

几丁质外切酶试剂盒（微板法）

产品货号：BA2681

产品规格：48样

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的几丁质，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。依据水解位置的不同可分为几丁质内切酶和几丁质外切酶，几丁质外切酶作用于几丁质后，生成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外切酶活性大小。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂×1瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，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	液体5mL×1瓶	2-8℃	
试剂四	粉剂×1瓶	2-8℃	临用前甩几下使粉剂落入底部，再加24mL蒸馏水混匀备用。
标准品	粉剂×1支	2-8℃	若重新做标曲，则用到该试剂。

所需的仪器和用品：

酶标仪、96孔板、天平、水浴锅、低温离心机、盐酸、蒸馏水。

几丁质外切酶活性测定：

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：

① 组织样本：

称取约0.1g组织，加入1mL提取液，进行冰浴匀浆。于4℃，12000rpm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 真菌样本：

先收集细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细胞加入1mL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)；于4℃，12,000rpm离心10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2. 上机检测：

① 酶标仪预热30min以上，调节波长至420nm。

② 所有试剂解冻至室温（25℃）。

③ 煮沸样本的制备：可取至少200 μ L待测样本上清液于95-100℃煮沸10min后，于室温或4℃×12000rpm离心10min，上清液即为对照管的待检液。

④ 在EP管中依次加入：

试剂名称（ μ L）	测定管	空白管
样本	80	



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

煮沸的样本		80
试剂一	80	80
试剂二	100	100
混匀，37℃（恒温培养箱）孵育1.5h后，4000rpm离心5min，取上清		

⑤ 在EP管中依次加入：

上清液	175	175
试剂三	50	50
混匀，4000rpm离心5min，取上清液待测		

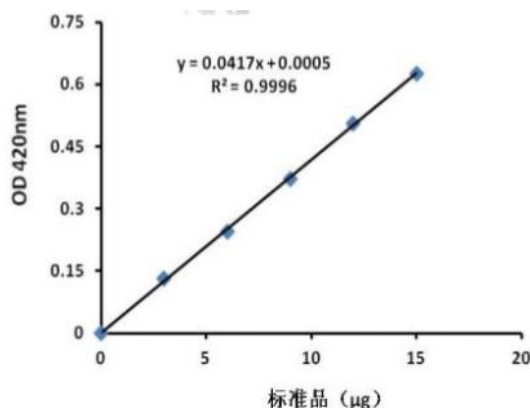
⑥ 在EP管中依次加入：

上清液	150	150
试剂四	200	200
混匀，95-100℃煮沸8min，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.若 ΔA 小于0.01，可以加大样本量V1(如增至120μL，则试剂一相应减少)，或增加样本取样量W(如至0.2g)，则改变后的V1和W需代入公式重新计算。

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。

$$\text{几丁质外切酶}(\mu\text{g/h/g 鲜重}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.23] \div (V1 \div V \times W) \div T \\ = 445.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div W$$

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。

$$\text{几丁质外切酶}(\mu\text{g/h/mg prot}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.23] \div (V1 \times Cpr) \div T \\ = 445.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div Cpr$$

4. 按细胞数量计算：

定义：每10⁴个细胞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。

$$\text{几丁质外切酶}(\mu\text{g/h}/10^4\text{cell}) = [(\Delta A - 0.0005) \div 0.0417 \times 2.23] \div (V1 \div V \times \text{细胞数量}) \\ = 445.6 \times (\Delta A - 0.0005) \div \text{细胞数量}$$

V---提取液体积，1mL；V1---样本体积，0.08mL；T---反应时间，1.5h；W---样本质量，g；2.23---体积系数；标准品分子量---221.21；Cpr---样本蛋白浓度，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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com