

溶菌酶(LZM)试剂盒

微板法 96 样

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。

试剂盒组成和配制:

| 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 mg×1 瓶 | 4°C干燥保存 | 临用甩几下使粉剂落入底部，再加 22mL 试剂一涡旋振荡，至全部溶解备用。 |
| 标准品 | 粉剂 mg×1 支 | -20°C保存 | |

所需的仪器和用品:

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。

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。

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，再加 1mL 蒸馏水充分溶解，再用蒸馏水稀释 100 倍（即 1：99），终浓度为 200U/mL，即 10μg/mL。

③ 所有试剂在 37°C条件下孵育 5min，在 96 孔板中依次加入：

| 试剂名称（μL） | 测定管 | 标准管（仅做一次） |
|---|-----|-----------|
| 样本 | 20 | |
| 标准品 | | 20 |
| 试剂二 | 200 | 200 |
| 混匀，30s 于 530nm 读取吸光值 A1，2min30s 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 ΔA 小于 0.005，可增加样本上清液体积 V2(如增至 50μL，则标准管多加 30μL 蒸馏水，保证两管总体积一致)，则改变后的 V2 代入计算公式重新计算。

结果计算：

1、按照体积计算：

溶菌酶含量($\mu\text{g}/\text{mL}$)= $C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D = 10 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D$

2、按样本鲜重计算:

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

3、按样本蛋白浓度计算:

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

C 标准---标品浓度, 200U/mL, 即 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 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;

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。