

# 实验生物学

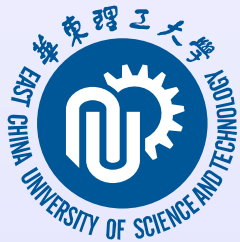
安法梁

Tel: 64251185, 13916438951

Email: [flan2016@ecust.edu.cn](mailto:flan2016@ecust.edu.cn)

实验十八楼1201房间





# 课程定位

**实验生物学是应用实验方法/技术研究生命现象的学科。**

**实验生物学是一门介绍实验技术在生物科学、生物工程、食品科学、药物学等专业领域应用的实验技能课程。**

**强调实践经验与理论知识的结合，掌握实验设计和数据分析的有机整合。**





# 主线：研究目标成分（生命现象物质基础）的实验技术

## 三个模块

### 分离纯化实验技术

研究生物成分的结构、功能，  
阐明生命现象的本质

发现先导化合物，阐明  
生物功能，开发新药

### 分析检测实验技术

药品质量、食品品质检测

临床诊断、环境监测等

### 功能评价实验技术

分子水平评价技术

细胞水平评价技术

动物水平评价技术



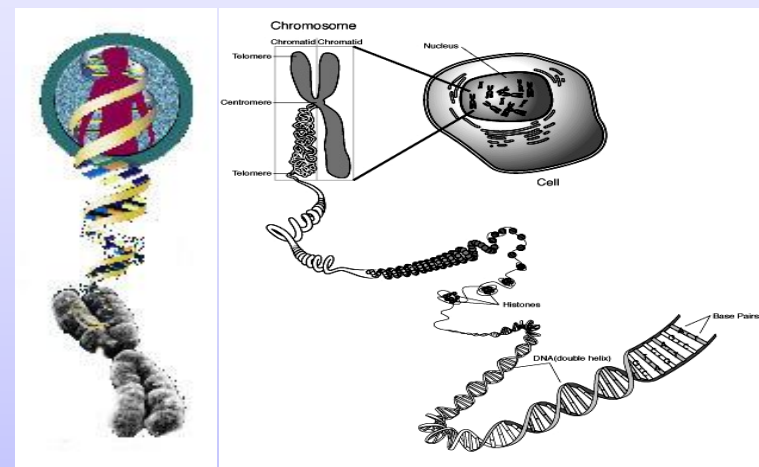
# 分离纯化是研究结构和功能的基础 发现先导化合物、研发药物的前提

→ 模块一

核酸是遗传信息的载体, 基因是遗传物质结构和功能的基本单位。

不同物种性状的差异是它们基因差异的集中体现。

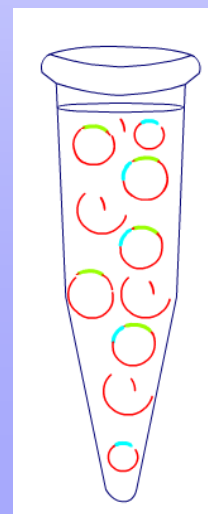
对基因结构和功能的研究, 有助于解开生命的奥秘

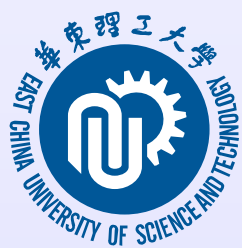


如何获得足够量的目的基因以供研究?

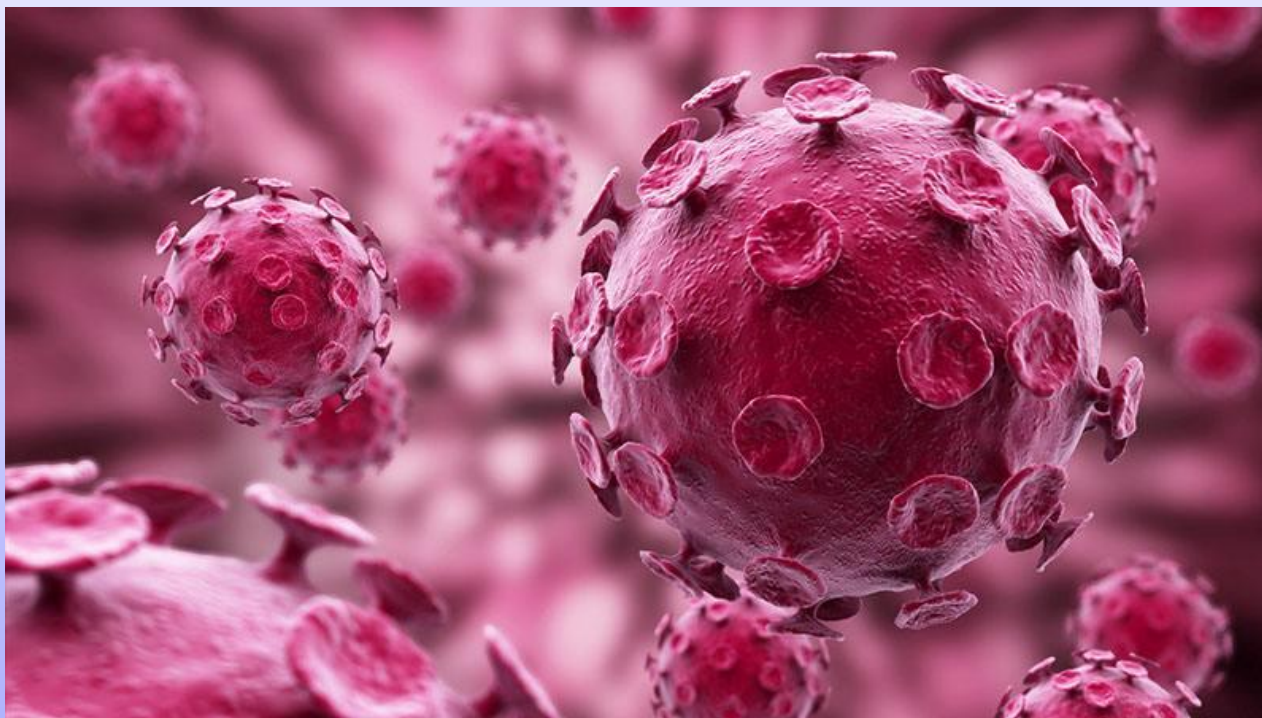
## 获取基因的基本方法

- 直接从大量的样品中提取基因
- 根据基因序列, 用人工合成方法获得相应的基因
- 基因体外扩增 (PCR)





