# 土壤几丁质酶（Soil Chitinase，S-Chitinase）试剂盒说明书

**微量法 100T/48S**

**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。

## 试剂组成和配制：

| 产品名称 | SSQ063-100T/48S | Storage |
|---|---|---|
| 试剂一：液体 | 10ml | 4℃ |
| 试剂二：液体 | 4ml | 4℃ |
| 试剂三：液体 | 65ml | 4℃避光 |
| 说明书 | 一份 | |

## 自备仪器和用品：

天平、水浴锅、离心机、震荡仪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板，甲苯、蒸馏水。

## 样品处理：

新鲜土样风干，过 30-50 目筛。

## 测定操作表：

| | 对照管 | 测定管 |
|---|---|---|
| 土样（g） | 0.1 | 0.1 |
| 甲苯（μl） | 15 | 15 |
| 混匀，25℃静置 15min | | |
| 蒸馏水（μl） | 100 | |
| 试剂一（μl） | | 100 |
| 混匀，37℃培养 24h | | |

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

| | | |
|---|---|---|
| 蒸馏水（μl） | 200 | 200 |
| 4000rpm，4℃，离心 10min，取上清 200μl 于新的 EP 管中 | | |
| 试剂二（μl） | 20 | 20 |
| 混匀，沸水浴 5min | | |
| 试剂三（μl） | 600 | 600 |
| 混匀，37℃显色 20min，取 200μl 于微量石英比色皿/96 孔板中，蒸馏水调零，测定 585nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管，ΔA=A 测定管-A 对照管。 | | |

**计算公式：**

**a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

标准曲线：y=5.2714x-0.0007，$R^2$=0.9989；x 为标准品浓度（mg/ml），y 为吸光值ΔA。

酶活性定义：37℃条件下，每克土壤每天分解几丁质产生 1μg N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活性单位。

土壤几丁质酶活性（μg/d/g 土样）=（ΔA +0.0007）÷5.2714×V 反总÷W÷T×1000

= 598×（ΔA +0.0007）

V 反总：反应体系总体积，0.315ml；W：样本质量，0.1g；T：反应时间，1d；1000：1mg/ml=1000μg/ml

**b. 用 96 孔板测定的计算公式如下**

标准曲线：y=2.6357x-0.0007，$R^2$=0.9989；x 为标准品浓度（μg/ml），y 为吸光值ΔA。

酶活性定义：37℃条件下，每克土壤每天分解几丁质产生 1μg N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活性单位。

土壤几丁质酶活性（μg/d/g 土样）=（ΔA +0.0007）÷2.6357×V 反总÷W÷T×1000

= 1195×（ΔA +0.0007）

V 反总：反应体系总体积，0.315ml；W：样本质量，0.1g；T：反应时间，1d；1000：1mg/ml=1000μg/ml

**注意事项:**

试剂一充分混匀后再使用。

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