



关于课题血红蛋白 的提取和分离



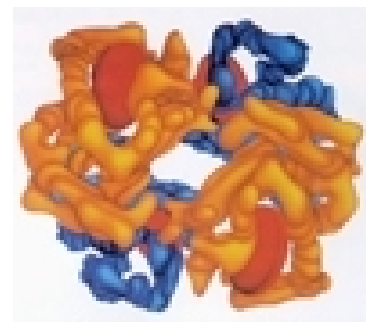
提问

研究“TRIM5”蛋白质的第一步是什么？



回答

分离和提纯TRIM5蛋白质。





如何分离和提纯蛋白质？



根据蛋白质各种特性的差异，如**分子**的形状和大小、**所带电荷的性质和多少**、**溶解度**、**吸附的性质**、**对其他分子的亲和力**等等，可以用来分离不同蛋白质。

专题五 DNA和蛋白质技术

课题3

血红蛋白的提取和分离



教学目标



知识目标

- 1.了解色谱法、电泳法等分离生物大分子的基本原理。
- 2.掌握蛋白质提取的基本概念。

能力目标

- 1.学习对血液中蛋白质提取和分离的方法。
- 2.掌握从复杂提取中提取生物大分子的基本过程和方法。



过程与方法

本实验采取实验与课本相结合的方法，在实验中掌握分离大分子物质的基本方法。

情感态度与价值观

- 1.发挥学生主观能动性。
- 2.激发学生学习兴趣，培养学会僧创新能力。



教学重难点



课题重点

凝胶色谱法的原理和方法。



课题难点

- 1.样品的预处理。
- 2.色谱柱填料的处理。
- 3.色谱柱的装填。



内容解析



基础知识

缓冲溶液

概念：在一定的范围内，能对抗外来少量强酸、强碱或稍加稀释不引起溶液PH发生明显变化的作用叫做**缓冲作用**，具有缓冲作用的溶液叫做**缓冲溶液**。





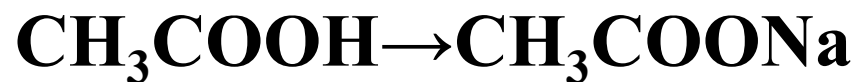
思考：说出说出几种常见的缓冲对



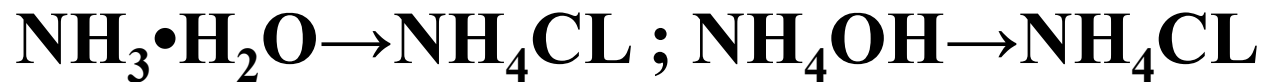
缓冲溶液由共轭酸碱对组成。这一共轭酸碱通常称为**缓冲对**、**缓冲剂**或**缓冲系**。常见的缓冲对主要有三种类型。



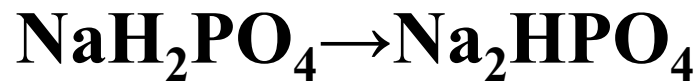
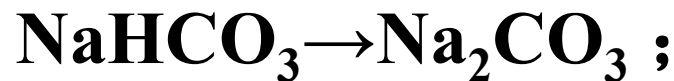
弱酸及其对应的盐:



弱碱及其对应的盐:



多元弱酸的酸式盐及其对应的次级盐:





缓冲溶液的配制

缓冲溶液通常由1~2种
缓冲剂溶解于水中配制而成。



调节缓冲剂的使用比例
就可以制得在不同PH范围内
使用的缓冲液。



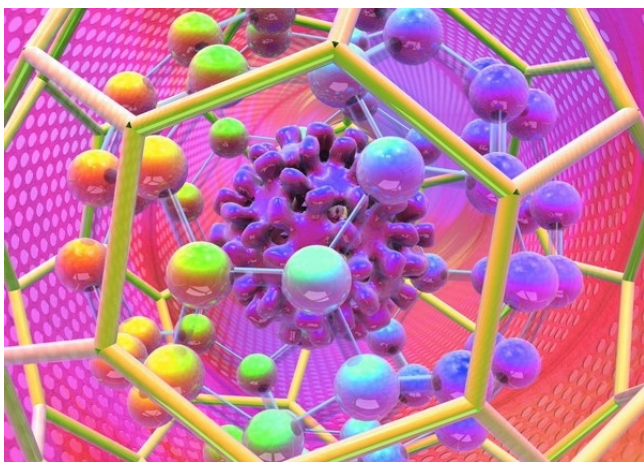
利用缓冲液模拟细胞内
的PH环境，保证血红蛋白的
正常结构和功能，便于观察
和科学研究。