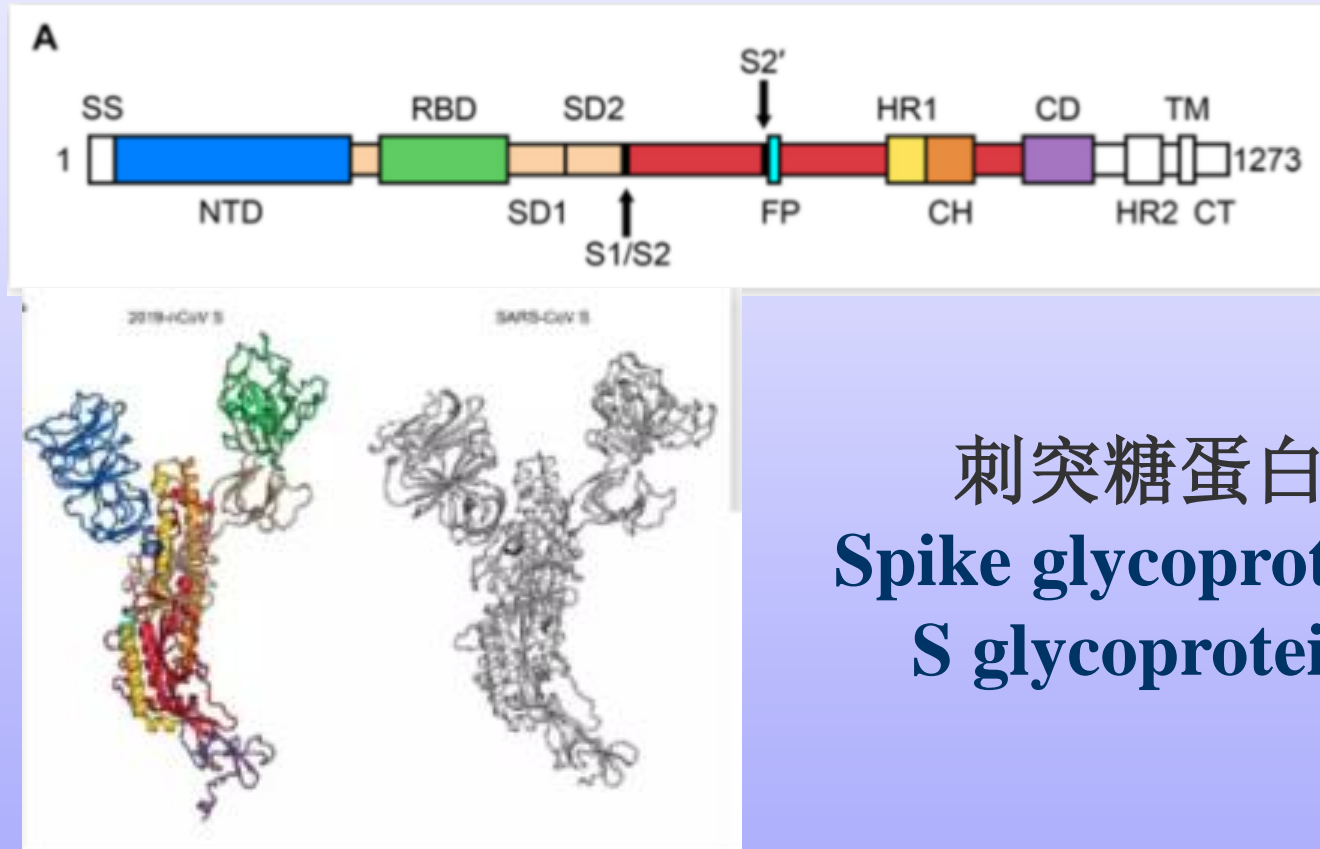
# 2019新型冠状病毒



2月11世卫组织命名的是2019-nCoV，COVID-19是对2019-nCoV引起疾病的简称;而同样是2月11日，世界病毒分类委员会的冠状病毒小组命名新型冠状病毒为SARS-Cov-2



# 新型冠状病毒2019-nCoV



刺突糖蛋白  
**Spike glycoprotein,  
S glycoprotein**

将新型冠状病毒S蛋白的结构与SARS的S蛋白结构进行比较后作者们发现新型冠状病毒与SARS-CoV在结构上还是高度相似的。

**如何获取病毒的编码基因？如何获得表达的蛋白质？**



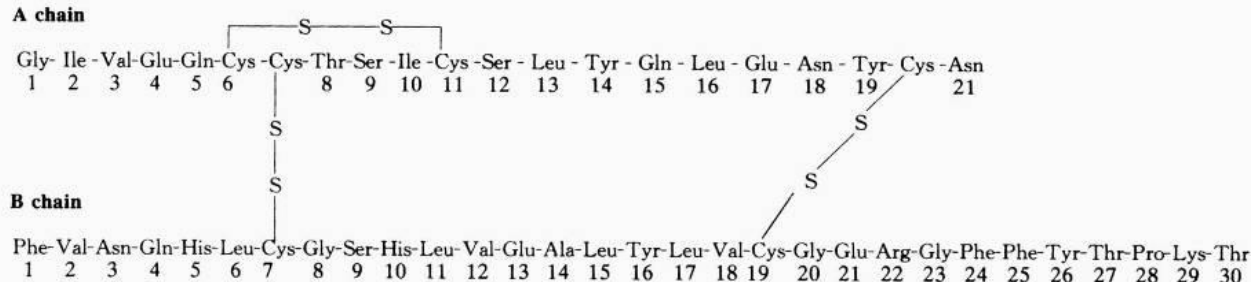


图 5-1 人胰岛素的共价结构

## 蛋白质的生物学功能

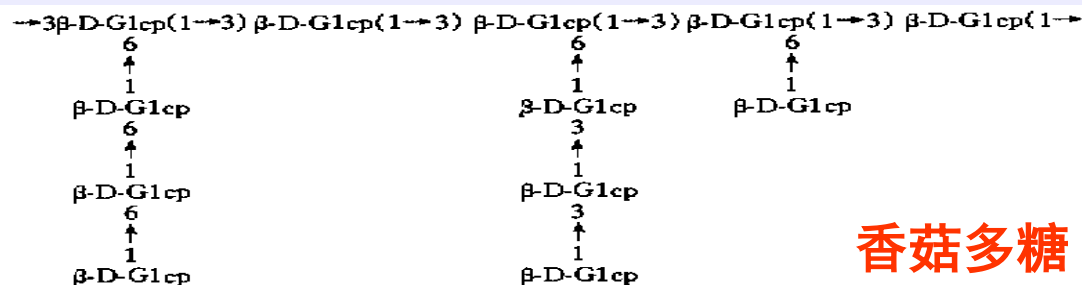
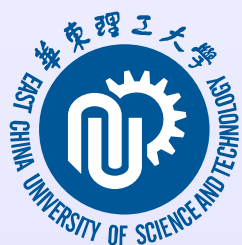
1. 生物催化作用：酶催化生物体内的物质代谢反应
2. 代谢调控作用：如胰岛素调节糖代谢；信号转导常通过某些蛋白质介导。
3. 免疫防御作用：如免疫球蛋白，可抵抗外来的有害物质，保护机体。
4. 转运功能：某些蛋白具有运载功能，如，血红蛋白转运氧气和二氧化碳。
5. 其它功能.....

每一种蛋白质都具有特定的结构，也具有特定的功能。结构决定功能。

研究蛋白质的结构、功能，阐明生命现象的本质或开发新药，必须先获得纯蛋白质。







香菇多糖

多糖和寡糖类是细胞中非常重要的一类有机化合物：

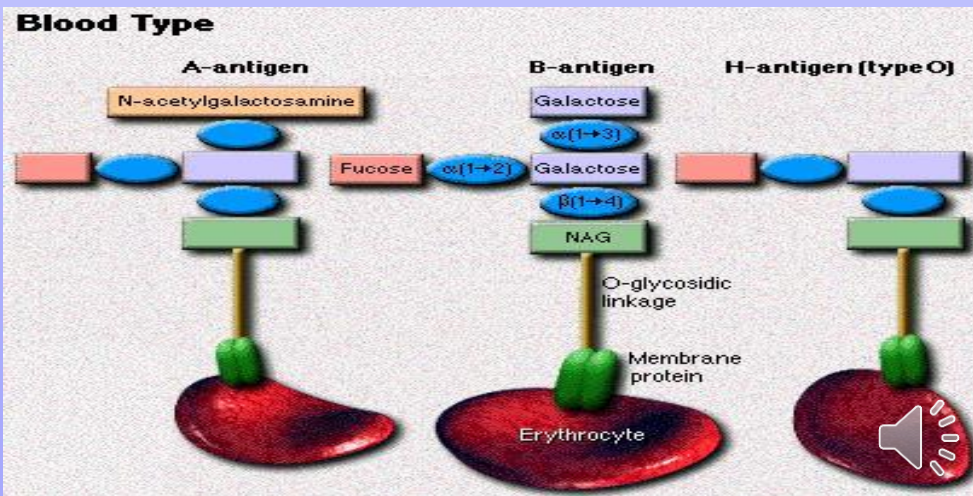
- 生物体结构成分（纤维素、糖胺聚糖），能源物质（糖原、淀粉）
- 作为细胞识别的信息分子、参与细胞生长与分化、免疫等。
- ♣ 结构与功能关系密切！

