

Lysozyme/Lysozym Content Assay Kit

溶菌酶 (LYS/LZM) 检测试剂盒说明书

货号: G1207W48 | 方法: 微板法 | 规格: 48 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 15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 mg×2 支	4°C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°C保存, 防止反复冻融)。
标准品	粉剂 mg×2 支	-20°C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°C×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°C×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°C, 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°C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=20 μ g/mL。

③ 所有试剂在 37°C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， $\Delta A=A1-A2$ 。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照体积计算：

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

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

2、按样本鲜重计算：

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

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

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

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

3、按样本蛋白浓度计算：

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

$$= 20 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div Cpr \times D$$

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

$$= 400 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div Cpr \times D$$

4、按细菌/细胞数量计算：

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

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

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

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

C 标准---标品浓度，400U/mL，即 20μg/mL； V1---标准品加样体积，20μL=0.02mL；

V2---样本加样体积，20μL=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。