	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.1mL 无水乙醇溶解待用。
试剂三	液体 14mL×1 瓶	4℃保存	

三、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。

四、细胞分裂素氧化酶 (CKO/CKX)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，进行冰浴匀浆，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，△A=A1-A2。	

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、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。

CKO/CKX 活力(nmol/min /mg prot)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(V1×Cpr) ÷T=95.24×ΔA÷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。

CKO/CKX 活力(nmol/min/g 鲜重)=[ΔA÷(ε×d)×V2×10^9]÷(W×V1÷V)÷T=95.24×ΔA÷W

ε---2,6-二氯吲哚酚摩尔消光系数，2.1×10^4 L/mol/cm；　　d---96 孔板光径，0.5cm；

V---加入提取液体积，1mL；　　V1---加入样本体积，0.04mL；

V2---反应体系总体积，2×10^{-4} L；　　T---反应时间，5min；

W---样本质量，g；　　500--细胞或细菌总数，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。