

关于蛋白质的分离纯化

蛋白质的分离纯化

- 透析和超过滤
- 超速离心
- 层析（色谱） (chromatography)
- 电泳 (electrophoresis)

1 透析和超过滤

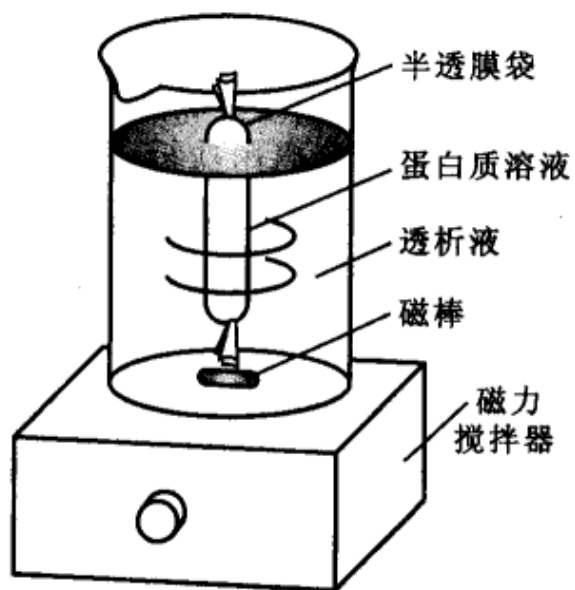


图 7-5 透析装置

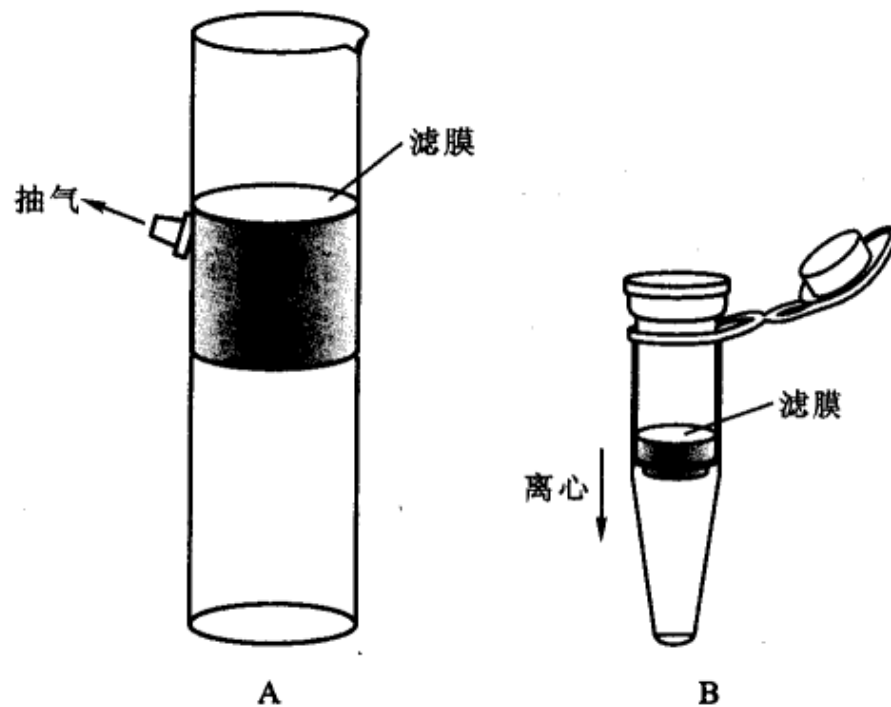


图 7-6 利用压力(A)和离心力(B)的超过滤装置

2 超速离心

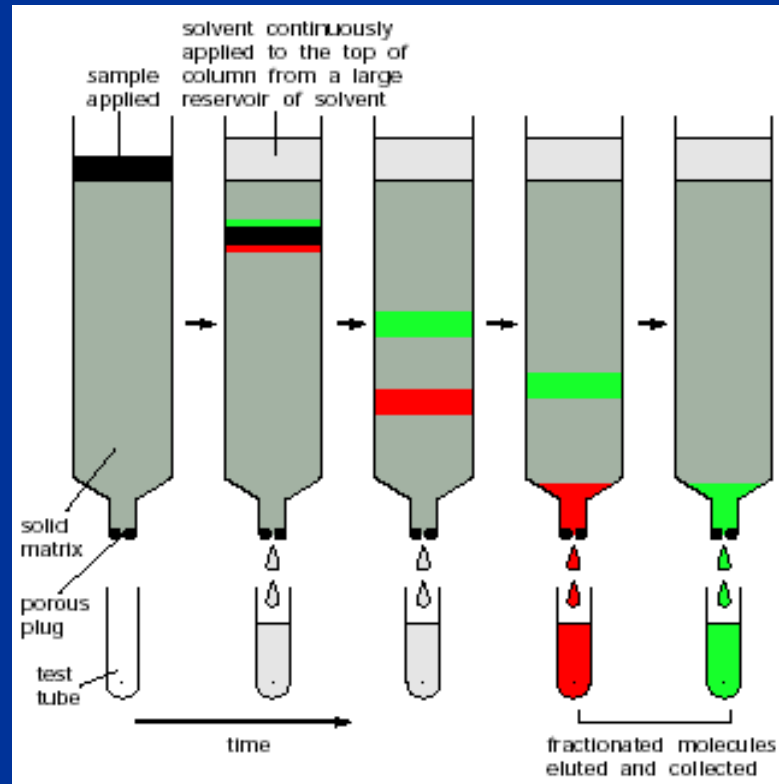


P₃₀₂

3 层析 (色谱) (Chromatography)

基本原理:

层析由**流动相**和**固定相**组成 → 样品作为**流动相**流过**固定相** → 各组分在两相中**分布程度不同** → 各成分**迁移率不同** → **分离**



