

## 几丁质酶 (Chitinase) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

几丁质主要存在于虾、蟹、昆虫等甲壳类动物的外壳与软体动物的器官(例如乌贼的软骨), 以及真菌类的细胞壁中。而几丁质酶(EC 3.2.1.14)可催化几丁质水解, 具有抵御真菌侵染的作用, 成为抗真菌病害的研究热点。

### 测定原理:

几丁质酶水解几丁质产生 N-乙酰氨基葡萄糖, 进一步与对二甲氨基苯甲醛产生红色化合物, 在 585nm 处有特征吸收峰, 吸光值增加速率反映了几丁质酶的活性。

### 组成:

产品名称	GMS052-50T/24S	Storage
提取液: 液体	100 ml	4°C
试剂一: 液体	10 ml	4°C
试剂二: 液体	10 ml	4°C
试剂三: 液体	10 ml	4°C
试剂四: 液体	20 ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂二: 液体 10 ml×1 瓶, 4°C保存。(若出现结晶, 可 80°C左右加热溶解后使用)

### 自备仪器和用品:

天平、水浴锅、离心机、可见分光光度计、1 ml 玻璃比色皿, 蒸馏水。

### 粗酶液提取:

1. 组织: 按照组织质量 (g) : 提取液体积 (ml) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1 ml 提取液) 进行冰浴匀浆, 然后 10000g, 4°C离心 20min, 取上清, 置冰上待测。
2. 真菌: 按照细胞数量 ( $10^4$  个) : 提取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 ml 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 然后 10000g, 4°C, 离心 20min, 取上清置于冰上待测。
3. 培养液: 直接测定。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



**测定操作表：**

	对照管	测定管
粗酶液 (μl)	400	400
提取液 (μl)	600	200
试剂一 (μl)		400
混匀, 37°C水浴 1h		
试剂二 (μl)	200	200
混匀, 沸水浴 7min, 5000rpm, 4°C, 离心 10min, 取上清 1000μl。		
试剂三 (μl)	200	200
试剂四 (μl)	400	400
混匀, 37°C, 15min, 蒸馏水调零, 1 ml 玻璃比色皿, 测定 A <sub>585</sub> , ΔA=A 测定-A 对照。		

**计算公式：**

标准曲线:  $y=0.3088-0.003$ ,  $R^2=0.9995$

计算公式:

1、按照样本重量计算

酶活性定义: 37°C条件下, 每克组织每小时分解几丁质产生 1mg N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活性单位。

$$\begin{aligned} \text{几丁质酶活性 (mg/h/g 鲜重)} &= (\Delta A+0.003) \div 0.3088 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T \\ &= 8.096 \times (\Delta A + 0.003) \div W \end{aligned}$$

2、按照蛋白质浓度计算

酶活定义: 37°C条件下, 每毫克蛋白每小时分解几丁质产生 1mgN-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{几丁质酶活性 (mg/h mg prot)} &= (\Delta A+0.003) \div 0.3088 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T \\ &= 8.096 \times (\Delta A + 0.003) \div C_{\text{pr}} \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算

酶活定义: 37°C条件下, 每 10<sup>4</sup> 个细胞每小时分解几丁质产生 1mgN-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活单位。

$$\begin{aligned} \text{几丁质酶活性 (mg/h / 10}^4 \text{ cell)} &= (\Delta A+0.003) \div 0.3088 \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times \text{细胞数量}) \\ &= 8.096 \times (\Delta A + 0.003) \div \text{细胞数量} \end{aligned}$$

4、按液体体积计算

酶活定义: 37°C条件下, 每毫升培养液每小时分解几丁质产生 1mg N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活单位。

$$\text{几丁质酶活性 (mg/h / ml)} = (\Delta A+0.003) \div 0.3088 \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} = 8.096 \times (\Delta A + 0.003)$$

V 反总: 反应体系总体积, 1 ml; V 样: 反应体系中样本体积, 0.4 ml; V 样总: 加入提取液体积, 1 ml;  
W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白浓度, mg/ ml

**注意事项：**

- 1、反应结束后立即进行比色。
- 2、试剂四有一定的毒性, 请操作时做好防护措施。

