

## 溶菌酶 (LYS/LZM) 检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-DB007 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°C保存	
试剂二	粉剂 4 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 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<sup>4</sup>):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=20μg/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】：1.加完试剂二反应即开始，若是批量检测，建议加完样本后，用排枪加试剂二，避免加样时间造成测定误差或者分批测定样本。
- 2.若 A2 的值小于 0.2，可对样本用蒸馏水稀释后再测定。稀释倍数 D 代入公式计算。
- 3.若测定管的  $\Delta A$  小于 0.005，可增加样本上清液体积 V2(如增至 50 $\mu$ L，则试剂一相应减少)，则改变后的 V2 代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算：

### 1、按照体积计算：

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

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

### 2、按样本鲜重计算：

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\mu\text{g/g}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (W \times V2 \div V) \\ &= 20 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div W \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\text{U/g}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (W \times V2 \div V) \\ &= 400 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div W \times D \end{aligned}$$

### 3、按样本蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\mu\text{g/mg prot}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (Cpr \times V2 \div V) \\ &= 20 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div Cpr \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\text{U/mg prot}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (Cpr \times V2 \div V) \\ &= 400 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div Cpr \times D \end{aligned}$$

### 4、按细菌/细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (500 \times V2 \div V) \\ &= 20 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div 500 \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(\text{U}/10^4 \text{ cell}) &= (C \text{ 标准} \times V1) \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \times D \div (500 \times V2 \div V) \\ &= 400 \times \Delta A \text{ 测定管} \div \Delta A \text{ 标准管} \div 500 \times D \end{aligned}$$

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

V2---样本加样体积，20 $\mu$ L=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。