- 两相：固定相（静相）和流动相（动相）
- 有效分配系数：

$$K_{\text{eff}} = \frac{\text{某一物质在 A 相中的总量}}{\text{某一物质在 B 相中的总量}}$$

$$K_{\text{eff}} = \frac{C_{\text{A}} \times V_{\text{A}}}{C_{\text{B}} \times V_{\text{B}}} = K_{\text{d}} \times R_{\text{V}}$$

层析

- **按流动相**：气相、液相色谱等；
- **按操作形式不同**：纸层析、薄层层析、柱层析等；
- **按分离机制**：凝胶层析、离子交换层析、亲和层析、吸附层析等。

3.1 纸层析 (Filter-paper chromatography)

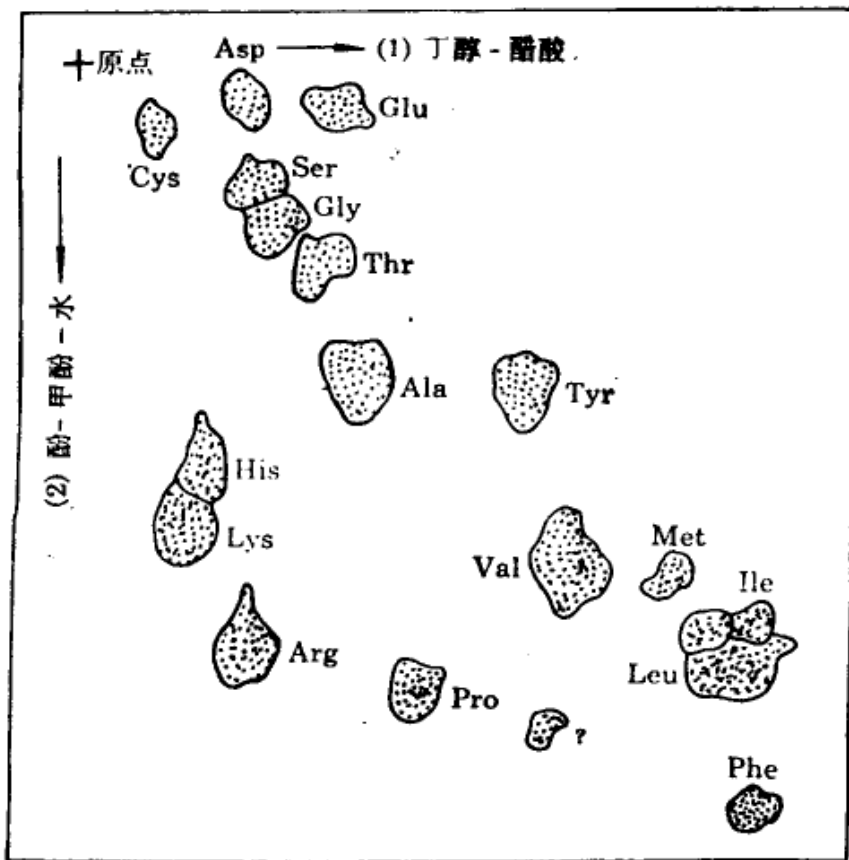


图 3-21 氨基酸的双向滤纸层析图谱

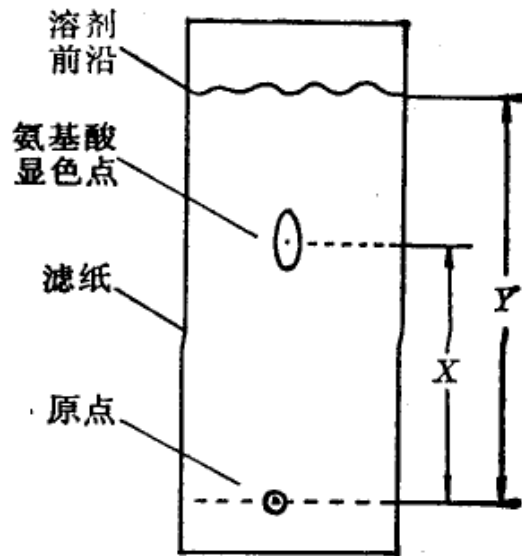
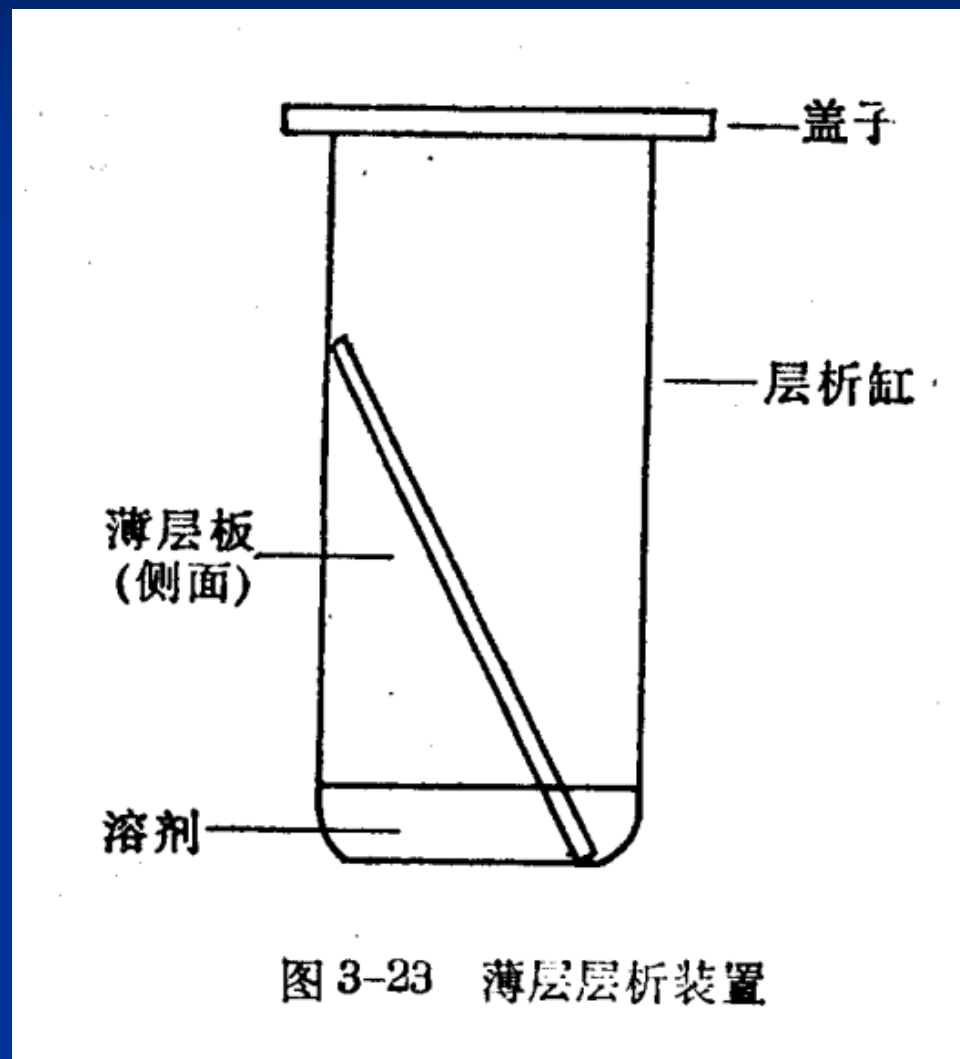