凝胶色谱法

什么是**凝胶**？

凝胶是一些多糖类构成的内含许多贯穿的通道 的微小多孔的球体。





凝胶色谱法的原理

相对分子量较小的蛋白质容易进入凝胶内部的通道，在凝胶的外部移动，路程较长，移动速度较慢。



相对分子量较大的蛋白质无法进入凝胶内部的通道，只能在凝胶外部移动，路程较短，移动速度较快。





电泳

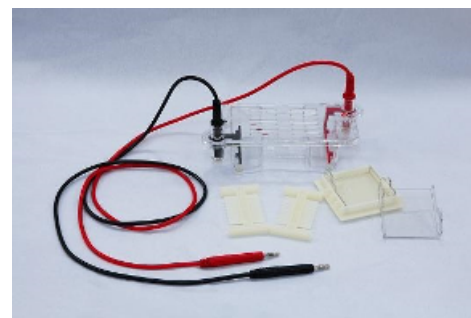
概念 带电粒子在电场作用下发生迁移的过程。



分类

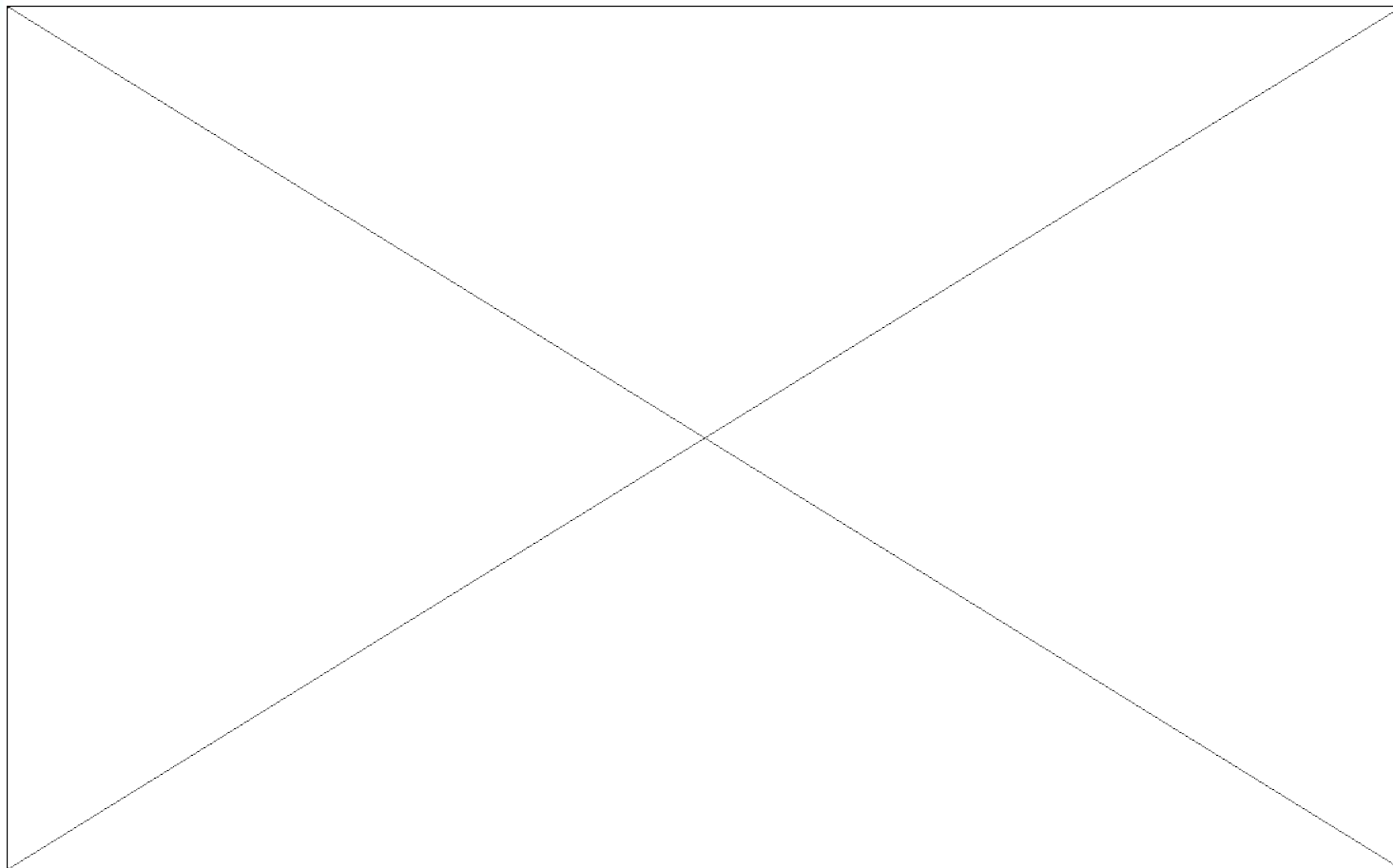
琼脂糖凝胶电泳

聚丙烯酰胺凝胶电泳





视频:



电泳的原理



