



生物化学实验

生物大分子制备技术

2.1 概述

北京大学 王青松 胡晓倩

生物大分子制备的重要性

- 蛋白质、核酸等生物大分子的结构与功能的研究是生命科学研究的**核心科学问题**，而研究生物大分子结构与功能，实验中必须首先解决生物大分子的制备问题。
- 生物大分子的制备与分离纯化是一件十分细致而困难的工作，纯化一种高纯度的蛋白质、酶或核酸，需要付出长期和艰苦的努力。



生物大分子制备的主要特点

- 1. 生物材料的**组成成分非常复杂**，包含数百、数千、乃至上万种化合物，各种化合物的形状、大小、相对分子质量和理化性质都各不相同；
- 2. 很多生物大分子在生物材料中的**含量极微**，有的只有**1/10 000**；
- 3. 分离纯化步骤多，流程长，操作时间长；
- 4. 许多**生物大分子离开了生物体内环境，容易变性失活**，应十分注意保护它们的生物活性，常选择十分温和的条件，尽可能在低温和洁净环境中进行；
- 5. 生化分离制备过程几乎都在溶液中进行，溶液的温度、pH、离子强度等参数对各种组成成分的综合影响，常常无法固定。过酸、过碱、重金属离子、高温、剧烈的机械作用、强烈的辐射和机体内自身酶的作用，均可破坏这些分子的结构或生理活性。

生物大分子制备的步骤

① 确定要制备的生物大分子的目的和要求
(科研、开发、发现新的物质)

② 建立相应可靠的分析测定方法

③ 通过文献调研和实验，掌握生物大分子目的产物的物理化学性质

④ 生物材料的前处理（预处理和破碎）

⑤ 分离纯化方案的选择和探索

⑥ 生物大分子目的物的均一性（即纯度）的鉴定

⑦ 产物的浓缩、干燥、保存

制备相关生物大分子的性质

溶解性

- 水中和有机溶剂中的溶解性

溶液中的稳定性

- 不同温度、pH值和缓冲液中生物大分子的稳定性

固态时的稳定性

- 固态时对温度、含水量和冻干时的稳定性

物理性质

- 分子的带电情况、大小、离心沉降能力、层析中的分配系数等

化学性质

- 对蛋白质、水解酶的稳定性和化学试剂的稳定性

亲和力

- 对其它生物分子的专一性和亲和力