

2011年药物分析辅导：酶的纯化 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

[https://www.100test.com/kao\\_ti2020/647/2021\\_2022\\_2011\\_E5\\_B9\\_B4\\_E8\\_8D\\_AF\\_c23\\_647957.htm](https://www.100test.com/kao_ti2020/647/2021_2022_2011_E5_B9_B4_E8_8D_AF_c23_647957.htm) 一个典型的酶纯化过程常包括多个单元操作，各单元操作如何串联，需靠实践摸索。酶是蛋白质，因此凡用于蛋白质的纯化手段均适用于酶的纯化，如盐析法、聚乙二醇沉淀法、有机溶剂分级沉淀法、等电点法、选择性沉淀法、各种柱层析法（吸附层析、离子交换层析、凝胶过滤）、各种电泳法及亲和层析等。不同之处是酶的纯化过程尚需选用迅速简便的活力测定方法，以追踪酶的去向。在选用酶的活力测定方法时，分析方法的迅速要比其精确度更为重要。如宁可要一个需时5min，准确度为5%的方法；也不要一个需时30min，准确度为0.5%的方法。在建立活力测定法之后，再根据各单元纯化步骤及活力分布情况用列表形式表达，表的内容包括：操作步骤、总体积、酶浓度（每毫升酶活力）、总活力、蛋白质浓度mg/ml）、比活力（即纯度、酶活力单位/毫克蛋白）、产率%（每步总活力除以第一步的总活力）和纯化倍数（每步比活力除以第一步比活力）。一个典型的酶纯化过程常包括多个单元操作，各单元操作如何串联，需靠实践摸索。每经过一个步骤一般可提高酶纯度2—3倍，总纯度可提高数千倍，而总产率常仅百分之几或十几。总的原则是选用最少的步骤而能取得最好的纯化效果、因为增加步骤势必增加酶的丢失。通常对于含盐浓度高的粗提取液一般不宜采用吸附法而多用盐析法；对于低离子强度的酶溶液则可用吸附法或离子交换法。交替使用不同分级沉淀法常比单独重复同一类型方法更能奏效。所以常将

吸附法、盐析法和有机溶剂分级沉淀法串联起来进行纯化。当这些方法仍达不到要求时，还可以采用一些包括电泳、层析法在内的其他类型纯化方法。当酶达到一定纯度时，便可以进行结晶，结晶也是纯化酶的有效手段之一。但应注意的是药用酶有些并不需要结晶。酶的第一次结晶纯度有时仍低于50%。酶的结晶通常可以在较纯的酶液中添加硫酸铵、氯化钠等盐达到一定饱和度，使酶慢慢结晶出来。此时必须控制温度和pH值。盐浓度要逐渐提高，添加速度要慢，才能得到较好的结晶。有时在低温下，用丙酮、乙醇等有机溶剂进行结晶。近年来采用平衡透析法，即将酶液装入透析袋中，置于一定饱和度的盐溶液中进行透析，这种操作可以获得大量结晶。更多信息请访问：[#0000ff>执业药师课程免费试听](#)  
[#0000ff>执业药师互动交流](#) [#0000ff>执业药师在线测试模拟题](#)  
[red>2011年执业药师药专业知识一基础习题汇总](#) 特别推荐：  
[#0000ff>2011年执业药师考试报名时间](#) [#0000ff>2011年执业药师考试大纲新变化](#) [#0000ff>2011年执业药师资格考试时间及科目](#) [#0000ff>2011年执业药师考试大纲](#) 相关推荐：  
[#0000ff>2011年药物分析辅导：醇类药物的分析](#) [#0000ff>2011年药物分析辅导：水杨酸类药物的分析](#) 100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问 [www.100test.com](http://www.100test.com)