

溶菌酶(LZM)试剂盒(可见分光光度法)

产品货号: BA2755

产品规格: 48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氷解,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。

测试盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体40mL×1瓶	2-8°C	
试剂二	粉剂mg×4支	2-8°C	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	

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿(光径1cm)、可调式移液器、水浴锅/恒温培养箱、离心机、蒸馏水。

溶菌酶(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测定。
- 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(104):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

- 2. 上机检测:
- ① 可见分光光度计预热30min,设定温度37℃,设定波长到530nm,蒸馏水调零。
- 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1mL玻璃比色皿(光径1cm)中依次加入:

试剂名称(μL)	測定管	标准管 (仅做一次)
样本	50	
标准品		50





试剂一	650	650
试剂二	40	40

混匀,于37℃条件下反应,30s于530nm读取吸光值A1,10min30s 时再读取A2, ΔA=A1-A2。

【注】: 1. 加完试剂二反应即开始, 若是批量检测, 建议逐个测定样本。

- 2. 若A2的值小于0.1,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100 μL ,则试剂一相应减少),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(μ g/mL)=C标准 Δ A测定管÷ Δ A标准管×D=20× Δ A测定管÷ Δ A标准管×D 溶菌酶含量(U/mL)=C标准× Δ A测定管÷ Δ A标准管×D=400× Δ A测定管÷ Δ A标准管×D

2. 按样本鲜重计算:

溶菌酶含量(μ g/g)=(C标准×V1)× Δ A测定管+ Δ A标准管×D+(W×V2+V)

=20×ΔA测定管÷ΔA标准管÷W×D

溶菌酶含量(U/g)=(C标准×V1)× Δ A测定管÷ Δ A标准管×D÷(W×V2÷V)

=400×ΔA测定管÷ΔA标准管÷W×D

3. 按样本蛋白浓度计算:

溶菌酶含量(μg/mg prot)=(C标准×V1)×ΔA测定管÷ΔA标准管×D÷(Cpr×V2÷V)

=20×ΔA测定管÷ΔA标准管÷Cpr×D

溶菌酶含量(U/mg prot)=(C标准×V1)×ΔA测定管÷ΔA标准管×D÷(Cpr×V2÷V)

=400×ΔA测定管÷ΔA标准管÷Cpr×D

4. 按细菌/细胞数量计算:

溶菌酶含量(μg/10⁴cell)=(C标准×V1)×ΔA测定管÷ΔA标准管×D÷(500×V2÷V)

=20×ΔA测定管÷ΔA标准管÷500×D

溶菌酶含量(U/10⁴cell)=(C标准×V1)×ΔA测定管÷ΔA标准管×D÷(500×V2÷V

=400×ΔA测定管÷ΔA标准管÷500×D

C标准---标品浓度,400U/mL,即20μg/ml; V1---标准品加样体积,50μL=0.05ml; V2---样本加样体积,50μL=0.05mL; D---稀释倍数,未稀释即为1; w---取样质量,g; V---提取液,1mL; 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。