

## Lyticase from *Arthrobacter luteus*

### 酵母溶壁酶，来自藤黄节杆菌

#### 产品简介

Lyticase, 中文名细胞壁溶解酶, 溶壁酶, 能水解聚 $\beta(1\rightarrow3)$ -葡萄糖 (poly- $\beta(1\rightarrow3)$ -glucose) 比如酵母细胞壁葡聚糖。酵母细胞很难破坏, 因为细胞壁可能形成荚膜或耐性孢子。通过使用裂解酶比如溶壁酶 (lyticase)、几丁质酶 (chitinase)、细胞壁溶解酶 (zymolyase) 和葡聚糖酶 (gluculase) 诱导部分原生质球形成, 然后接下来酵母细胞被裂解释放 DNA。溶壁酶 (lyticase) 更适合用于消化酵母细胞壁和产生转化用真菌来源的原生质球。本品以冻干粉形式供应, 比活力 $\geq 200$  units/mg solid。

#### 产品组成

名称	编号	FSF0003	FSF003	Storage
Lyticase from <i>Arthrobacter luteus</i> 酵母溶壁酶		5KU	25KU	-20°C干燥保存
使用说明书		1份		

#### 基本特性

- 1) CAS : 37340-57-1
  - 2) 来源: 藤黄节杆菌 (*Arthrobacter luteus*)
  - 3) 外观: 冻干粉
  - 4) 同义名: Lyticase; 酵母细胞壁溶解酶; 酵母细胞壁溶解酵素; 溶壁酶; 破壁酶;
  - 5) 比活力:  $\geq 200$  units/mg solid
  - 6) 单位定义: 3ml 反应混合液中以酵母细胞悬液为底物, 于 25 °C, pH 7.5 条件下, 每分钟使得 $\Delta A_{800}$  发生 0.001 变化所用的酶量即为一个酶活力单位 (unit)。
  - 7) 溶解性: 易溶于水
- 作用谱: 报道显示 lyticase 有效溶解以下菌株包括 *Ashbya*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Eremothecium*, *Endomyces*, *Hansenula*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Lipomyces*, *Metschikowia*, *Pichia*, *Pullularia*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis*, *Saccharomycodes*, and *Schwanniomyces* species.

#### 酶活力测定方法

##### 1. 实验试剂制备

- 1.1 超纯水 ( $\geq 18$  M $\Omega$ cm resistivity at 25 °C)
- 1.2 磷酸缓冲液 (67mM 磷酸钾缓冲液, pH 7.5, 25°C): 用超纯水配制 9.1mg/ml 磷酸二氢钾溶液, 用 1M KOH 调整 pH 至 7.5 (25 °C)。
- 1.3 底物 (0.4% w/v 啤酒酵母 (酿酒酵母) 悬浮液)
  - a) 使用研钵和研杵研磨适量酵母菌以得到超过 800mg 的酵母粉。研细的粉末粒径需在 25-35 网目尺寸。
  - b) 用超纯水加入酵母粉制备 4mg/ml 酵母溶液。
  - c) 室温条件 300rpm 搅拌酵母溶液~2h。【注意】: 更高速度搅拌会引起酵母细胞的过早裂解;

d) 2h 后停止搅拌，使得更大沉淀静置下去。小心吸取上方 2/3 的悬浮液到一个新的烧杯内。去除更大沉淀能够在进行分光光度计读数时，降低信噪比。

e) 进行实验前需要确定底物浓度。测定酵母混合液和超纯水的 A800，吸光度比值在 0.6-1.0 之间。如有必要，通过改变酵母粉量或超纯水来调整吸光度比值。

f) 室温条件 300rpm 混匀底物，能稳定保存高达 8h。

#### 1.4 酶溶液

使用前，用冰超纯水配置 500 units/ml 溶壁酶溶液。【注意】：对一些粗制酶（lyticase）可能需要超过 15min 使其溶解。短时间超声 1-15s 能够促进酶溶解，但不会影响酶活性。

### 2. 反应程序

3ml 反应体系中，各组分最终浓度是 34 mM 磷酸钾，~0.12% (w/v) 啤酒酵母，25-35 units 溶壁酶

2.1 按下表吸取各组溶液到 5ml 离心管内，

试剂	测试组 T1 (ml)	测试组 T2 (ml)	测试组 T3 (ml)	空白组 (ml)
超纯水	0.55	0.54	0.53	0.60
磷酸缓冲液	1.50	1.50	1.50	1.50
底物	0.90	0.90	0.90	0.90

2.2 颠倒混合上述各管溶液，并于 25 °C 平衡 5min。然后加入酶溶液。

试剂	测试组 T1 (ml)	测试组 T2 (ml)	测试组 T3 (ml)	空白组 (ml)
酶溶液	0.050	0.060	0.070	—

2.3 立即颠倒混匀上述各管溶液，记录下~10min 后下降后的 A800。非常重要是要即刻混匀所有比色皿试剂，并依此测定各管 A800。

2.4 以 2min 为检测时间段，记录下每个测试组的最大线性比率  $\Delta A800/\text{min}$ 。每个测试组的最大线性比率需要用空白组来校正。校正后的  $\Delta A800/\text{min}$  应在 0.025-0.035 范围内，才能保证后续结果的可靠性。如果不在此范围内，可通过调整适当酶溶液并重复读数。

### 3. 测定结果

3.1 计算 1:

$$\text{Units/ml enzyme} = \frac{(\Delta A800/\text{min Test} - \Delta A800/\text{min Blank})(df)}{(0.001)(V_e)}$$

where:

df = dilution factor of enzyme

0.001 = Change in absorbance at 800 nm as per the unit definition

$V_e$  = Volume (ml) of Enzyme Solution used in reaction

3.2 计算 2:

$$\text{Units/mg solid} = \frac{\text{units/ml enzyme}}{\text{mg solid/ml enzyme}}$$

### 注意事项

1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。