人红细胞表面糖蛋白或糖脂中寡糖链末端糖基组成的不同决定人体的血型。

糖单元对功能影响

糖苷键位置类型与分支度影响活性

0型：Fuc（岩藻糖）；A型：Fuc和GNAc（乙酰氨基葡萄糖）；B型：Fuc和Gal（半乳糖）



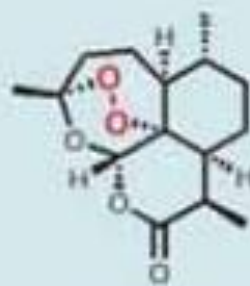
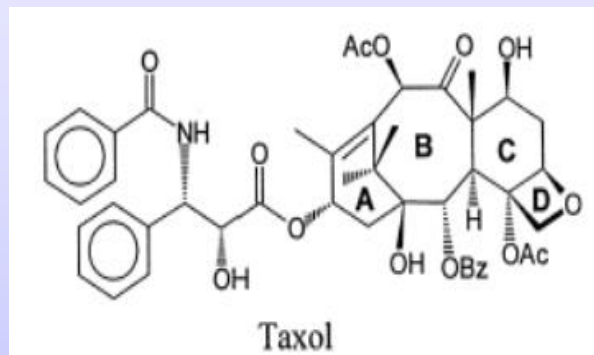
真菌多糖：具有  $\beta(1\rightarrow 3)$  糖苷键连接的  $\beta\text{-D-葡聚糖}$  主链，并  $\beta(1\rightarrow 6)$  糖苷键支链的菌类多糖，抗肿瘤作用显著。如香菇多糖。

而  $1\rightarrow 2$ 、 $1\rightarrow 4$  等连接方式的多糖很少具有活性。

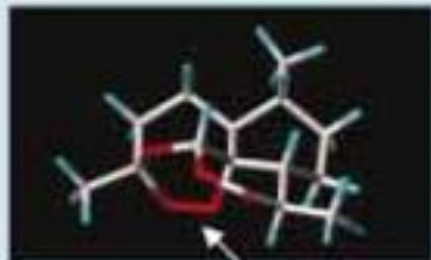


# 小分子天然产物也是新药研发重要先导化合物的来源

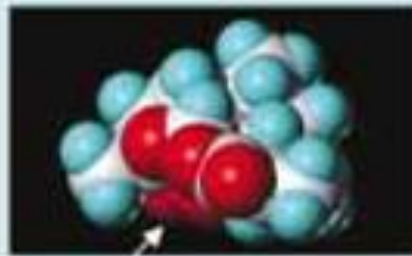
## 抗癌明星——紫杉醇(taxol)



Artemisinin



Endoperoxide bridge



1972年中国学者屠呦呦从青蒿中分离出的**抗疟**活性物质——**青蒿素** (Artemisinin)，2011年9月24日获得了美国颁发的拉斯克临床医学奖。2015年10月，屠呦呦获得诺贝尔生理学或医学奖

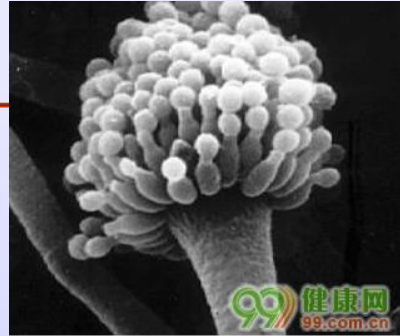


# 分析检测和食品药品安全质量等密切相关

## 模块二



### Ⅰ 类致癌物



- 黄曲霉毒素(Aflatoxins)，是黄曲霉(*A. flavus*)产生的代谢产物，**剧毒**。主要存在于被黄曲霉污染过的粮食、油及其制品中，如花生、花生油、玉米等中最为常见。
- 已分离鉴定出黄曲霉毒素共有12种，以**黄曲霉毒素B1的毒性最强**，比氰化钾的毒力大10倍，比砒霜大68倍，致癌力是二甲基硝胺的75倍，是甲基胆蒽的900倍。

2008年9月，毒大米危害遍及日本 已演变成“政治悲剧”。

2009年7月我国广东、广西等地市场上查出“毒大米”数百吨

2011年12月牛奶黄曲霉毒素M1超标。国标限值0.5微克/千克，而蒙牛实测值1.2微克/千克，超标140%。饲料因天气潮湿发生了霉变。

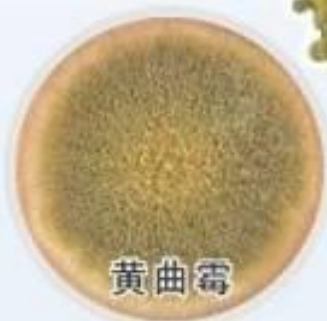


# 如何分析检测黄曲霉毒素，定量标准是什么？

## 黄曲霉毒素

迄今发现的毒性和致癌性最强的天然污染物

是黄曲霉和寄生曲霉等菌种产生的次生代谢产物



黄曲霉毒素

我国规定  
乳及乳制品中黄曲霉毒素M1限量  
0.5微克/公斤

粮食中黄曲霉毒素B1  
10微克/公斤

此次液体乳国家监督抽查  
黄曲霉毒素M1超标原因

经专家分析研判：  
由于奶牛食用了霉变饲料，致乳汁中黄曲霉毒素M1超标，奶牛停止食用霉变饲料后，乳汁中黄曲霉毒素M1就会消失

黄曲霉毒素具有很强的毒性和致癌性；

世界上已有70多个国家和地区对食品中黄曲霉毒素的含量作了限量要求。



## 药物有效性\安全性取决于主成分和杂质

青霉素V (PCV) 在提取和发酵过程中会产生一系列的降解产物，如PCV的噻唑酸、PCV脱羧噻唑酸等。

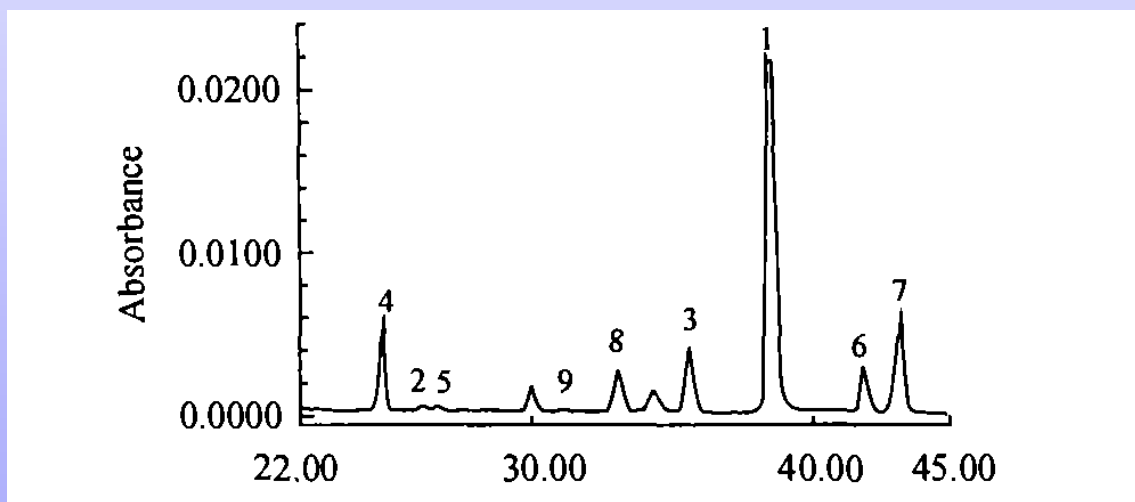


图1 PVC 发酵液 HPCE 图谱

1:PCV 2:6-APA 3:苯氧乙酸 4:对羟基 PCV 5:PCG 6:PCV 噻唑酸(5S,6R) 7:PCV 噻唑酸(5S,6R) 8:PCV 脱羧噻唑酸(5R) 9:PCV 脱羧噻唑酸(5S)