图 3-22 滤纸层析中的

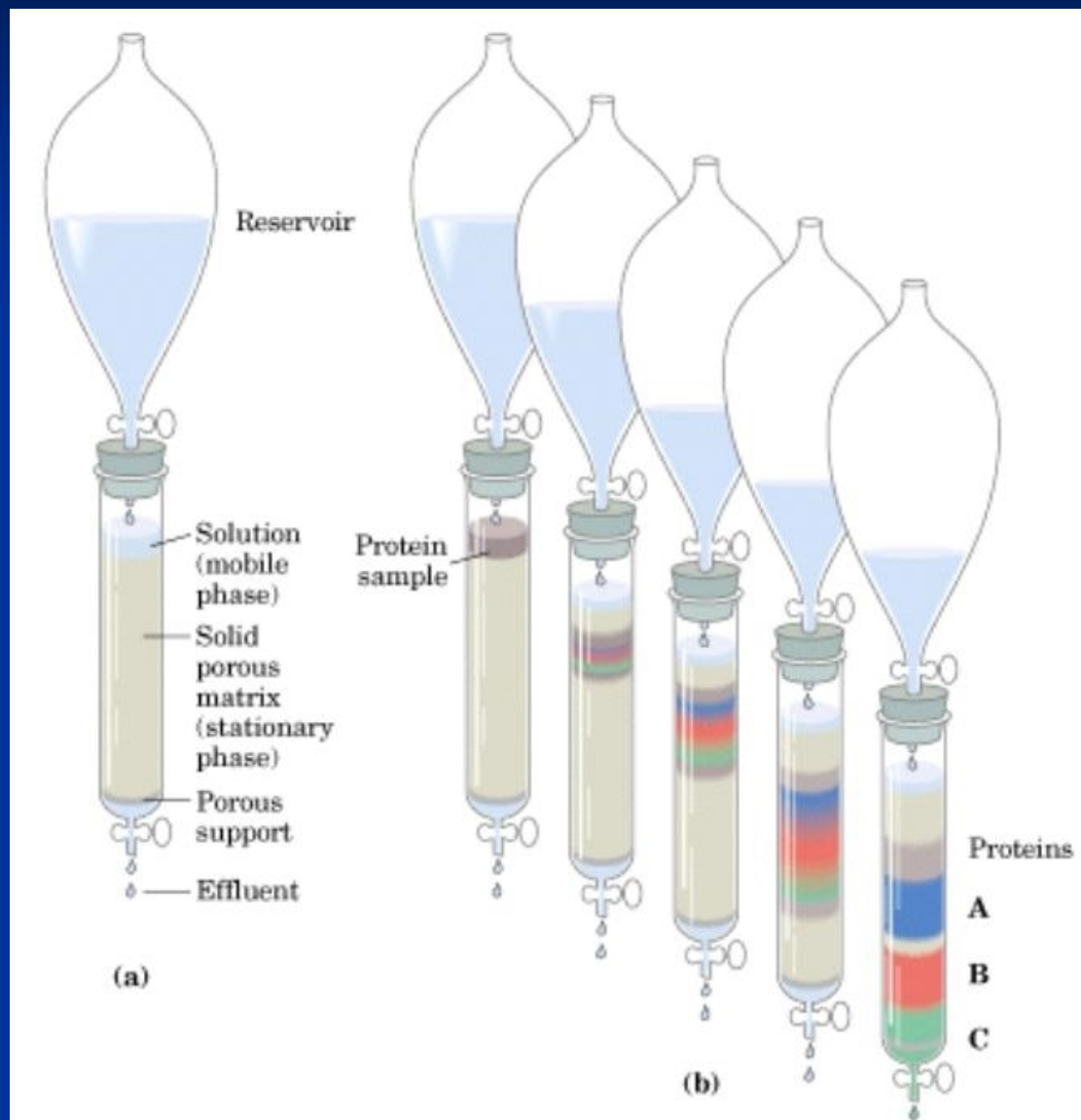
$$R_f \text{ 值, } R_f = \frac{X}{Y}$$

相对迁移率

3.2 薄层层析 (Thin-layer chromatography)

