

CheKine™ 土壤几丁质酶活性检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB4058

Size: 48 T/24 S 96 T/48 S

	土壤几丁质酶活性检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB4058	LOT	批号：见产品标签
	检测范围：0.15-1.6 mg/mL		灵敏度：0.15 mg/mL
	适用样本：土壤		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

原理

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。CheKine™ 土壤几丁质酶活性检测试剂盒（微量法）可检测动物组织、真菌、液体等生物样本。在该试剂盒中，土壤几丁质酶水解几丁质产生 N-乙酰-D-氨基葡萄糖，进一步与 DNS 试剂反应产生棕红色化合物，在 540 nm 处有特征吸收峰，吸光值增加速率反映了土壤几丁质酶的活性。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	10 mL	20 mL	4℃
Reagent II	6 mL	12 mL	4℃，避光保存
Reagent III	10 mL	20 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 540 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 恒温箱、制冰机、低温离心机、30-50 目筛
- 去离子水、甲苯

试剂准备

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。Reagent II 为饱和溶液，使用前充分摇匀。

Reagent III: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

注意: Reagent III 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护。

Standard: 临用前配制；每瓶加入 1 mL 去离子水，充分溶解，即 5 mg/mL N-乙酰-D-氨基葡萄糖 Standard；使用前，平衡到室温。4℃避光保存 1 个月。使用 5 mg/mL N-乙酰-D-氨基葡萄糖，按照下表所示，进一步稀释标准品：

序号	Standard 体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
Std.1	80 μL of 5 mg/mL Standard	170	1.6
Std.2	70 μL of 5 mg/mL Standard	180	1.4
Std.3	60 μL of 5 mg/mL Standard	190	1.2
Std.4	50 μL of 5 mg/mL Standard	200	1.0
Std.5	40 μL of 5 mg/mL Standard	210	0.8
Std.6	30 μL of 5 mg/mL Standard	220	0.6
Std.7	20 μL of 5 mg/mL Standard	230	0.4
Std.8	7.5 μL of 5 mg/mL Standard	242.5	0.15

注意: 每次实验都要做一次标准品检测；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意: 推荐使用新鲜土壤样本。土壤几丁质酶在虾塘蟹塘中活性较高。

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

- 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
- 操作表（下述操作在 1.5 mL 离心管进行）：

试剂	测定管	对照管	标准管	空白管
样本 (g)	0.05	0.05	0	0
甲苯	10	10	0	0
混匀，25℃孵育 15 min。对照管沸水浴灭活 10 min，室温冷却。			0	0
Reagent I (μL)	140	140	0	0
Reagent II (μL)	100	100	0	0
混匀，37℃孵育 24 h。沸水浴 5 min 终止反应，室温冷却后 8,000 g，4℃离心 10 min，取上清液。			0	0
上清液 (μL)	175	175	0	0
Standard (μL)	0	0	175	0
去离子水 (μL)	0	0	0	175
Reagent III (μL)	125	125	125	125

- 混匀，95℃准确孵育 5 min，迅速流水冷却后取 200 μL 至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，记录 540 nm 处吸光值，空白孔记为 A



空白，标准孔记为 $A_{\text{标准}}$ ，对照孔记为 $A_{\text{对照}}$ ，测定孔记为 $A_{\text{测定}}$ 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：(1) 空白孔和标准孔只需做 1-2 次，每个测定孔均需设置一个对照孔。(2) 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。(3) 如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.6 mg/mL 的 $\Delta A_{\text{标准}}$ ，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 代入方程得到 x (mg/mL)。

2. 土壤几丁质酶活性的计算：

单位的定义：37°C，每 g 土壤每小时分解几丁质产生 1 mg N-乙酰-D-氨基葡萄糖定义为一个酶活力单位。

土壤几丁质酶(U/g 土壤) = $(V_{\text{反应}} \times x) \div W \div T = 0.25x \div W$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.25 mL；T：反应时间：24 h=1 d；W：样本质量，g。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