# 功能及安全性评价是新药开发的前提

→ 模块三

- 有啥活性（功能）？
- 试验设计的原则？
- 试验模型的选择？
- 考察指标的确定？



## ◆ 分离纯化实验技术

**第一章** 为样品中目标成分提取技术：主要涉及材料的处理，细胞的破碎、目标成分的抽提、浓缩等；

**第二章** 讲授分离纯化技术：主要包括纯化方案的设计与评价，生物大分子、小分子常用的分离纯化方法。

**第三章** 讲授纯度鉴别方法：经上述方法获得目标成分的纯度和性质分析。

## ◆ 分析检测实验技术

**第四章** 讲授分析检测技术在药品安全性、有效性评价以及食品安全性、营养性评价中的作用；药品(或食品)的质量标准定义及主要内容等。

**第五章** 主要讲授目标成分常用的定性检测实验技术。

**第六章** 涉及目标成分常用的定量检测技术及方法的验证。

## ◆ 功能及安全性评价实验技术

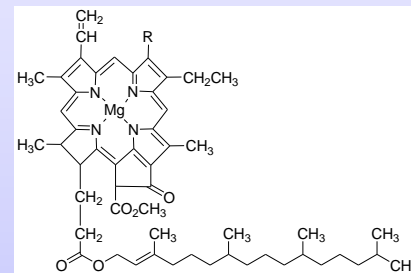
**第七章** 讲授实验室常用的目标成分生物活性评价实验技术，实验设计的原则、实验模型的建立、评价指标的确定。主要从分子水平、细胞水平、动物水平，围绕抗肿瘤、调节血糖、保肝等活性展开。





## 第一章 目标成分提取技术

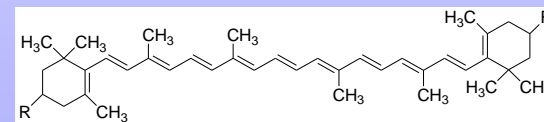
1. 目标成分可以是大大分子，也可能是小分子。
2. 试验材料可以是动物\植物\微生物。



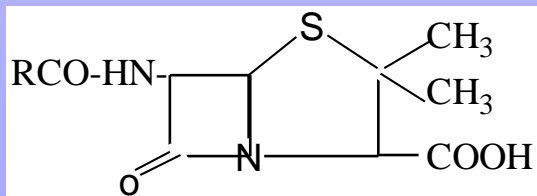
叶绿素a (R = CH<sub>3</sub>)

### 问题：

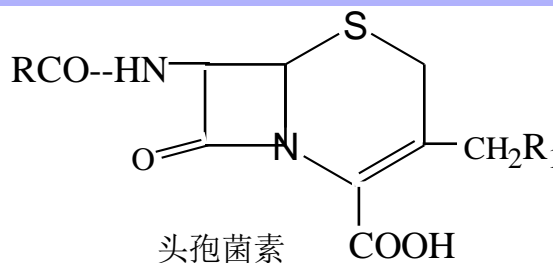
1. 如何从桂花叶中提取叶绿素类植物色素？
2. 如何从发酵材料中提取抗生素类成分？



β-胡萝卜素  
(R = H)

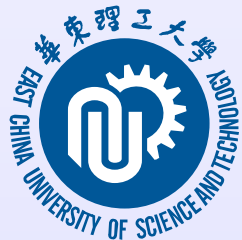


青霉素



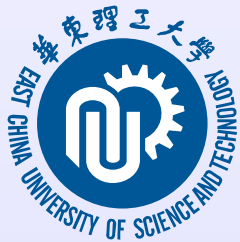
头孢菌素





## 目标成分的提取分离一般程序：

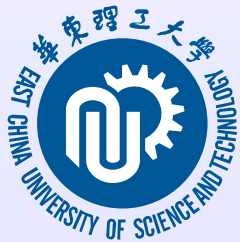
材料选择-材料预处理-细胞破碎-目标成分提取  
-浓缩-分离纯化



# 一、材料的选择

根据生产和实验目的：

- 工业生产选择来源丰富、目标成分含量高材料；杂质较少，工艺简单；成本低、经济效益较好。
- 科研则要求不严格，成本考虑较小。
- 有时不需选择，给定材料。

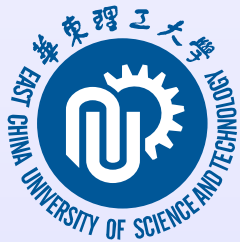


## 二、材料预处理

材料预处理的目的是：

- ✓ 保留成分活性
- ✓ 除去非需组织
- ✓ 便于后续操作

如，提取蛋白（酶）等材料，应冷冻保存；动物材料需要除去一些与实验无关的结缔组织、脂肪组织；植物种子需要除壳；微生物需要将菌体与发酵液分开；提取分离小分子成分，材料需干燥；材料过大，需粉碎等等。



## 三、细胞破碎

生物活性成分： 胞内、胞外

**细胞破碎：**采用一定方法，在一定程度上破坏细胞壁和细胞膜，使得胞内产物最大程度释放到液相中。最大阻力是细胞壁。



组织捣碎机



匀浆器



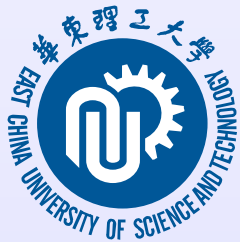
研钵

## 细胞破碎方法：机械法、物理法、化学法

### 机械法

1. **组织捣碎机**：将材料配成稀糊状液，放置于筒内约1/3体积，盖紧筒盖，将调速器先拨至最慢处，开动开关后，逐步加速至所需速度。一般用于**动物组织、植物肉质种子、柔嫩的叶芽**等。
2. **匀浆器**：先将剪碎的组织置于管中，再套入研杆来回研磨，上下移动，即可将细胞研碎。匀浆器的研钵磨球和玻璃管内壁之间间隙保持在十分之几毫米距离。制作匀浆器的材料，除玻璃外，还可以用硬质塑料、不锈钢、人造荧光树脂等。此法细胞破碎程度比高速组织捣碎机为高，适用于**量少和动物脏器组织**。
3. **研钵**：多用于**细菌**或其他**坚硬植物材料**，研磨时常加入少量石英砂，玻璃粉或其他研磨剂，以提高研磨效果。



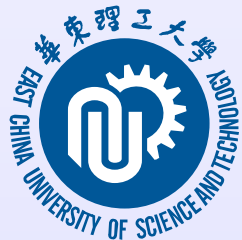


## 主要通过各种物理因素使组织细胞破碎的方法。

1. **超声波处理法**：用一定功率的超声波处理细胞悬液，使细胞急剧震荡破裂，此法多适用于**微生物材料**。机理：可能与空化现象引起的冲击波和剪切力有关。超声破碎的效率与声频、声能、处理时间、细胞浓度及首种类型等因素有关。

**特点**：操作简单，重复性较好，节省时间；多用于微生物和组织细胞的破碎。 **存在问题**：超声波破碎在实验室规模应用较普遍。

2. **反复冻溶法**：将待破碎的细胞在-20度以下冰冻，室温融解，反复几次，由于细胞内冰粒形成和剩余细胞液的盐浓度增高引起溶胀，使细胞结构破碎。原理：因突然冷冻，细胞内冰晶的形成及胞内外溶剂浓度的突然改变而破坏细胞。 **特点**：此法适用于组织细胞，多用于**动物性材料**，对微生物细胞作用较差。

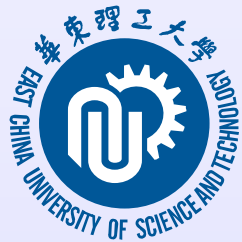


**1. 酶溶法：**利用各种水解酶，如溶菌酶、纤维素酶、半纤维素酶等，将细胞壁分解，使细胞内含物释放出来。**植物材料、微生物材料**

**化学法**

**2. 化学渗透法：**某些有机溶剂（如苯、甲苯）、抗生素、表面活性剂、金属螯合剂、变性剂等化学药品都可以改变细胞壁或膜的通透性从而使内含物有选择地渗透出来。**特点：**多用于**破碎细菌**，且作用比较温和；提取核酸时，常用此法破碎细胞。