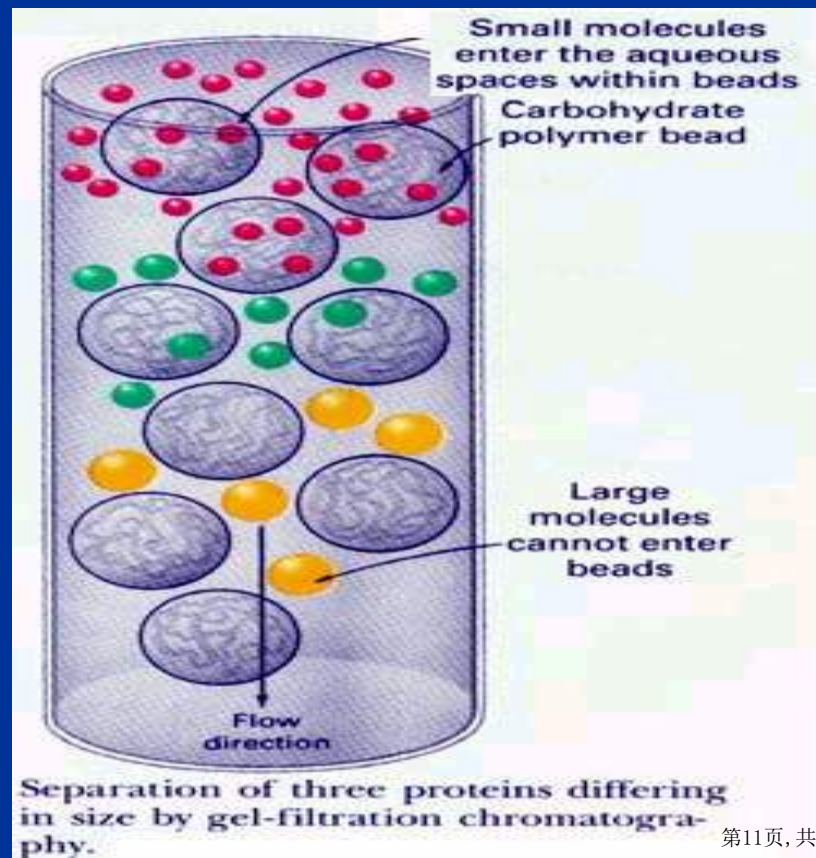


3.3 柱层析



① 凝胶过滤层析 (分子排阻层析、分子筛层析) (Gel-filtration chromatography)

- 根据**蛋白质分子大小不同**来分离纯化蛋白质的一种方法。



- 介质：**凝胶颗粒**（多孔的网状结构）

交联度或孔度（网孔大小）——凝胶的分级
分离范围

- 交联葡聚糖——Sephadex G-50（1500-30000）
- 琼脂糖 ——Sepharose或Bio-Gel A
- 聚丙烯酰胺——Bio-Gel P

原理:

