**溶菌酶的制备及活性鉴定**

**实验背景：**

溶菌酶是一种碱性球蛋白，化学性质非常稳定，其生物学功能是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。在自然界中，溶菌酶普遍存在于鸟类和家禽的蛋清，以及哺乳动物的泪、唾液、乳汁、血浆、尿液、淋巴液、白细胞和肺、肝、肾组织的细胞中。植物中的卷心菜、萝卜、木瓜、大麦也都存在溶菌酶。其中蛋清的溶菌酶含量最为丰富，鸡蛋中约含0.3%，因此常以鸡蛋清作为溶菌酶提取的原材料。

溶菌酶的活性测定可采用溶壁微球菌（*Micrococcus lysodeikticus*）作为底物，溶菌酶能迅速溶解其细胞壁，使菌悬液浊度降低，通过测定A450 nm检测菌悬液浊度的变化，计算溶菌酶活性。

**实验内容：**

1. 综合利用层析、盐析和透析等实验技术分离纯化溶菌酶。要求在实验设计中有明确的纯化方案，例如缓冲液配方、洗脱条件等。或者先形成预实验方案，再根据预实验结果进行方案调整。
2. 注意保存各纯化阶段的样品，利用蛋白质电泳检测样品纯度。
3. 以溶壁微球菌为底物，测定溶菌酶活性。
4. 根据实验进展，可自主增加其他拓展内容。

**总体要求：**

1. 4/5人一组，根据实际完成情况、课堂表现、团队合作、实验进度安排、操作安全规范等方面给分。
2. 开放实验记录（提醒！非常重要！！！）：开放实验记录成绩占开放实验成绩的20%。每个组的开放实验记录记录在一个实验记录本上，记录本由老师提供。必须如实、准确、及时将实验数据、现象等记录在记录本上，每页的必须有记录人的签名和日期，记录本页码必须连续。不得临时将实验数据记录纸片或者手机上，不得事后/课后补实验记录。
3. 要求独立设计实验方案，合理安排时间，3次课完成（如实验需要，实验室可周末开放，学生需要提前跟老师申请）。
4. 合作完成1份综合实验报告。
5. 针对开放实验内容，合作完成PPT汇报，要求每个人上台参与演示。
6. 组长负责汇总、整理并提交其他要求上交的文件或材料，其中开放实验各环节的分工情况说明可参考《开放实验大组分工说明模板》。
7. 本组安全员负责记录和监督本组的仪器使用情况及操作规范，尤其在非上课时段注意监督和检查，每次离开教室前必须整理所在组实验台，保证使用的所有仪器设备、实验器材归位。在开放实验完成后结课汇报前，安全员负责组织本组同学完成实验材料及器具的清理，并告知老师检查签字后方可（**提醒！非常重要！！！**）。

**参考资料：**

[1] 教材：生物化学实验原理和方法（第二版）

[2] Ma X, Liang R, Yang X, Gou J, Li Y, Lozano-Ojalvo D. Simultaneous separation of the four major allergens of hen egg white. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2020;1152:122231.