



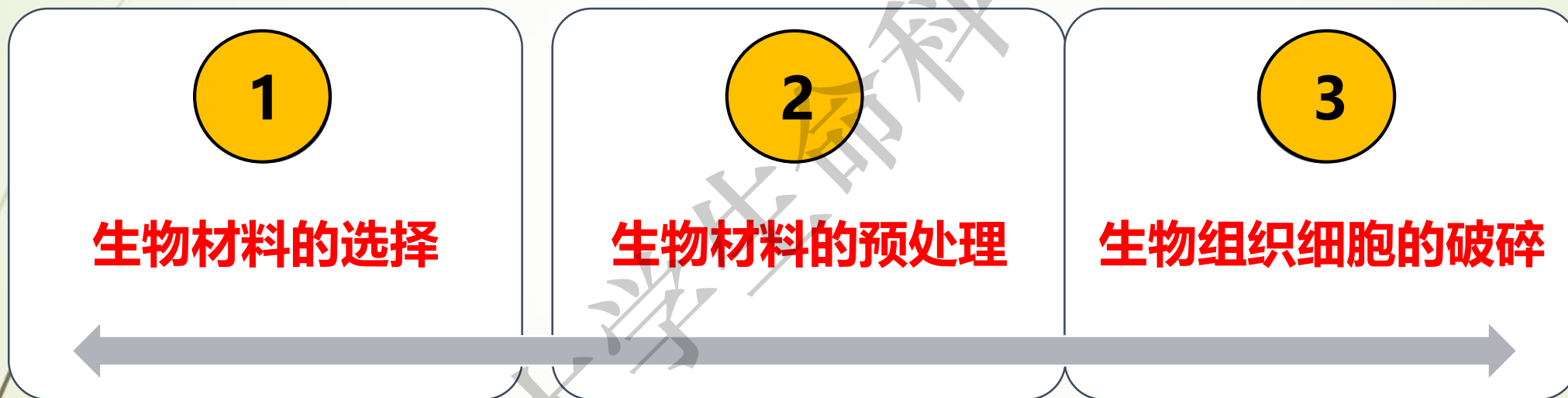
生物化学实验

生物大分子制备技术

2.2 生物大分子制备的前期处理

北京大学 王青松 胡晓倩

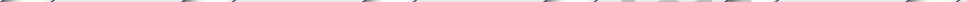
生物大分子制备的前期处理

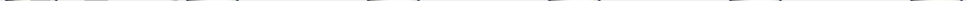
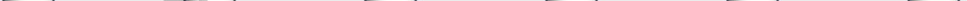


1. 生物材料的选择

- 生物材料来源：主要是动物、植物、微生物、细胞等。
- 对天然蛋白质生化产品，为提高其质量、产量和降低生产成本，对原料的种属、发育阶段、生物状态、来源、解剖部位、生物技术产品的宿主菌或细胞都有一定的要求，根据这些，可使分离纯化工作事半功倍。

选择目的物活性成分含量高的新鲜材料





2. 生物材料的预处理

- 采集的生物原材料在生物材料破碎及提取纯化前必须进行预处理。

- 1) 动物材料：要剔除结缔组织、脂肪组织等非活性部分；
- 2) 植物材料：根据材料的部位，要清洗、去壳、粉碎、去脂等；
- 3) 微生物材料：及时将菌体与发酵液分开。

生物材料如不立即提取纯化，可根据情况放入-20℃短期保存，也可放入液氮或-70℃超低温冰箱冷冻长期保存。

3. 生物组织细胞的破碎

- 生物组织细胞的破碎是指利用机械、物理、化学或酶学等方法破坏细胞壁或细胞膜，将胞内物质释放出来的过程。
- 在生物大分子提取前，先将大块的原料粉碎或绞碎成适用的粒度，或在缓冲液中将生物组织细胞破碎，使胞内生物活性物质充分释放到溶液中，有利于提取或吸附。
- 不同的生物体或同一生物体不同的组织，其破碎的难易不一样，使用的方法也不完全相同。

常用破碎方法

机械破碎法

利用机械运动所产生的剪切力的作用，使细胞破碎。

物理破碎法

通过温度、压力、超声波等各种物理因素的作用，使细胞破碎。

化学破碎法

某些化学试剂可改变或破坏细胞壁或细胞膜的结构，使细胞破碎

酶学破碎法

利用细胞本身或外加的蛋白水解酶的催化作用，使细胞破碎

3.1 机械破碎法

组织捣碎机破碎法

- 用10 000-20 000 r/min的内刀式组织捣碎机（高速分散器）将组织细胞打碎。这是一种剧烈的破碎细胞的方法，捣碎过程中要保持低温，时间不宜过长。

研磨法

- 将剪碎的动物组织或植物材料置于研钵中，加入少量石英砂研磨，研磨可在加入液氮的低温下研磨。

匀浆法

- 将剪碎的动物组织放入玻璃匀浆器中，反复匀浆，匀浆可在冰上低温操作。

3.2 物理破碎法

超声波破碎法

- 利用超声波震荡破碎细菌或细胞，常用于微生物材料的破碎。操作中注意避免溶液中气泡的存在，制备对超声波敏感的一些核酸、酶，要慎重使用。该法产热较多，要注意操作时冰浴及间歇进行。

高压破碎法

- 利用高压使细胞悬液高速通过固定的小孔，通过高速撞击使细胞破碎。高压法多用于微生物细胞的破碎，是大规模破碎细胞的常用方法，适用于工业生产。

反复冻融法

- 把待破碎的样品冷至 -15°C 以下冻结，再取出室温迅速融化，如此反复操作，使细胞与菌体破碎。

3.3 化学破碎法

- 原理：某些化学试剂可**改变或破坏细胞壁或细胞膜的结构**，使细胞内的蛋白质、DNA等生物大分子释放出来。
- 常用化学试剂有：
 - 1) 有机溶剂：丙酮、氯仿、甲苯等
 - 2) 表面活性剂：十二烷基硫酸钠(SDS)、脱氧胆酸钠等

3.4 酶学破碎法

- 自溶法

新鲜的生物材料存放在一定的pH和适当温度下，**利用组织细胞中自身的各种水解酶**将组织细胞溶解，使细胞内含物释放出来的方法。

- **酶解法**

利用各种**水解酶**，如溶菌酶（Lysozyme），可**专一地破坏细菌细胞壁**，随后在渗透压差作用下，导致细胞完全破碎。