

## 产品名称 & 产品编号

产品名称: Lysozyme 【12650-88-3】

产品编号: L006

## 产品性质

中文名: 溶菌酶

分子量: 14,307 Da (氨基酸序列)

分子量由氨基酸序列决定的为 14,307, 通过沉降平衡确定为 14,400。

## 产品描述

溶菌酶是一种 129 个氨基酸的单链多肽, 与四个二硫键交联。主要通过破坏细胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间的  $\beta$ -1,4 糖苷键, 使细胞壁不溶性黏多糖分解成可溶性糖肽, 导致细胞壁破裂内容物逸出而使细菌溶解。革兰氏阳性菌细胞壁含有高比例的肽聚糖, 易被溶菌酶溶解。革兰氏阴性菌因为肽聚糖含量低及含有外膜而不易被裂解, 可以通过加入 EDTA 加速裂解, 因为 EDTA 能够螯合在外膜的金属离子。

## 最佳 pH 值

溶菌酶的活性是一个 pH 和离子强度的函数。该酶在 pH 值范围 (6.0 - 9.0) 活跃。在 pH 6.2 时, 广离子浓度条件下 (0.02 - 0.100 M) 具有最高的活性, 而高于 pH 9.2 时, 较窄 (0.01 - 0.06 M)。

## 抑制剂

溶菌酶可以被吡啉衍生物抑制, 吡啉衍生物会结合并破坏酶活性中心, 也会被咪唑抑制, 形成电荷转移复合体。该酶也可以被表面活性剂, 如 SDS, 月桂酸钠和十二醇等抑制。其它

化合物, 如含有 12 个或以上碳原子的化合物也会抑制酶的活性。

## 底物

溶菌酶的天然作用底物是细菌细胞壁的肽聚糖。然而, 一系列低分子量的底物, 如胞壁质降解产物及化学合成物, 也被用来做溶菌酶实验。

## 活性单位定义

2.6ml 的反应混合物 (1cm 的光路), 以溶壁微球菌作为底物, 在 25°C, pH 6.24 时, 每分钟使 450 nm 处吸光度改变 0.001 所需的酶量定义为 1 个活性单位。

## 配制说明

对于大肠杆菌的细胞裂解, 使用新鲜制备的溶菌酶溶液 (10mg/ml) 溶于 10 mM Tris-HCl, pH 值 8.0。该产品也溶于水 (10mg/ml), 得到一个清澈至稍混浊的无色溶液。水溶液当存储在 2-8°C, 可保存至少一个月。

## 使用步骤

以下步骤适用于 E. coli 裂解液。其他菌种也可做参考。大肠杆菌细胞裂解的最佳 pH 为  $8.0 \pm 0.1$ 。

1. 过夜培养带有 pBR322 质粒的大肠杆菌, 加入的抗生素为 25mg/ml 青霉素和 25mg/ml 四环素。
2. 离心 1-2ml 的过夜培养菌液。
3. 用 350ml STET 缓冲液 (10 mM Tris-HCl, pH 值 8.0, 0.1 M NaCl, 1 mM EDTA 和 5% W / V Triton X-100) 悬浮菌体。
4. 加入新制备的溶菌酶溶液 25ml (10mg/mg, 溶于 10mM Tris-HCl, pH 8.0)。
5. 涡旋混匀 3s。
6. 将裂解混合液在 37° C 孵育 30 分钟。

7. 孵育结束后，将装有混合物试管放置在沸水浴中 40s。
8. 14000g 离心。
9. 用无菌牙签去除细胞碎片。
10. 从上清中纯化分析质粒 DNA。

## **保存**

---

-20° C 储存至少 4 年有效。溶液（pH 值 4 - 5）  
可冷藏保存数周。