无论用哪一种方法破碎组织细胞，都会使细胞内蛋白质或核酸水解酶释放到溶液中，使大分子生物降解，加入二异丙基氟磷酸（DFP）可以抑制或减慢自溶作用；加入碘乙酸可以抑制那些活性中心需要有巯基的蛋白水解酶的活性，加入苯甲磺酰氟化物（PMSF）也能清除蛋白水解酶活力等。



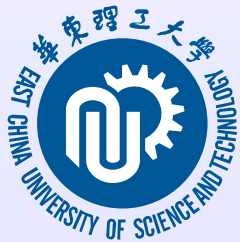
## 四、目标成分的抽提

提取的方法：

√ 溶剂提取法

√ 水蒸气蒸馏法

√ 升华法



# 溶剂提取法

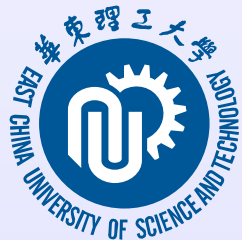
## 溶剂提取法原理：

根据各种成分在不同溶剂中的溶解度不同，选用对目标成分溶解度大，对杂质成分溶解度小的溶剂，而将目标成分从材料组织细胞内溶解出来的方法。

## 溶剂提取法溶剂选择的原则：

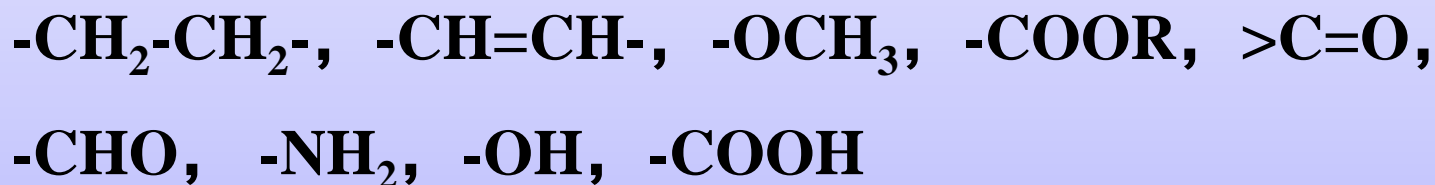
### “相似相溶”原则

溶剂可分为水、亲水性有机溶剂及亲脂性有机溶剂，被溶解的成分也有亲水性及亲脂性的不同。亲水性、亲脂性及其程度的大小，是和化合物的分子结构直接相关。



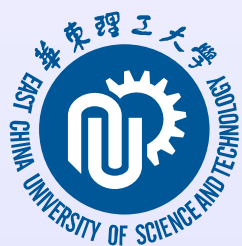
## 极性及其强弱判断

a: 化合物的极性：按下列官能团的顺序增强



极性增强方向

✓ 化合物的极性：由分子中所含官能团的种类、数量及排列方式等综合因素决定。



b: 溶剂的极性:与介电常数大小一致

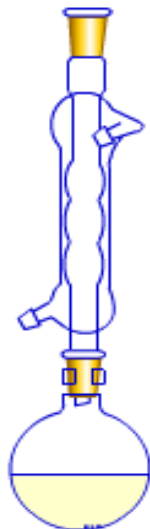
环己烷	1.88
苯	2.29
氯仿	4.47
无水乙醚	5.20
乙酸乙酯	6.11
乙醇	26.0
甲醇	31.2
水	81.0

极性递增

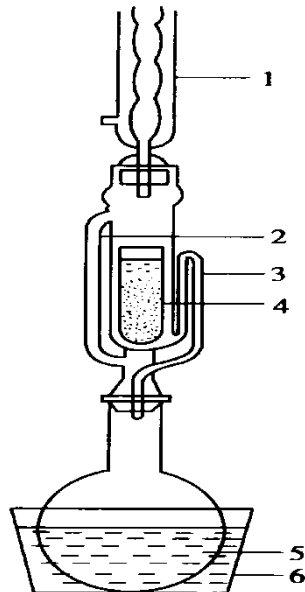
石油醚 < 苯 < 氯仿 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 正丁醇 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇 < 乙腈 < 水

亲脂性有机溶剂                      亲水性有机溶剂





回流装置示意图



1. 冷凝管
2. 溶剂蒸气上升管
3. 虹吸管
4. 装有药粉的滤纸袋
5. 溶剂
6. 水浴



## 溶剂提取常用方法：

### 索氏提取装置（连续回流）

- √ 浸渍法
- √ 渗漉法
- √ 煎煮法：有机溶剂？蛋白类？
- √ 回流提取法：蛋白类？
- √ 连续回流提取法：蛋白类？  
(索氏提取法)
- √ 超声提取法



超声波仪器

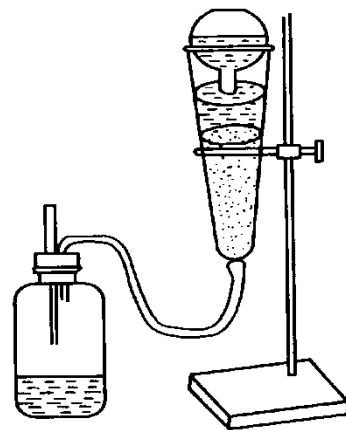
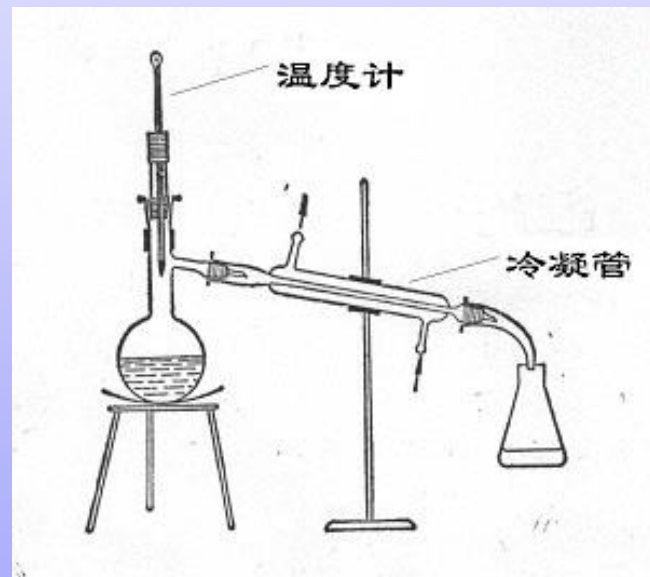


图 2-1 连续渗漉装置

# 水蒸气蒸馏法

只适用于**难溶或不溶于水、与水不会发生反应、能随水蒸气蒸馏而不被破坏的成分**的提取。这类成分的沸点多在 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上，当温度接近 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时存在一定的蒸气压，与水在一起加热时，当其蒸气压和水的蒸气压总和为一个大气压时，液体就开始沸腾，水蒸气将挥发性物质一并带出。

例如，中草药中的**挥发油**多采用本法提取，白头翁素、丹皮酚、杜鹃酮、丁香酚、桂皮醛等单体成分也常用此法提取。操作时蒸馏瓶中的药粉和水的总体积为蒸馏瓶容量的 $1/2$ 为宜，不宜超过 $2/3$ 。冷凝管的冷凝效率一定要高，当**馏出液由浑浊变为澄清**时，表示蒸馏已基本完成。



实验室用的水蒸气蒸馏简单装置

# 升华法

有些固体物质受热后会直接气化，遇冷后又凝固为原来的固体化合物，此现象称之为**升华**。对于具有升华性质的成分可采用升华法直接提取。

例如，从樟木中提取**樟脑**（camphor），是世界上最先应用升华法从中药材中提取的有效成分。茶叶中的**咖啡碱**在温度达到 $178^{\circ}\text{C}$ 以上也能升华而不被分解，所以，提取咖啡碱时也常用升华法。

