



生物化学实验

生物大分子制备技术

2.8 生物大分子的含量测定与纯度鉴定

北京大学 王青松 胡晓倩

生物大分子的含量测定

蛋白质含量测定



- ☐ 凯氏定氮法
- ☐ 双缩脲法
- ☐ 紫外吸收法
- ☐ Folin-酚法
- ☐ BCA法
- ☐ Bradford法

核酸含量测定



- ☐ 紫外吸收法
- ☐ 定磷法
- ☐ 二苯胺法测DNA
- ☐ 地衣酚法测RNA

糖类的含量测定



- ☐ 3, 5-二硝基水杨酸法
- ☐ 菲林试剂法
- ☐ 蒽酮法
- ☐ 旋光法
- ☐ . . .

详见 第3章：生物大分子定量测定技术

生物大分子的纯度鉴定

- 一个生物大分子的制备提取物是否纯，常以“均一性”表示。
- 均一性是指所获得的制备物只具有一种完全相同的成分。
- 均一性的评价常须经过2~3种方法的验证才能确定。

生物大分子纯度的鉴定方法



溶解度法和离心沉降法,
现已很少使用

蛋白质（酶）样品的纯度鉴定

- 蛋白质和酶制成品纯度的鉴定最常用的方法主要有：
 - SDS-PAGE电泳
 - 等电聚焦电泳IEF（或2维双向凝胶电泳）
 - 高效液相色谱HPLC
 - N-末端氨基酸残基的分析鉴定
 - 质谱法鉴定制成品中的蛋白质组成

核酸样品的纯度鉴定

- 通常采用琼脂糖凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳。
- 紫外吸收法：测 A_{260}/A_{280} 光吸收比值，可鉴定核酸样品的纯度。
RNA样品： $A_{260}/A_{280} \approx 2$ 以上；DNA样品： $A_{260}/A_{280} \approx 1.8$ 左右
- ✓ 若DNA样品的 $A_{260}/A_{280} > 1.8$ ，说明样品中仍存在RNA，可以考虑用RNA酶处理样品
- ✓ 若DNA样品的 $A_{260}/A_{280} < 1.8$ ，说明样品中含有蛋白质或酚，可再用酚/氯仿抽提，以乙醇沉淀纯化DNA。