

几丁质酶 (Chitinase) 检测试剂盒

(货号: BC096 比色法)

一、测定意义及原理

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。

自备实验用品及仪器

天平、水浴锅、离心机、可见分光光度计、1ml 玻璃比色皿、甲苯和蒸馏水

二、试剂组成及配制 (96T)

	性状	规格	储存
提取液	液体	100ml*1 瓶	4℃保存
试剂一	液体	10ml*1 瓶	4℃保存
试剂二	液体	10ml*1 瓶	4℃保存
试剂三	液体	10ml*1 瓶	4℃保存
试剂四	液体	20ml*1 瓶	4℃避光保存

三、操作过程:

样本前处理:

1、粗酶液提取: 按组织质量 (g): 提取液体积 (ml) =1: 9 的比例加入试剂一 (如 0.1g 组织加入 0.9ml 提取液), 冰水浴匀浆, 10000 rpm/min, 离心 10min, 取上清待测。

四、操作表

	对照管	测定管
粗酶液 (ml)	0.4	0.4
提取液 (ml)	0.6	0.2
试剂一 (ml)		0.4
混匀, 37℃水浴 1 小时		
试剂二 (ml)	0.2	0.2
混匀, 沸水浴 7min, 5000rpm, 4℃, 离心 10min, 取上清 1ml		
试剂三 (ml)	0.2	0.2
试剂四 (ml)	0.4	0.4
混匀, 37℃, 15min, 对照管调零, 1ml 比色皿,		
测定 A_{585} , $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