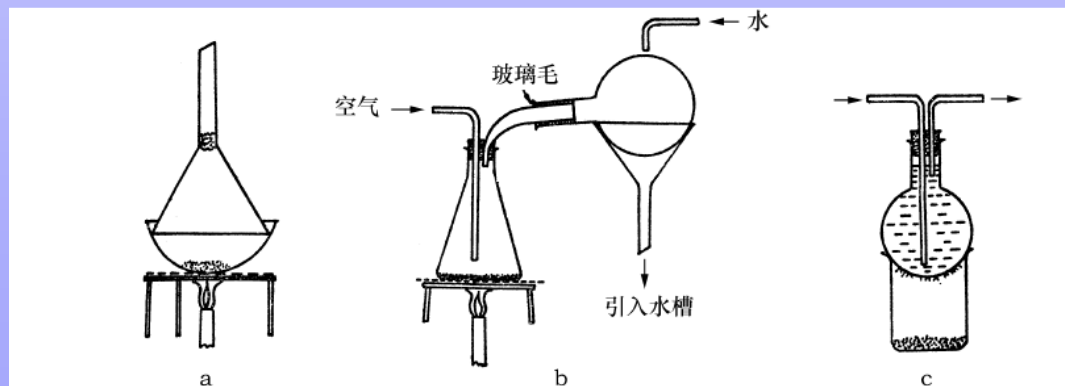


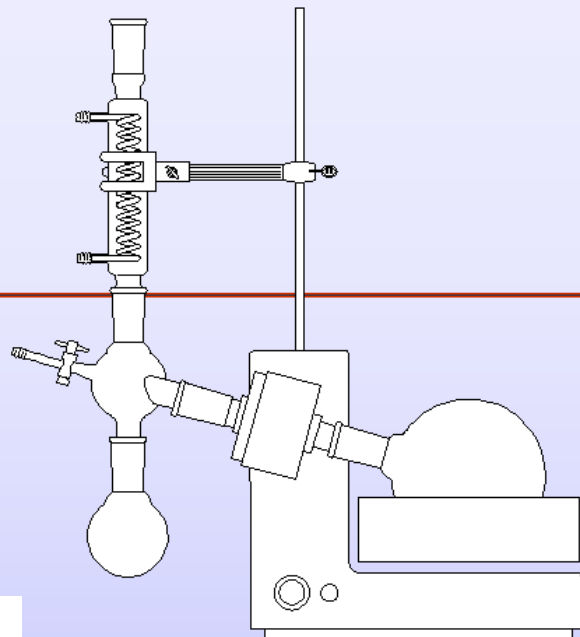
图 2.50 常压升华装置

## 五、提取液的浓缩

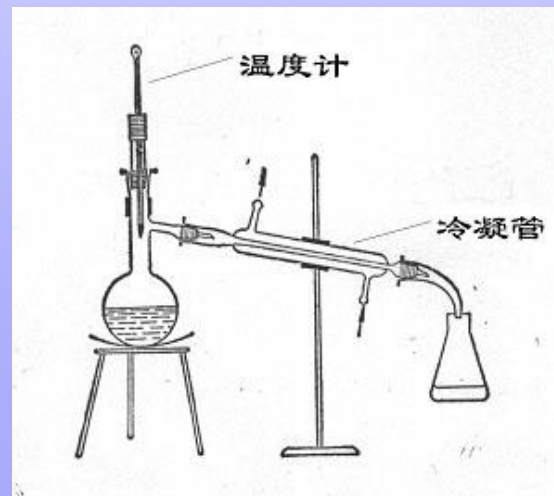
### 提取液浓缩的常用方法：

1. **蒸发法**：通过加热使溶剂气化挥散，不需回收的一种浓缩方法。适用**水**提取液的浓缩。**对热稳定**
2. **蒸馏法**：将提取液加热沸腾，使溶剂气化并冷凝为液体而回收，达到提取液浓缩的目的。**有机溶剂**提取液、**对热稳定**

**相比常压蒸馏, 负压蒸馏可以提高效率, 且适用不耐高温样品的浓缩.**

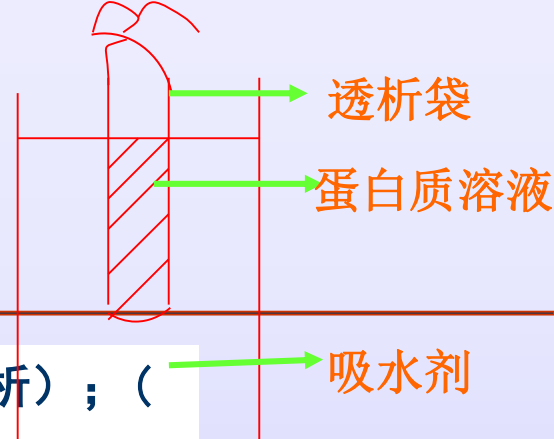
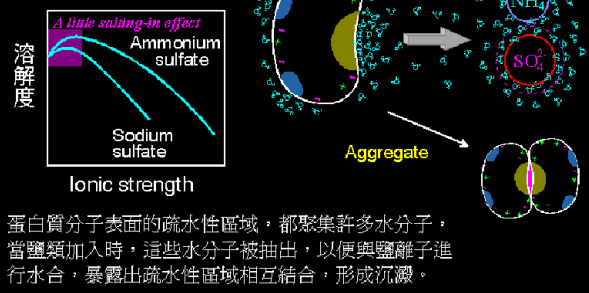


实验室用旋转蒸发仪  
(负压蒸馏)



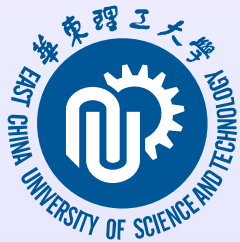
蒸馏简单装置(常压蒸馏)

### Salting-out:



3. **沉淀浓缩法：**硫酸铵沉淀，利用高浓度盐将蛋白质析出（盐析）；（低温）有机溶剂，0-4度可用乙醇，丙酮等将蛋白质析出。
4. **冷冻干燥浓缩法：**冰冻状态下直接升华去除水分。具体做法是将蛋白液在低温下冰冻，然后移置干燥器内，密闭，迅速抽真空，数小时后即可获得含有蛋白的干燥粉末。
5. **透析袋浓缩法：**将要浓缩的蛋白溶液放入透析袋（无透析袋可用玻璃纸代替），结扎，把高分子（6 000—12 000）聚合物如聚乙二醇、聚乙烯吡咯、烷酮等或蔗糖**吸水剂**撒在透析袋外即可，也可将配成30%—40%浓度的溶液，将装有蛋白液的透析袋放入即可。
6. **超滤膜浓缩法：**利用微孔纤维素膜通过高压将水分滤出，而蛋白质存留于膜上达到浓缩目的。
7. **凝胶浓缩法：**选用孔径较小的凝胶，如SephadexG25或G50，将凝胶直接加入蛋白溶液中。放入冰箱内，凝胶粒子吸水后，通过离心除去。
8. **浓缩胶浓缩法：**浓缩胶是一种高分子网状结构的有机聚合物，具有很强的吸水性能，能吸收低分子量的物质，如水、葡萄糖、蔗糖、无机盐等，适宜浓缩10 000分子量以上的生物大分子物质。

对热不稳定样品



举例

## 蛋白质的提取程序

一般可分为以下几个阶段：

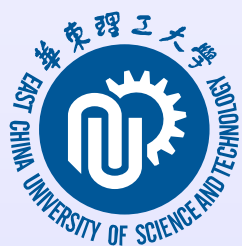
材料选择与预处理-细胞破碎-蛋白的提取-浓缩-  
分离纯化





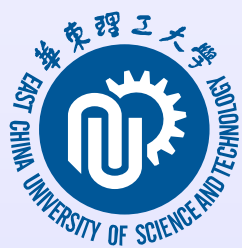
## ① 材料的选择和预处理

- ❑ 若自己选择，注意选择含量高、来源丰富、易获得、成本低的动植物组织或微生物做原料。接下来预处理。
- ❑ 导师给定，直接预处理即可。
- ❑ 实验材料选定后，需要预处理，如动物材料需要除去一些与实验无关的结缔组织、脂肪组织；植物种子需要除壳；微生物需要将菌体与发酵液分开。另外，**必须尽可能保持材料的新鲜，尽快加工处理**。若不立即进行实验或加工，应冷冻保存。