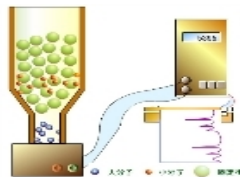
试验设计

实验材料

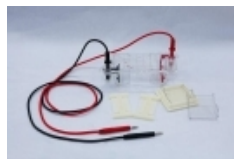
动物血液



凝胶色谱柱



电泳装置



化学试剂



缓冲溶液



离心机

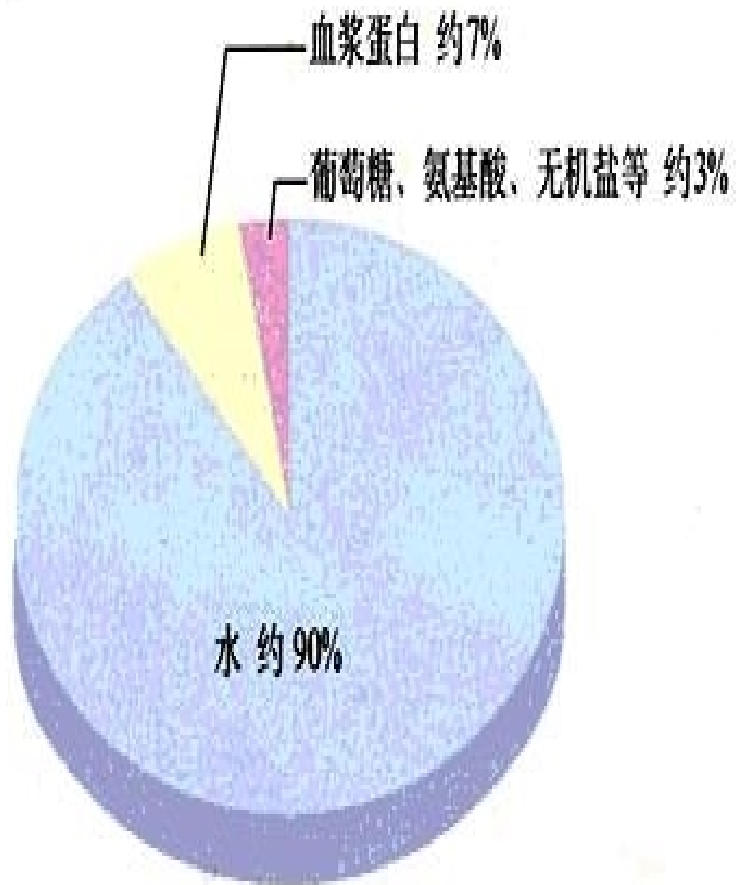




实验操作

1. 样品处理

血液的组成





1.1 红细胞的洗涤:

离心将血液分层 → 用胶头吸管吸出黄色血浆 → 用生理盐水洗涤。



洗涤前



洗涤后



1.2 血红蛋白的释放:



在蒸馏水和甲苯作用下，红细胞破裂释放。

1.3 分离血红蛋白溶液:



