

生物化学实验

生物大分子制备技术

2.7生物大分子样品的保存

北京大学王青松胡晓倩

生物大分子样品的保存

- 生物大分子样品的正确保存极为重要。保存不当会导致样品的失活、变性或变质,使得全部的分离纯化工作化为乌有,损失惨重。
- 通常情况下,生物大分子样品须保存在低温、避光的条件下。
- 根据实验研究的需要,可分装保存,避免反复冻融。

影响生物大分子样品保存的因素

- 温度 每种生物大分子都有其稳定的温度范围,温度升高10℃,氧化反应约加快数倍,酶促反应增加1~3倍。因此绝大多数生物大分子都在低温下保存,以抑制氧化、水解等化学反应和微生物的生成。
- 空气空气的影响主要是潮解、微生物污染和自动氧化,使生物大分子样品变性失活。
- 水分包括样品本身所带的水份和由空气中吸收的水份。水可以参加水解、酶解、水合和加合等反应,加速生物大分子样品的氧化、聚合、离解和霉变。

影响生物大分子样品保存的因素

- 光线 某些生物大分子可以吸收一定波长的光,使分子活化不利于样品保存,尤其日光中的 紫外线能量大,对生物大分子制品影响最大。因此样品通常都要避光保存。
- 样品的pH值 保存液态样品需注意其稳定的pH范围,且保存液态样品的缓冲剂的种类和浓度也十分重要。
- 保存时间 生物大分子样品不可能永久保持活性,不同的样品有其不同的有效期。保存的样品必须写明日期,定期检查。

蛋白质 (酶) 的保存

● 低温下保存:

多数蛋白质和酶对热敏感,通常35°C以上就会失活。4°C冷藏一般只能保存1周左右。蛋白质和酶越纯越不稳定,通常要保存于-20°C,能保存在-70°C最理想。

- 制成冻干粉保存:蛋白质和酶固态比在溶液中要稳定的多,将冻干粉放在干燥剂中可长期保存。
- 加入保护剂保存: 惰性的生化或有机物质/中性盐/巯基试剂有助于蛋白质的稳定和长期保存。

▶ 样品分装保存:

蛋白质 (酶) 样品反复冻融极易变性失活,尽量分装成小管,高浓度保存,使用时取出稀释成工作浓度即可。