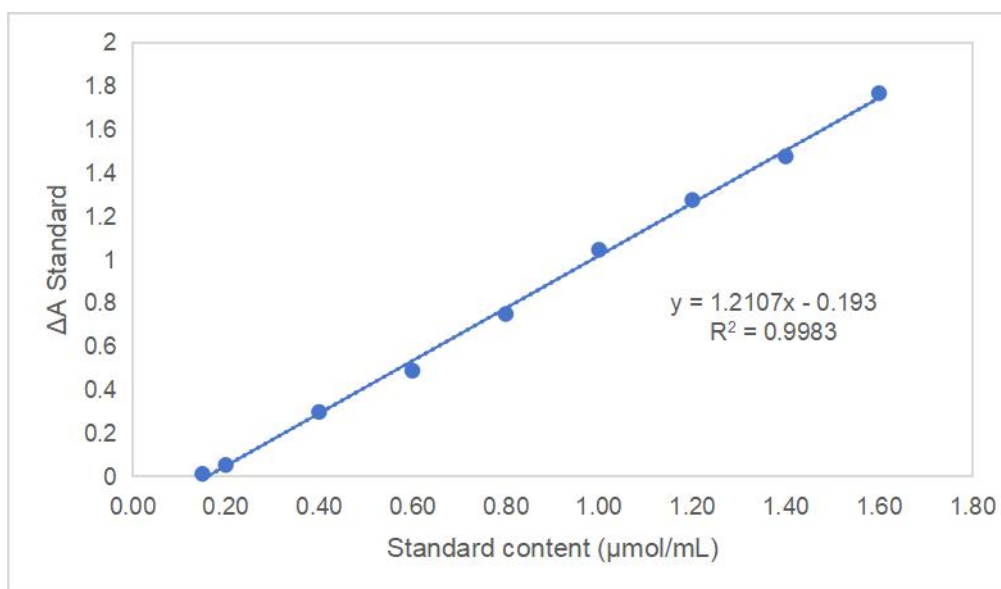


Figure 1. 几丁质酶活性标准曲线

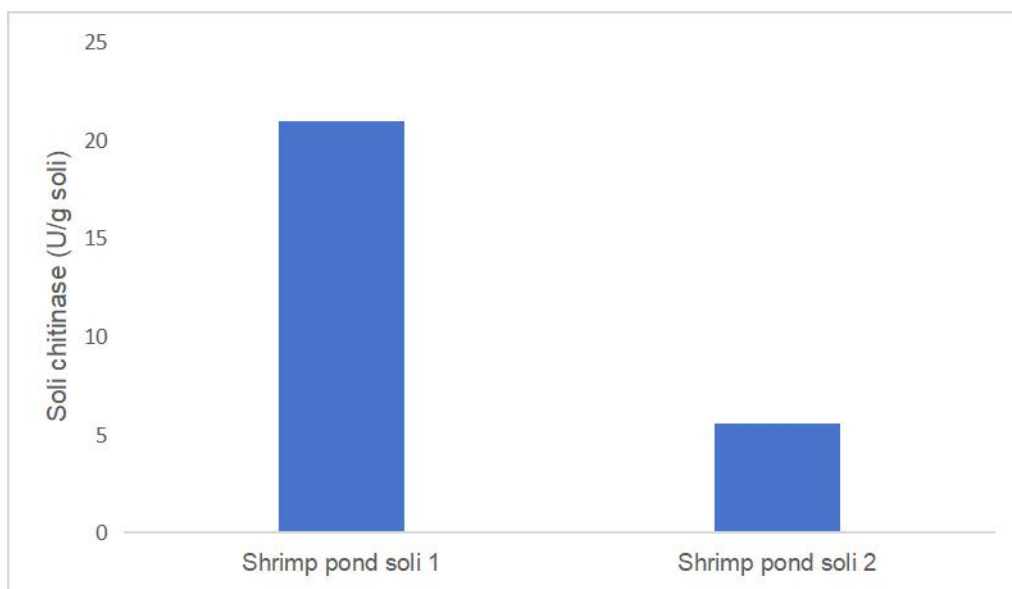


Figure 2. 本试剂盒测定虾塘土壤中几丁质酶的活性。

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB4012	CheKine™ 土壤硝态氮含量检测试剂盒（微量法）
KTB4014	CheKine™ 土壤速效磷含量检测试剂盒（微量法）
KTB4041	CheKine™ 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒（微量法）
KTB4050	CheKine™ 土壤过氧化氢酶（S-CAT）活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。