## ② 破碎细胞

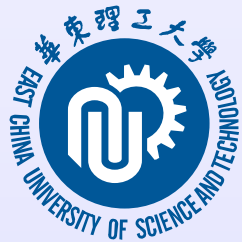
- ✓ 材料是体液（如血）或生物体分泌到体外的分泌物，则不必进行组织细胞的破碎。
- ✓ 一般动物组织和细胞可用**电动捣碎机**或**匀浆器**破碎。
- ✓ 植物组织和细胞由于具有纤维素、半纤维素和果胶等物质组成的细胞壁，一般常用与石英砂和适当的提取液一起**研磨**的方法破碎或用**纤维素酶处理**也能达到目的。
- ✓ 细菌细胞的破碎比较困难，细菌细胞壁的骨架实际上是一借共价键连接而成的肽聚糖囊状大分子，非常坚韧。破碎的方法常有**超声波震荡**、与**石英砂研磨**、或**溶菌酶**处理（以分解肽聚糖）。



### ③ 蛋白质（酶）的提取

大多数蛋白质均能溶于水、稀盐、稀碱或稀酸溶液中，故蛋白质的提取一般以水溶液提取为主。

通常采用类似生理条件下的缓冲液，如20-50mmol/L的磷酸盐缓冲液（pH7.0-7.5）或0.1mol/L Tris-HCl（pH7.5-8.0）缓冲液作提取溶剂。



## ④ 提取液的浓缩

**沉淀法：**盐析、有机溶剂沉淀除去溶剂和大量杂质。不仅，起到提取液**浓缩**的目的，也起到**粗分级分离**目的。

**冷冻干燥浓缩法：**

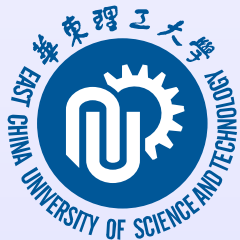
**透析袋浓缩法：**

**热稳定性差**

**超滤膜浓缩法：**

**凝胶浓缩法：**

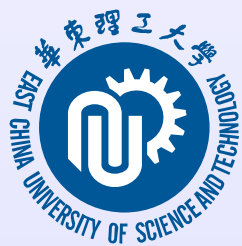
**浓缩胶浓缩法：**



# 蛋白质（酶）的分离纯化

蛋白质分离纯化的方法很多，主要是根据蛋白分子之间特异性的差异，如分子大小，溶解度，电荷等建立起来的。

性质	方法
❖ 分子大小	透析、超滤、密度梯度离心、凝胶过滤
❖ 溶解度	等电点沉淀、盐析、有机溶剂沉淀
❖ 电荷	电泳、离子交换层析
❖ 吸附性质	吸附层析（羟基磷灰石层析、疏水作用层析）
❖ 对配体分子的生物亲和力	亲和层析



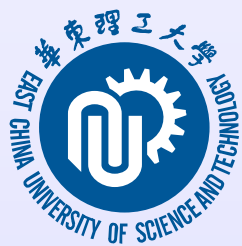
# 藻胆蛋白、蚕豆蛋白提取分离

## 1.2.1 藻胆蛋白的提取纯化及纯度分析<sup>[5-7]</sup>

将新鲜的褐藻洗净沥干水分与少量石英砂混合,加入适当的 PBS 提取液制成糊状物用高速组织捣碎机破碎藻体的细胞壁使藻胆蛋白释放。提取液置于 4 ℃ 5 000 rpm 高速离心 20—30 min,取上清。用 50% 饱和硫酸铵沉淀粗提液,4 ℃ 静置 2 h 后,4 ℃ 离心 5 000 rpm 20 min;将沉淀用 PBS 溶解并透析过夜。

取出透析液,室温进行 Cellulose DE - 52 阴离子交换层析,用 PBS pH 7.4 洗脱藻胆蛋白,收集洗脱液,进行 SDS - PAGE 和银染分析,根据电泳分析结果将对应收集洗脱液合并;然后加入饱和硫酸铵终

1.2.2 蛋白质提取工艺过程 蚕豆→去壳→清水浸泡  
→粗碎→磨浆→二层纱布过滤→滤液→静置→上清液→调  
pH 到蛋白质等电点→离心沉淀→湿蛋白→干燥→粗蛋白

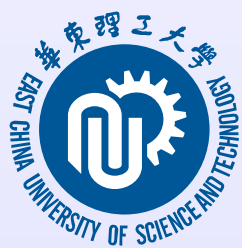


# 拮抗TMV菌株By33产抗病毒蛋白 分离纯化

## 1.2 蛋白粗提液的制备<sup>[4-5]</sup>、蛋白分离纯化、分子量测定<sup>[6-8]</sup>

菌株 By33, 经摇床培养, 杀菌灭活, 得无菌发酵液, 硫酸铵沉淀粗提蛋白, 沉淀和上清 PBS 透析除盐, 半叶法检测无菌发酵液和粗蛋白活性。粗提蛋白液经 PEG 浓缩、凝胶过滤和柱层析, 活性洗脱液经 SDS-PAGE 电泳显色, 与标准品对比分子量。

