

Chitinase Activity Assay Kit

几丁质酶活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1807B	几丁质酶活性检测试剂盒 微板法	48T

产品简介:

多种微生物、动物、植物等都可产生几丁质酶，高等植物本身不存在作为真菌细胞壁组分之一几丁质，但当植物受到病原菌感染时，几丁质酶活性迅速提高。因此该酶与植物对病原微生物的抗性有关，是重要的病程相关蛋白。

几丁质酶主要水解几丁质多聚体中 β -1,4-糖苷键，在蜗牛酶的作用下全部水解为 N-乙酰氨基葡萄糖单体，进一步与铁氰化钾反应，于 420nm 处检测，进而计算得到几丁质酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 5mL 盐酸充分混匀溶解后，再加 5.5mL 蒸馏水混匀备用。
试剂三	粉末×1 支	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用。
试剂四	2mL×1 支	4°C保存	
试剂五	5mL×1 瓶	4°C保存	
试剂六	粉末×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 24mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂。

使用方法:

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！

一、样本准备

1. 组织样本:

- (a) 称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆；
- (b) 12000rpm，4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【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 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本:

- (a) 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- (b) 取 5×10^6 个细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；
- (c) 12000rpm 4°C离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，按照每 $0.5 \sim 1 \times 10^7$ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



3. 液体样品:

直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 420nm。

2. 在离心管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	80	-
煮沸样本	-	80
试剂一	100	100
试剂二	100	100
混匀, 37°C (恒温培养箱) 孵育 1.5h, 4000rpm 离心 5min, 取上清		

3. 在离心管中依次加入:

上清液	150	150
试剂三	10	10
试剂四	15	15
混匀, 37°C 孵育 1h		
试剂五	50	50
混匀, 4000rpm 离心 5min, 取上清液待测,		

4. 在离心管中依次加入:

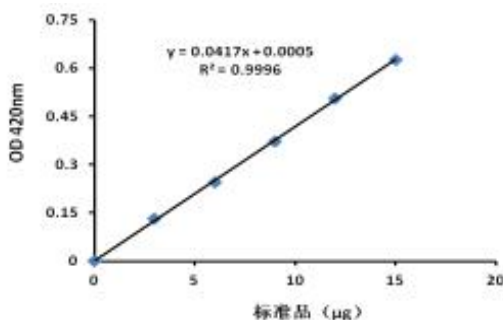
上清液	150	150
试剂六	200	200
混匀, 95-100°C 煮沸 10min, 取 200μL 至 96 孔板中于 420nm 处读取各管吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】: 1. 煮沸的样本: 取出部分上清液于 95-100°C 煮沸 10min, 使样本里面的酶失去活性。

2. 若 ΔA 较小, 可以加大样本量 (如增至 120μL, 则试剂一相应减少), 或增加样本取样量 (如 0.2g), 则改变后的 V1 和样本 W 需代入公式重新计算。

三、结果计算

1. 标准曲线方程: $y = 0.0417x + 0.0005$, X 是标准品质量 (μg), y 是 ΔA 。



2. 按照样本重量计算:

定义: 每克组织每小时分解几丁质产生 1μgN-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个单位。

几丁质酶活(μg/h/g 鲜重) = $[(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.6] \div (V1 \div V \times W) \div T = 519.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div W$

3. 按照蛋白质浓度计算:

定义: 每毫克蛋白每小时分解几丁质产生 1μgN-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个单位。

几丁质酶活(μg/h/mg prot) = $[(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.6] \div (V1 \times Cpr) \div T = 519.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div Cpr$

4. 按细胞数量计算:

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



定义：每 10^4 个细胞每小时分解几丁质产生 $1\mu\text{g}$ N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个单位。

$$\begin{aligned}\text{几丁质酶活}(\mu\text{g/h}/10^4\text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.6] \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \div T \\ &= 519.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div \text{细胞数量}\end{aligned}$$

5. 按照液体体积计算：

定义：每毫升液体每小时分解几丁质产生 $1\mu\text{g}$ N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个单位。

$$\text{几丁质酶活}(\mu\text{g/h/mL}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.6] \div V1 \div T = 519.6 \times (\Delta A - 0.0005)$$

V---提取液体积，1mL

T---反应时间，1.5h

W---样本质量，g

Cpr---样本蛋白质浓度，mg/mL

V1---样本体积，0.08mL

2.6---体积系数

标准品分子量---221.21

细胞数量---500，万

附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液（ 1mg/mL ）：标准品临用前加 2mL 蒸馏水，即为 1mg/mL 。
2. 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1mg/mL 。
3. 依据第 4 步骤的加样体系： $150\mu\text{L}$ 标准品+ $200\mu\text{L}$ 试剂六，混匀， $95-100^\circ\text{C}$ 煮沸 10min，取 $200\mu\text{L}$ 至 96 孔板中于 420nm 处读取各管吸光值 A，标准品的质量作为横坐标， 0mg/mL 对应 A 值减去各浓度标准品对应 A 值之差作为纵坐标，即可得出标准曲线。

注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4°C 保存六个月。