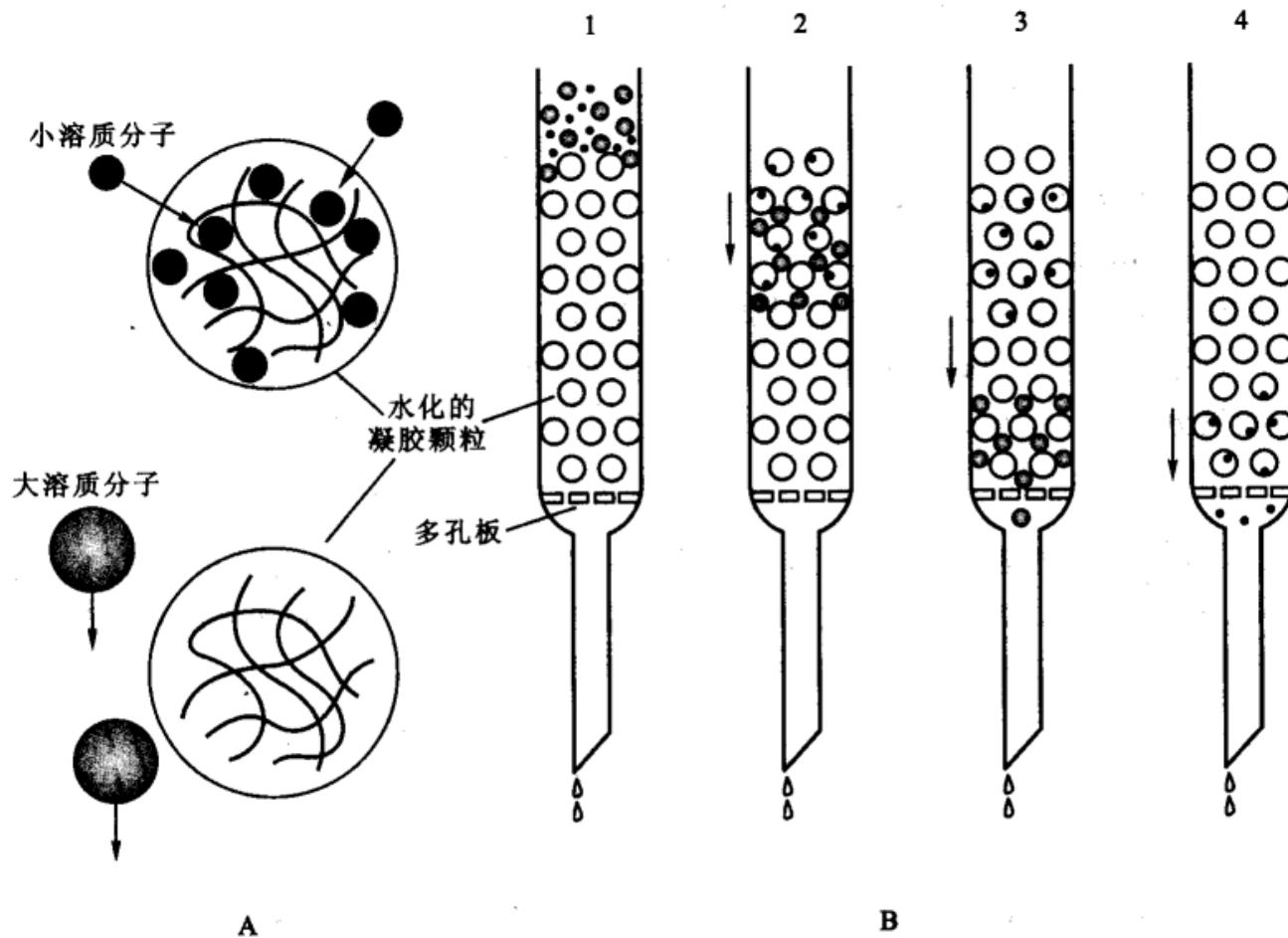


图 7-8 凝胶过滤层析的原理

- A. 小分子由于扩散作用进入凝胶颗粒内部而被滞留,大分子被排阻在凝胶颗粒外面,在凝胶颗粒之间迅速通过;
- B. ① 蛋白质混合物上柱;② 洗脱开始,小分子扩散进入凝胶颗粒内部而被滞留,而大分子则被排阻于颗粒之外并向下移动,大、小分子开始分开;③ 大、小分子完全分开;④ 大分子因行程较短,已被洗脱出层析柱,小分子尚在行进中

② 离子交换层析 (Ion-exchange chromatography)

- 根据蛋白质**所带电荷的不同**进行分离纯化。
- 介质：**离子交换树脂**
- **溶液中的离子与树脂上的带电基团进行交换反应；**
- 各种离子交换能力不同，与树脂结合的牢固程度就不同；
- 在洗脱过程中，各种离子迁移率不同，达到分离的目的。