离心去  
菌体  
←



# 东北枸杞多糖分离纯化

## 选材与预处理

枸杞干果→粉碎→石油醚脱脂 2h→95%乙醇回流 1h→80%乙醇回流 1h→

## 目标成分抽提与浓缩

沸水

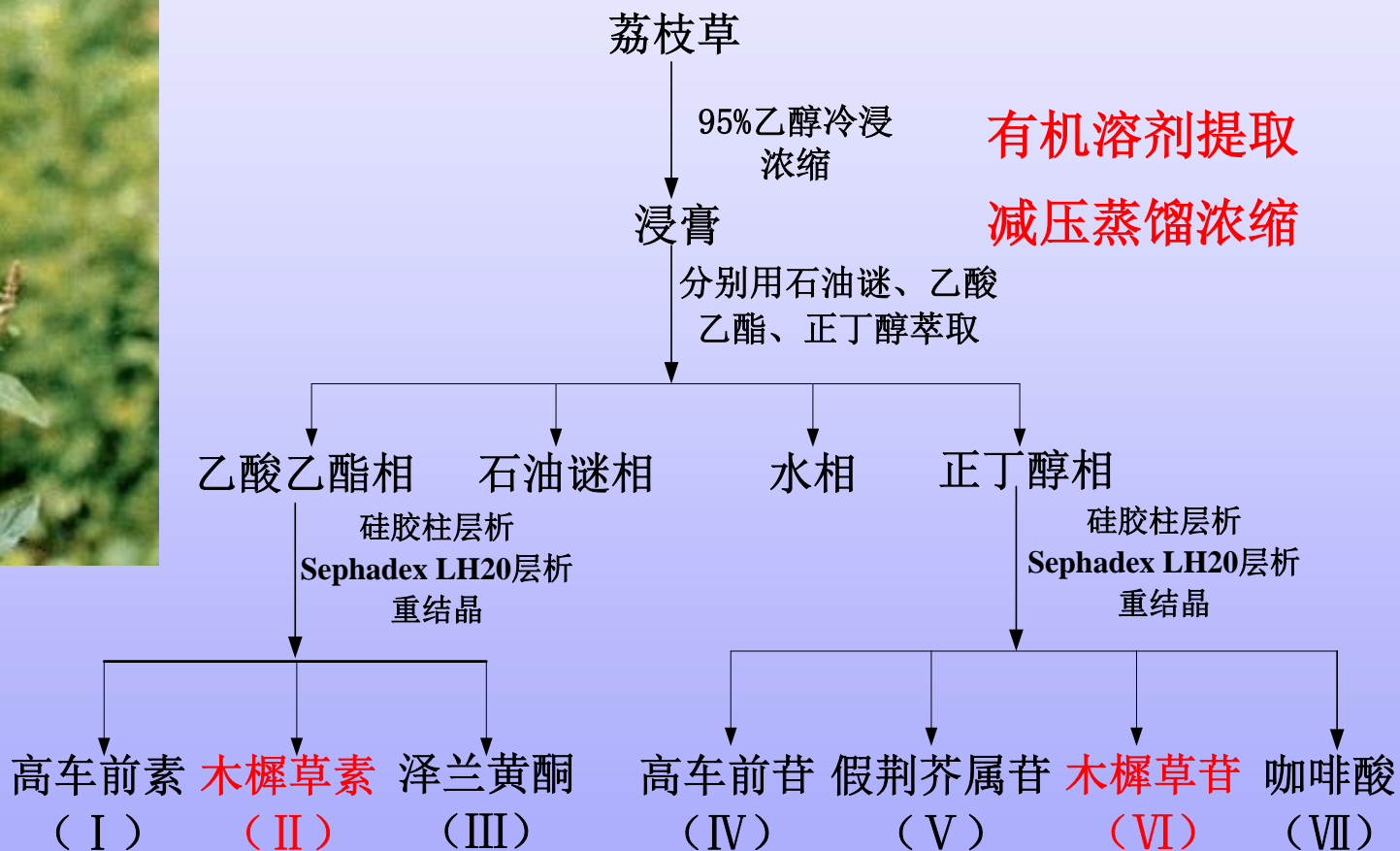
浸提→抽滤→浓缩→醇沉→95%乙醇、无水乙醇、丙酮淋洗→50℃烘干→粗多糖



菌体发酵生产胞外多糖？胞内多糖？



# 荔枝草化学成分分离纯化和结构鉴定

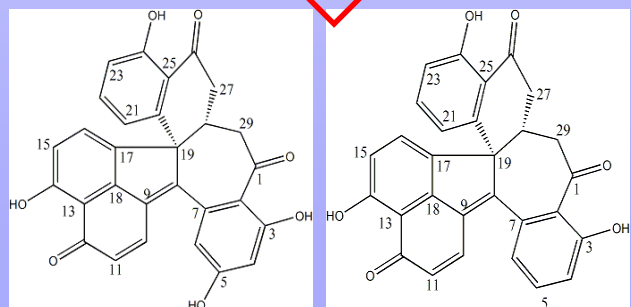




# 微生物发酵生产胞外、胞内小分子天然药物？



海洋光轮层炭壳菌  
*Daldinia eschscholzii*



Dalesconol A

Dalesconol B

## 免疫抑制活性

Compounds	IC <sub>50</sub> (μg mL <sup>-1</sup> )		SI
	ConA-induced	Cytotoxicity	
dalesconol A	0.16	>80	>500
dalesconol B	0.25	>80	>138
cyclosporin A	0.06	11.2	187

Zhang *et al.* *Angew. Chem.* 2008, 120: 5907-5910.

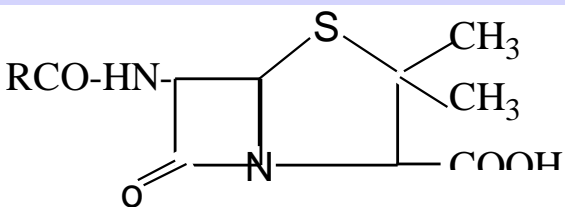
**存在问题：**产量低（1 mg/L），难以满足新药研发药理毒理研究用量及工业化生产的需求。

**解决方案：**发酵优化、放大。

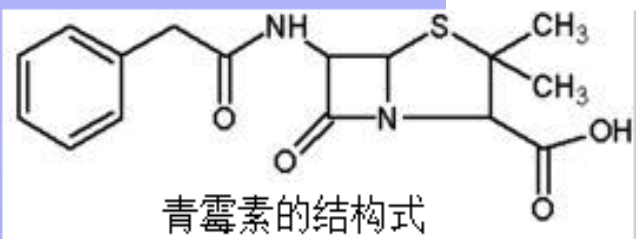
发酵液离心去菌体，上清乙酸乙酯萃取

# 思考:

1. 如何从桂花叶中提取叶绿素类植物色素?
2. 如何从发酵材料中提取抗生素类成分?

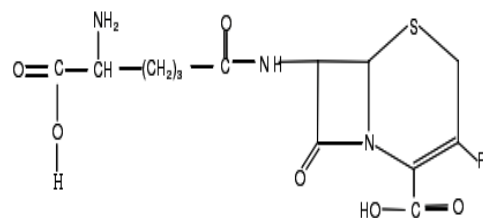
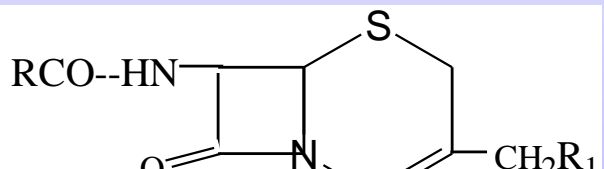


青霉素



青霉素的结构式

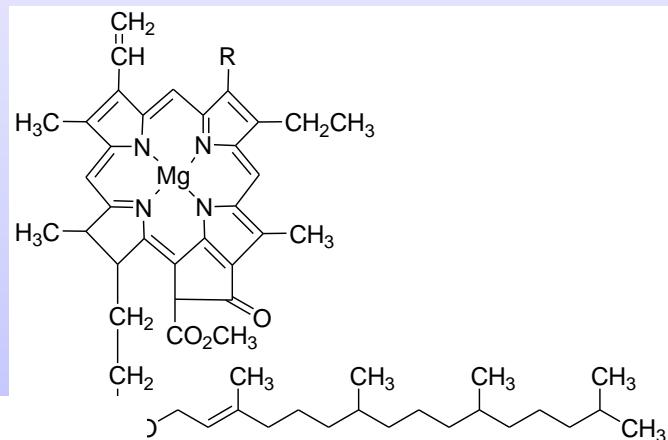
青霉素G



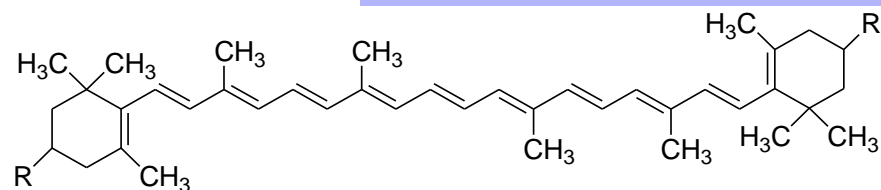
$R = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$

头孢菌素 C 的结构式

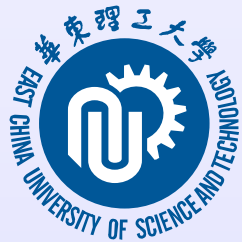
头孢菌素C



叶绿素a ( $R = \text{CH}_3$ )

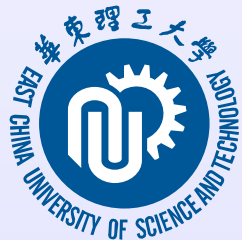


β-胡萝卜素 ( $R = \text{H}$ )



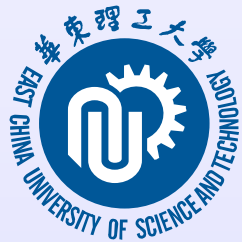
# 思考：

**大分子目标成分(蛋白质、多糖……)与小分子目标成分(抗生素、植物色素……)提取溶剂有区别吗？举例阐明。**



## 参考教材:

1. 《生物化学技术原理及应用》,赵永芳主编,科学出版社,2002;
2. 《生物药物分析》, 张冬青 主编, 华南理工大学出版社, 2008
3. 《药理实验方法学》, 刘建文主编, 化工出版社, 2003
4. 《动物细胞培养工程》, 张元兴 主编, 化工出版社, 2006



*Thank you for your attention!*