

# 蛋白质的浓缩方法

目前蛋白浓缩方法基本主要有以下几种：

## 1. 透析袋浓缩法

利用透析袋浓缩蛋白质溶液是应用最广的一种。将要浓缩的蛋白溶液放入透析袋（无透析袋可用玻璃纸代替），结扎，把高分子（6 000—12 000）聚合物如聚乙二醇（碳蜡）、聚乙烯吡咯、烷酮等或蔗糖撒在透析袋外即可。也可将吸水剂配成 30%—40%浓度的溶液，将装有蛋白液的透析袋放入即可。吸水剂用过后，可放入温箱中烘干或自然干燥后，仍可再用。主要用于更换蛋白质的缓冲液，有透析袋即可，不需要特殊的仪器。

## 2. 冷冻干燥浓缩法

这是浓缩蛋白质的一种较好的办法，它既使蛋白质不易变性，又保持蛋白质中固有的成分。它是在冰冻状态下直接升华去除水分。具体做法是将蛋白液在低温下冰冻，然后移置干燥器内（干燥器内装有干燥剂，如 NaOH、CaCl<sub>2</sub> 和硅胶等）。密闭，迅速抽空，并维持在抽空状态。数小时后即可获得含有蛋白的干燥粉末。干燥后的蛋白质保存方便，应用时可配成任意浓度使用。也可采用冻干机进行冷冻干燥。

在冷冻状态下让扬品种的液体升华

## 3. 吹干浓缩法

将蛋白溶液装入透析袋内，放在电风扇下吹。此法简单，但速度慢，且温度不能过高，最好不要超过 15℃。

## 4. 超滤膜浓缩法

此法是利用微孔纤维素膜通过高压将水分滤出，而蛋白质存留于膜上达到浓缩目的。有两种方法进行浓缩：一种是用醋酸纤维素膜装入高压过滤器内，在不断搅拌之下过滤；另一种是将蛋白液装入透析袋内置于真空干燥器的通风口上，负压抽气，而使袋内液体渗出。

主要针对小体积蛋白质溶液（几 ml）此法更不易引起变性，不过得有浓缩器，不是哪个实验室都有的。

## 5. 凝胶浓缩法

选用孔径较小的凝胶，如 SephadexG25 或 G50，将凝胶直接加入蛋白溶液中。根据干胶的吸水量和蛋白液需浓缩的倍数而称取所需的干胶量。放入冰箱内，凝胶粒子吸水后，通过离心除去。

## 6. 浓缩胶浓缩法

浓缩胶是一种高分子网状结构的有机聚合物，具有很强的吸水性能。每克干胶可吸水 120ml~150ml。它能吸收低分子量的物质，如水、葡萄糖、蔗糖、无机盐等，适宜浓缩 10000 分子量以上的生物大分子物质。浓缩后，蛋白质的回收率可达 80%~90%。比凝胶应用方便，直接加入被浓缩的溶液中即可。必须注意，浓缩溶液的 pH 值应大于被浓缩物质的等电点，否则在浓缩胶表面产生阳离子交换，影响浓缩物质的回收率。

#### 7. 丙酮沉淀法：

试验要求的仪器简单，但是常常导致蛋白质变性。

#### 8. 免疫沉淀法：

通过免疫沉淀法，用蛋白质特异性能够定量能够分离目的蛋白。有三个步骤组成：首先将特异性抗体加入细胞提取物，第二步加入经化学固定的金黄色葡萄球菌，以确保形成大量沉淀。这些细菌通过蛋白质 A 和抗体形成复合物，蛋白质 A 与免疫球蛋白的 Fc 部分有高度的亲和性。或者说，纯化的蛋白 A 结合 Sepharose 树脂，为从细胞提取物中分离出抗原抗体复合物，提供一个固体基质。最后通过洗脱，除去尚未沉淀的杂质。

为了除去已破碎的或固定差的细胞，在用于免疫沉淀（作用）之前可以与纤细地金黄色葡萄球菌细胞，如果要用蛋白质 A Sepharose 树脂,参考厂家说明书。

#### 9. 硫酸铵沉淀法：

利用高浓度盐将蛋白质析出（盐析），选择硫酸铵是因为：盐析有效性，pH 范围广，溶解度高，溶液散热少，经济。

#### 10. (低温)有机溶剂沉淀法：

强调低温（0-4 度以下）是因为 10 度时蛋白会在有机溶剂中变性，可用乙醇，丙酮等。注意：Mg<sup>2+</sup>离子，pH 值。

#### 11. 聚乙二醇（PEG）沉淀法：

PEG 是一个水溶性非离子多聚体，使用 PEG 时旨在个别情况下才会是蛋白质稍有变性！他溶解是散热低，形成沉淀的平衡时间短，通常达到 30%时蛋白质就会达到最大量的沉淀。