

溶菌酶 (LYS/LZM) 检测试剂盒说明书

(货号: BN72433 微板法 96 样)

一、产品简介:

溶菌酶又叫胞壁质酶或 N-乙酰胞壁质聚糖水解酶。能催化某些细菌细胞壁多糖的水解,从而溶解这些细菌的细胞壁,起到杀死细菌的作用。

溶菌酶可使一定浓度的浑浊菌液降解,使浊度降低,透光度增加,可通过光度变化来测定溶菌酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 mg×4 支	4℃干燥保存	使用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 0.6mL 试剂一涡旋振荡,至全部溶解备用(可分装后至-20℃保存,防止反复冻融)。
标准品	粉剂 mg×2 支	-20℃保存	

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、水浴锅/恒温培养箱、离心机、蒸馏水。

四、溶菌酶 (LYS/LZM) 活性检测:

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 液体样本:澄清的液体直接检测,若浑浊则离心后取上清液检测。
- ② 组织样本:取约 0.1g 组织,加入 1mL 生理盐水,进行冰浴匀浆。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。

- ③ 细菌/细胞样本:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);4℃×12000rpm 离心 10min,取上清,置冰上待测。

【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,设定温度 37℃,设定波长到 530nm。
- ② 标准品制备:临用前甩几下使粉剂落入底部,每支再加 0.5mL 蒸馏水充分溶解(剩余试剂可分装后至-20℃保存,防止反复冻融),再用蒸馏水稀释 200 倍(即 1:199),最终为 400U/mL=20μg/mL。
- ③ 所有试剂在 37℃条件下孵育 5min,在 96 孔板中依次加入:

试剂 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)
样本	20	
标准品		20
试剂一	180	180
试剂二	20	20
混匀, 于 37°C条件下反应, 30s 于 530nm 读取吸光值 A1, 10min30s 时再读取 A2, $\Delta A = A1 - A2$ 。		

五、结果计算:

1、按照体积计算:

溶菌酶含量($\mu\text{g/mL}$) = $C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D = 20 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D$

溶菌酶含量(U/mL) = $C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D = 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D$

2、按样本鲜重计算:

溶菌酶含量($\mu\text{g/g}$) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (W \times V2 \div V)$

$= 20 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div W \times D$

溶菌酶含量(U/g) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (W \times V2 \div V)$

$= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div W \times D$

3、按样本蛋白浓度计算:

溶菌酶含量($\mu\text{g/mg prot}$) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (C_{\text{pr}} \times V2 \div V)$

$= 20 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div C_{\text{pr}} \times D$

溶菌酶含量(U/mg prot) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (C_{\text{pr}} \times V2 \div V)$

$= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div C_{\text{pr}} \times D$

4、按细菌/细胞数量计算:

溶菌酶含量($\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}$) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (500 \times V2 \div V)$

$= 20 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div 500 \times D$

溶菌酶含量($\text{U}/10^4 \text{ cell}$) = $(C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (500 \times V2 \div V)$

$= 400 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div 500 \times D$

C 标准---标品浓度, 400U/mL, 即 20 $\mu\text{g/mL}$; V1---标准品加样体积, 20 μL =0.02mL;

V2---样本加样体积, 20 μL =0.02mL; D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

V---提取液, 1mL; W---取样质量, g; 500---细胞数量, 万;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的蛋白含量测定试剂盒。