

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	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 (10⁴) : 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 200U/mL=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 (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 ΔA 小于 0.005, 可增加样本上清液体积 V2(如增至 50μL, 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：

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

$$\text{溶菌酶含量}(U/mL) = C_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D = 200 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D$$

2、按样本鲜重计算：

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

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(U/g) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (W \times V2 \div V) \\ &= 200 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div W \times D \end{aligned}$$

3、按样本蛋白浓度计算：

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

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(U/mg prot) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (C_{\text{pr}} \times V2 \div V) \\ &= 200 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div C_{\text{pr}} \times D \end{aligned}$$

4、按细菌/细胞数量计算：

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

$$\begin{aligned} \text{溶菌酶含量}(U/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \times D \div (500 \times V2 \div V) \\ &= 200 \times \Delta A_{\text{测定管}} \div \Delta A_{\text{标准管}} \div 500 \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, 200U/mL, 即 10μg/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。