

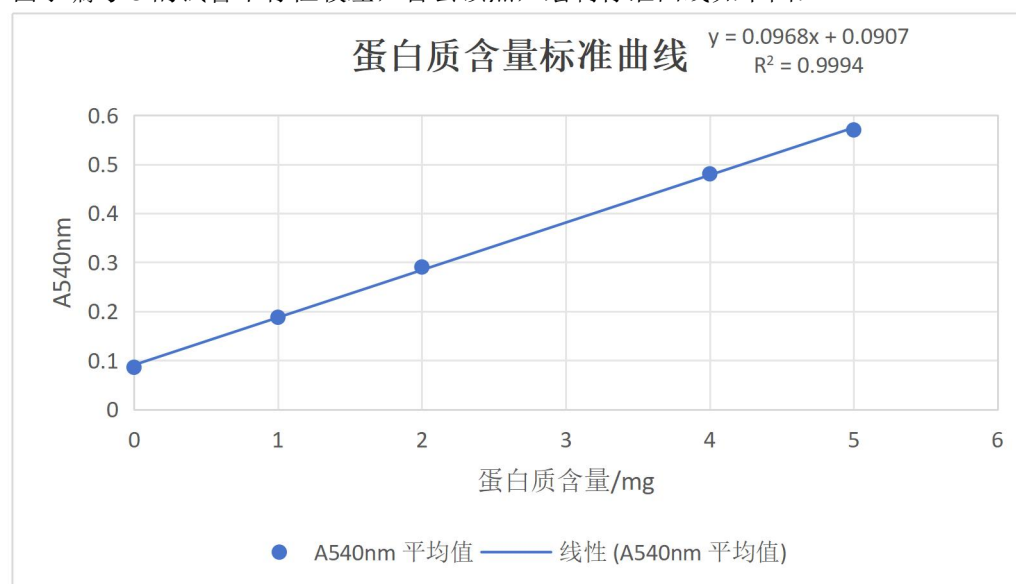
【结果】

1. 记录数据

试管编号	标准曲线						IgG 溶液	稀释十倍的血清
	0	1	2	3	4	5	6	7
蛋白质含量/mg	0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	—	—
A _{540nm} (1)	0.086	0.188	0.288	0.39	0.48	0.562	0.319	0.312
A _{540nm} (2)	0.086	0.188	0.293	0.401	0.481	0.578	0.33	0.31
A _{540nm} 平均值	0.086	0.188	0.2905	0.3955	0.4805	0.57	0.3245	0.311

2. 绘制标准曲线

由于编号 3 的试管平行性较差，舍去该点，绘制标准曲线如下图：



3. 计算血清和 IgG 溶液的蛋白质浓度：

血清蛋白浓度：0.5mL 稀释 10 倍血清中的蛋白质含量为： $\frac{0.311-0.0907}{0.0968} = 2.2758\text{mg}$

血清蛋白浓度为： $\frac{2.2758}{0.5} \times 10 = 45.516\text{mg/mL}$

IgG 溶液的蛋白质浓度：0.2mL IgG 溶液中的蛋白质含量为： $\frac{0.3245-0.0907}{0.0968} = 2.4153\text{mg}$

IgG 溶液的蛋白质浓度为： $\frac{2.4153}{0.5} = 4.8306\text{mg/mL}$

4. 计算实验所用血清的总蛋白质质量和获得的 IgG 样品总质量：

血清总蛋白： $45.516 \times 5 = 227.58\text{mg}$

IgG 总质量： $4.8306 \times 5 = 24.153\text{mg}$

【讨论题目】

1. 若将称取的硫酸铵粉末一次性倒入样品溶液中, 这种操作会对实验造成什么影响?

局部盐析, ↓大量蛋白

局部高浓度 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 导致局部盐析, 使得大量蛋白沉淀, 使所得 IgG 粗制品所含蛋白过多

2. 两次离心后保留部分上清液的意义是什么?

保留中间样品方便后续分析 (未 get 目标产物时方便分析)

未获得目标样品时可以通过分析上清得知损失发生在哪一步骤

1. 试分析可能造成标准曲线线性差的原因。

① 操作错误: 如移液器使用不当, 液体体积加错, 漏加试剂等

② 双缩脲试剂反应时间不同

2. 请分析设置平行样品的必要性。

两个平行样品取平均值可以降低随机误差

并且在一样品失误后, 可以舍去, 选择另一个选择另一个样品的测定值

3. 测定血清蛋白质浓度为何先对样品进行稀释? 若未提供稀释比例, 如何设计实验方案?

① 原因: 样品所含蛋白质浓度较高, 超出标准曲线范围, 若不稀释, 将无法测出血清蛋白质浓度

② 方案: 梯度稀释

稀释 2 倍, 5 倍, 10 倍, 20 倍等, 每组^{重复}平行 1 次, 测定每组吸光值, 选择落在曲线中的点, 计算蛋白质浓度

115

1. 什么是盐析作用?

向蛋白质溶液中加入高浓度中性盐如 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl 等, 可以使蛋白质去水化层, 溶解度下降, 从溶液中沉淀析出

2. 双缩脲法测定蛋白质溶液浓度的原理是什么?

肽键结构与双缩脲结构类似, 可在碱性^溶液中与 Cu^{2+} 结合, 生成复杂的紫色络合物

【应用与拓展】

1. 什么是光吸收? 什么是吸收光谱?

光吸收: 光通过材料时, 与材料发生相互作用, 电磁辐射能量被部分地^{量形式}转化为其他能量形式的物理过程

吸收光谱: 物质吸收光子, 从低能级跃迁到高能级而产生的光谱

2. 紫外吸收法测定蛋白质含量的原理是什么?

R 蛋白质中的芳香族 aa Tyr, Trp, Phe 在 280nm 左右有最大吸收峰

因为大多数 Pr 中芳香族 aa 含量差别不大, 故可以通过测量 aa 在 280nm 处的吸光度来推算 Pr 的含量