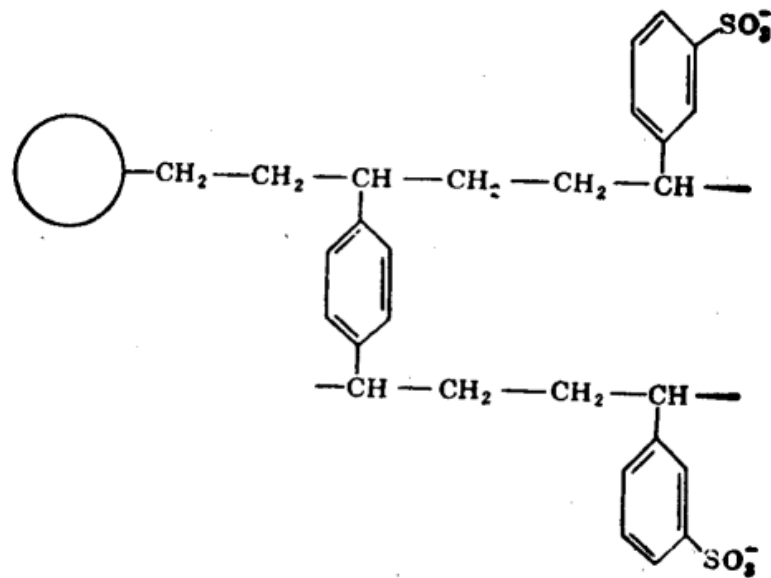
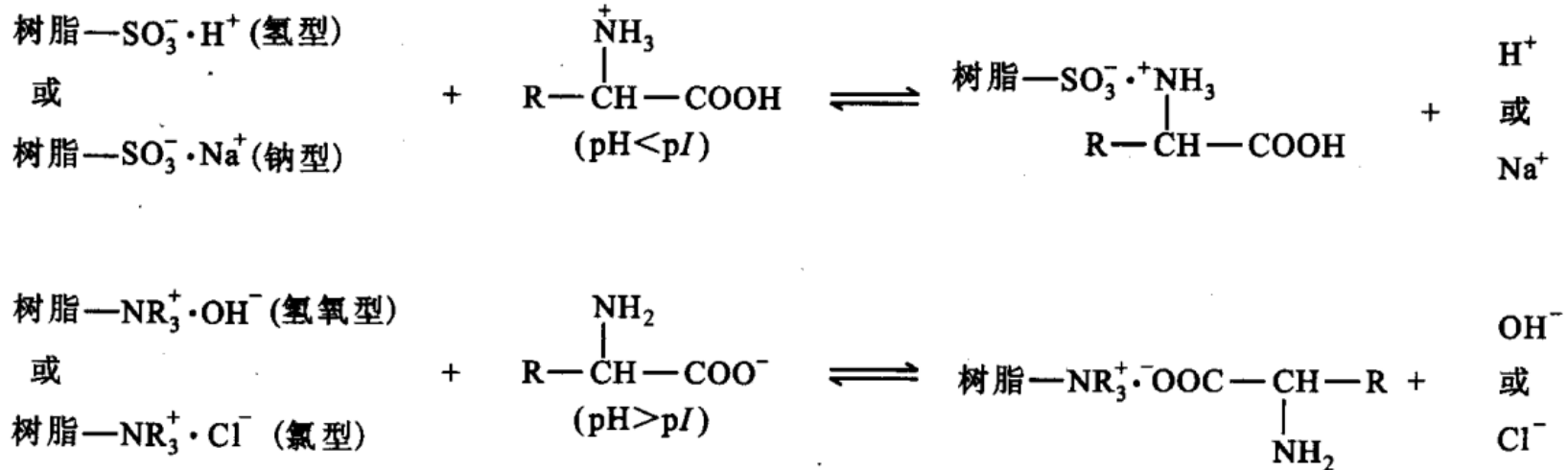
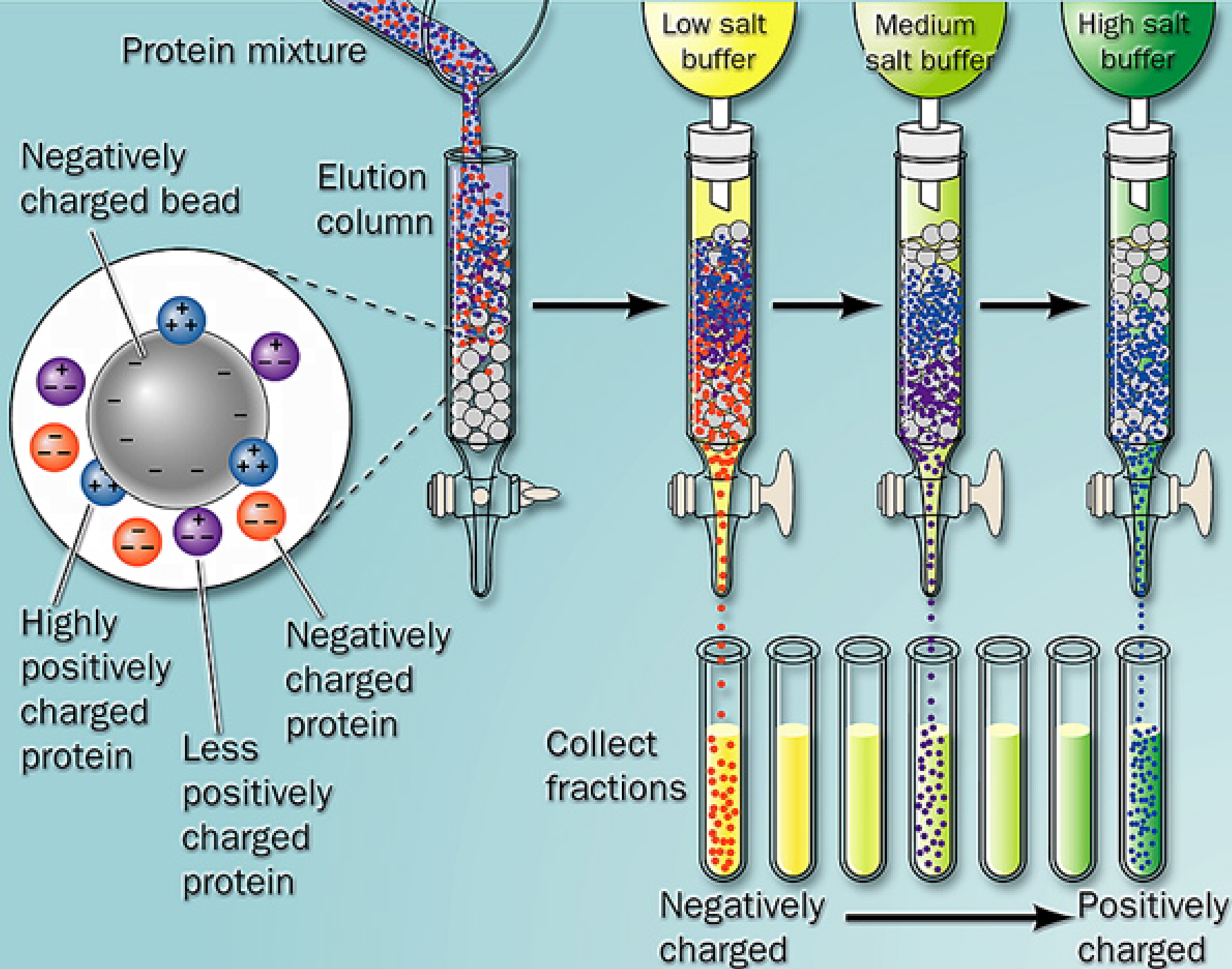
