

实验一

酵母蛋白质的制备



目的和要求:

- 1、了解生物大分子制备的一般过程
- 2、掌握从酵母中分离制备蛋白质的方法
- 3、学习普通离心机的使用方法



什么是生物大分子？



- 生物大分子:

- 蛋白质、核酸、脂类、糖类。

- 特点:

1. 生物活性和在新陈代谢中的作用;

2. 由简单的结构组合而成



生物大分子的制备



- 蛋白质、酶和核酸等生物大分子的结构与功能的研究是
 - 探求生命奥秘
 - 生物大分子结构与功能
 - 生物大分子的制备
- 生物大分子制备的总体思路
 - 1、材料的选择和预处理
 - 2、细胞的破碎
 - 3、提取
 - 4、分离纯化
 - 5、干燥与保存



一、生物大分子制备——生物材料的选择与预处理

选择适当的生物材料。

选择的材料应含量高、来源丰富、制备工艺简单、成本低，尽可能保持新鲜，尽快加工处理。

动物组织要先除去结缔组织、脂肪等非活性部分，绞碎后在适当的溶剂中提取，如果所要求的成分在细胞内，则要先破碎细胞。

植物要先去壳、除脂。

微生物材料要及时将菌体与发酵液分开。

生物材料如暂不提取，应冰冻保存。动物材料则需深度冷冻保存。

二、生物大分子制备——细胞的破碎:

(1)机械法: 研磨: 将组织置于研钵或匀浆器; 组织捣碎器

(2)物理法:

1) 反复冻融法:

2) 超声波处理法:

3) 压榨法:

4) 冷热交替法:

(3)化学与生物化学方法:

- 1) 自溶法:
- 2) 溶胀法:
- 3) 酶解法:
- 4) 有机溶剂处理法:
- 5) 碱处理





三、生物大分子制备——生物大分子的提取

影响提取的因素主要有：

目的产物在提取的溶剂中溶解度的大小；
由固相扩散到液相的难易；
溶剂的pH值和提取时间等。





(1) 水溶液提取:

蛋白质和酶的提取一般以水溶液为主。稀盐溶液和缓冲液对蛋白质的稳定性好，溶解度大，是提取蛋白质和酶最常用的溶剂。

(2) 有机溶剂提取





四、生物大分子制备——分离纯化

常用的分离纯化方法和技术有：

(1) 根据蛋白质溶解度不同——沉淀法

盐析

有机溶剂沉淀

等电点沉淀

(2) 根据蛋白质分子大小的差别

透析、超滤、凝胶过滤

(3) 根据蛋白质带电性质不同

电泳、离子交换层析

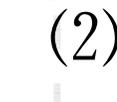
(4) 根据配体特异性的分离方法

亲和层析

五、生物大分子制备——样品的干燥和保存



- 冰冻干燥
- 保存（以保存蛋白质和酶为例）：
 - (1) 低温保存：
 - (2) 制成干粉或结晶保存：
 - (3) 在保护剂下保存：



分析测定

要了解的生物大分子的物理、化学性质主要有：

- ①在水和各种有机溶剂中的溶解性。
- ②在不同温度、pH值和各种缓冲液中的稳定性。
- ③固态时对温度、含水量和冻干时的稳定性。
- ④各种物理性质：
- ⑤其他化学性质：
- ⑥对其他生物分子的特殊亲和力。

分析测定方法



方法主要有两类：

即生物学和物理、化学的测定方法。

■ 生物学的测定法主要有：

- 酶的各种测活方法
- 蛋白质含量
- 免疫化学方法
- 放射性同位素示踪法



■ 物理、化学方法主要有：

- 比色法
- 气相色谱和液相色谱法
- 光谱法
- 电泳法
- 核磁共振等。



实验操作



- 1、称5g酵母粉放于烧杯中，加入30ml 5%的NaOH,40℃水浴中搅拌30分钟，转入50ml离心管中。
- 2、5000rpm离心20分钟，将上清吸入一个50ml烧杯。
- 3、滴加6N的HCl调整溶液的pH为3.0左右，再转入50ml离心管中。
- 4、5000rpm离心20分钟，轻轻倒掉上层清液。
- 5、观察沉淀的蛋白



注意事项



- 1、NaOH浓度
- 2、离心机的使用
- 3、电子天平的使用
- 4、蛋白质沉淀勿弃于水池中
- 5、水浴锅加蒸馏水