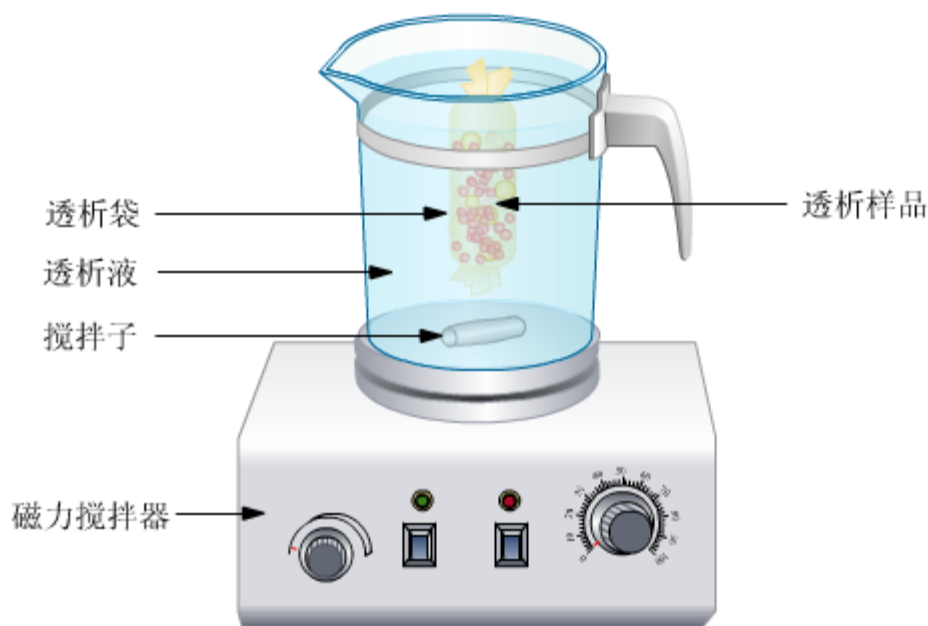
离心分层；滤纸过滤去除脂溶性沉淀层；分液漏斗分出红色透明液体。



透析过程

1.4 透析:

装入透析袋并置于磷酸缓冲液中
(PH为7.0) 透析。

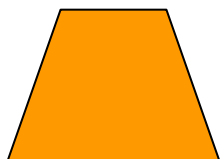


◀ 重演 ◻ 停止 ◀ 上一步 ▶ 演示

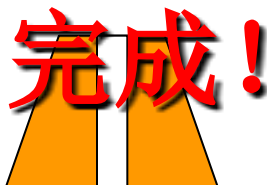


2. 凝胶色谱操作

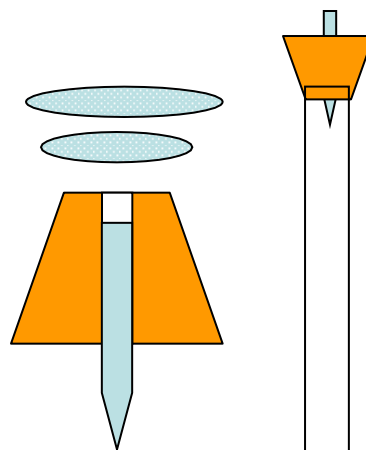
2.1 凝胶色谱柱的制作



取胶皮盖



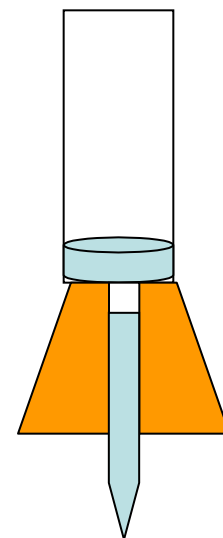
打孔



安装玻璃管

安装尼龙网

安装100目尼龙纱



组装





2.2 凝胶色谱柱的装填

材料：交联葡聚糖凝胶（G-75）

装填方法：

A、固定：将色谱柱装置固定在支架上

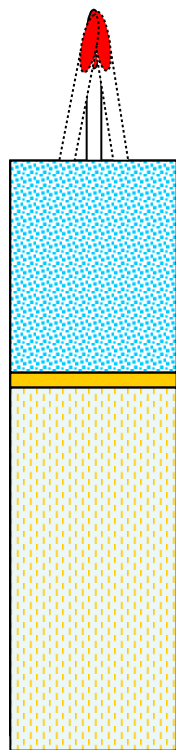
B、装填：将凝胶悬浮液一次性的装填入色谱柱内

C、洗涤平衡：装填完毕后，用磷酸缓冲液充分洗涤平衡12小时





2.3 样品的加样和洗脱



- A、调节缓冲液面
- B、滴加透析样品
- C、样品渗入凝胶床
- D、洗脱



E、收集

待红色的蛋白质接近色谱柱底端时，用试管收集流出液，每5ml收集一试管，连续收集。

实验结果



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/576024023112010155>