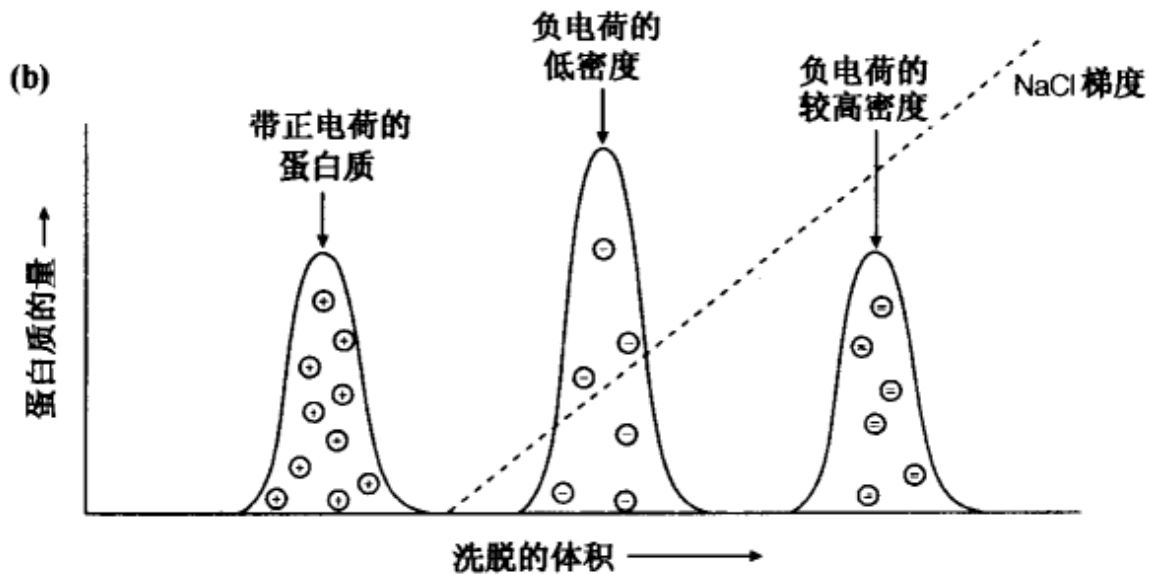
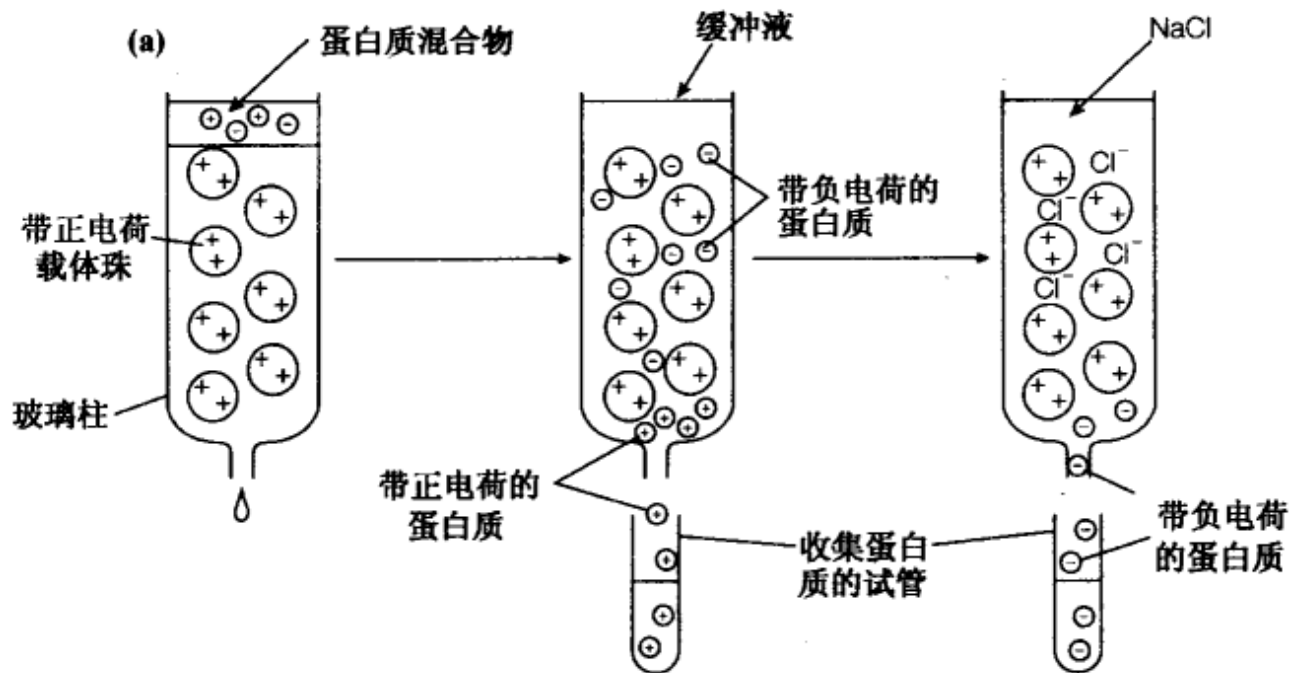


图 3-24 磺酸型阳离子交换树脂的部分结构







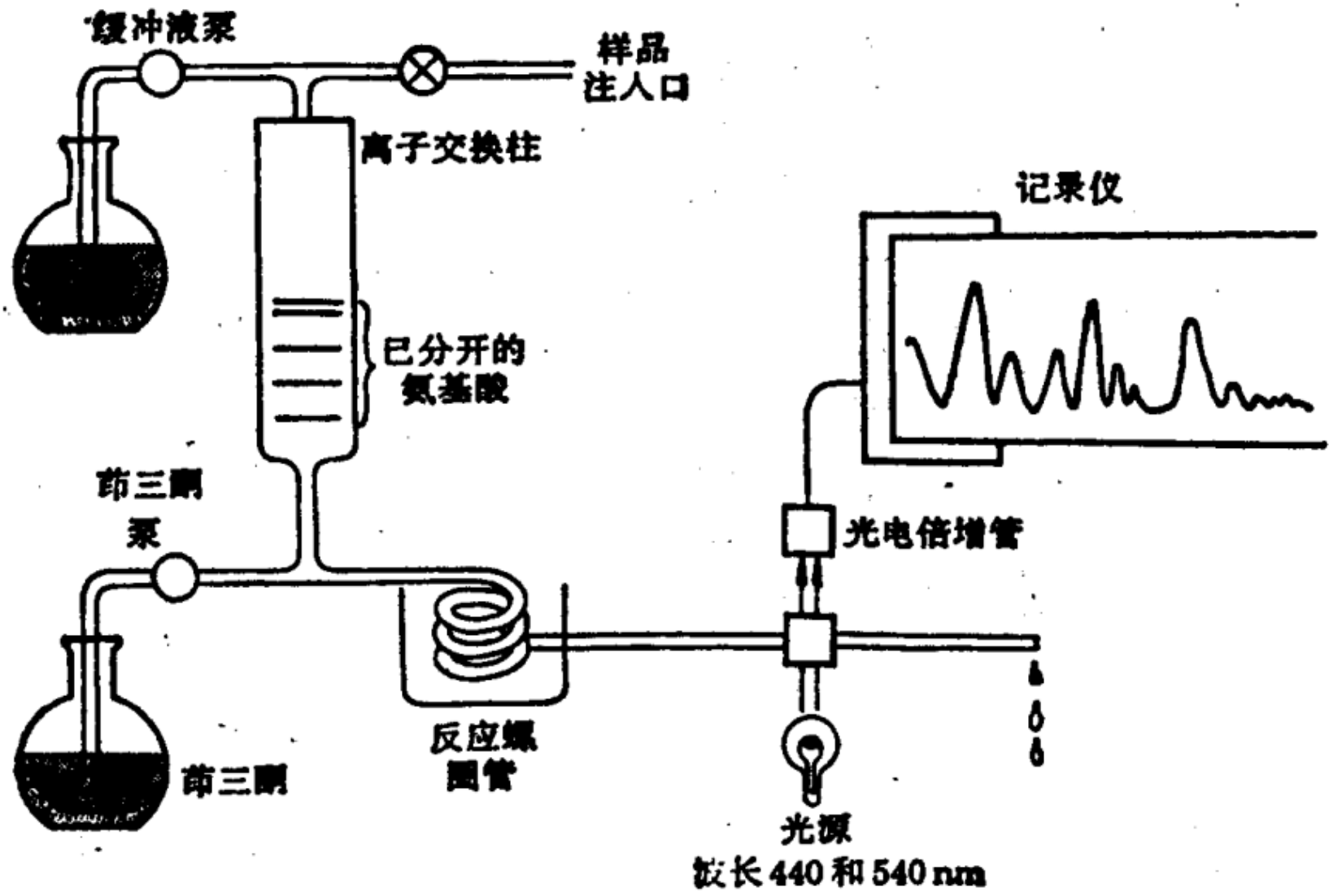


图 3-26 氨基酸分析仪的图解

氨基酸的定性定量

茚三酮反应:

成黄色物质

生成紫色物质
脯氨酸和羟脯氨酸生

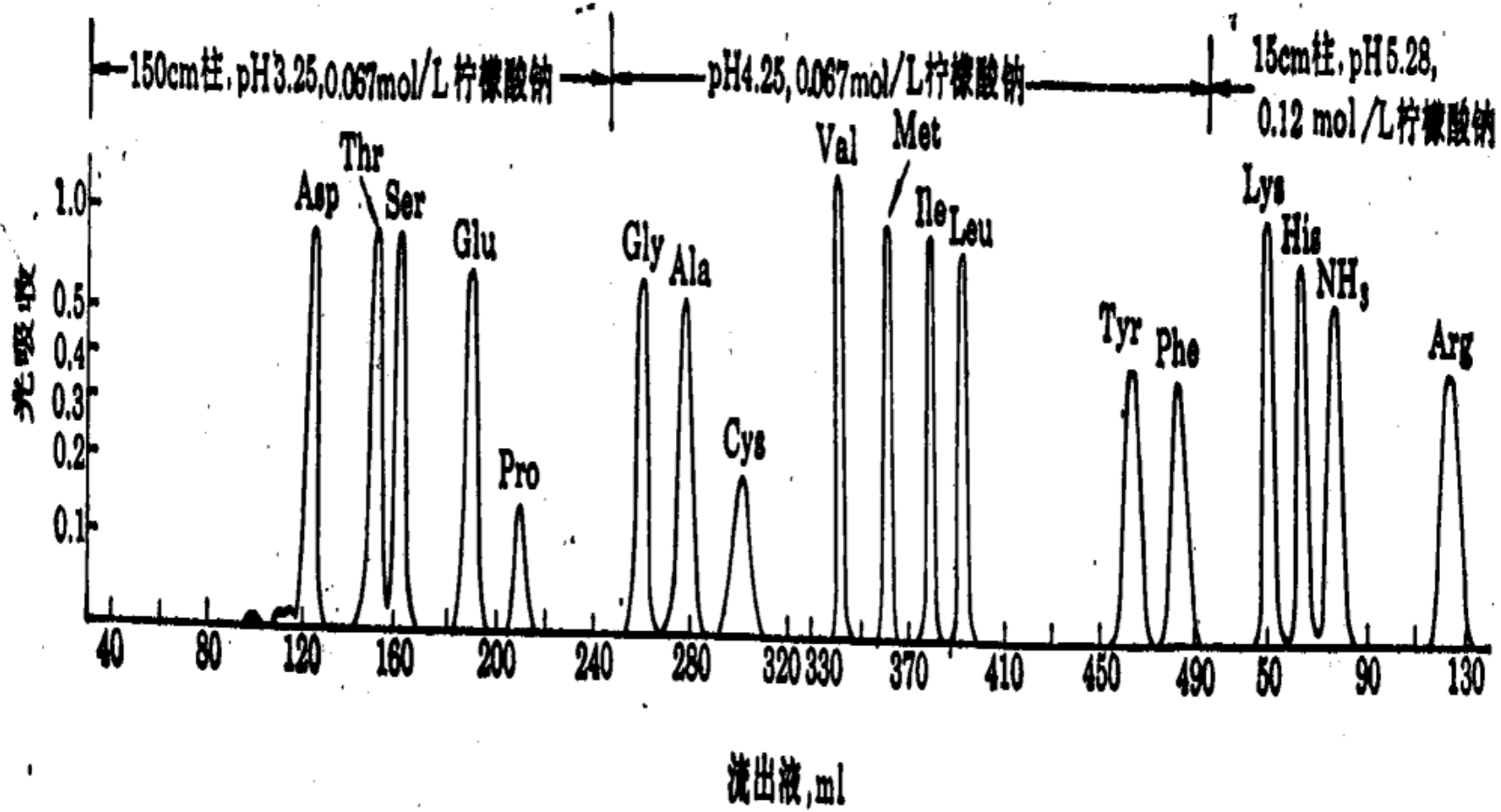


图 3-25 氨基酸自动分析仪记录的氨基酸混合物分析结果

③ 亲和层析 (Affinity chromatography)

根据蛋白质与特异的配体相互作用来分离的。



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/126134235022010112>