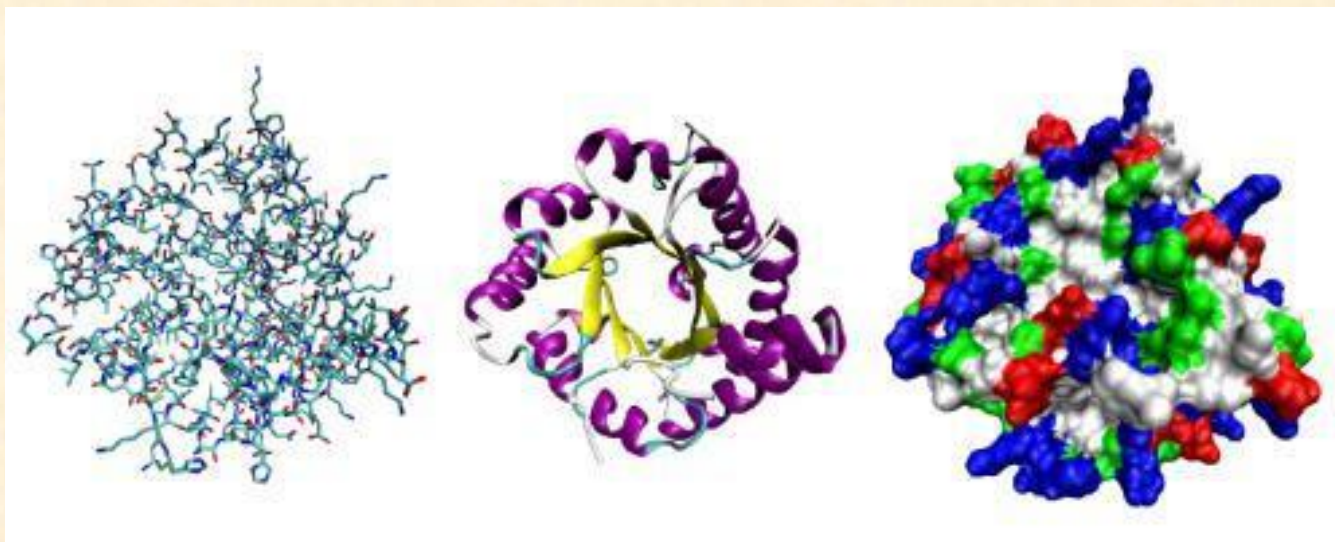


生物化学实验技术

实验五 蛋白质的盐析沉淀及 变性反应

一、实验目的

1. 加深对蛋白质胶体溶液稳定因素的认识
2. 熟悉沉淀蛋白质的几种方法及其实用意义
3. 掌握蛋白质变性与沉淀的关系



二、实验原理

- ❶ 在水溶液中蛋白质分子由于表面生成水化层和双电层而成为稳定的亲水胶体颗粒，在一定因素影响下，蛋白质颗粒可因失去电荷和脱水而沉淀。
- ❷ 蛋白质的沉淀反应分为两类：可逆沉淀反应和不可逆沉淀反应
- ❸ 蛋白质变性后，有时由于维持溶液稳定的条件仍然存在(如电荷)，并不析出。
- ❹ 在蛋白质溶液中加入适量无机盐(硫酸铵等)蛋白质析出，降低盐浓度时又再溶解。盐浓度不同，析出的蛋白质不同。

三、实验仪器和实验用品

1. 实验材料

5% 鸡蛋清水溶液（新鲜鸡蛋清：水=1：5）

2. 实验仪器

电子天平、玻璃试管、滴管、移液管

3. 实验试剂

(1) pH值4.7的醋酸—醋酸钠缓冲溶液

(2) 3% 醋酸铅溶液

(3) 10% 三氯乙酸溶液 （5-10%都可）

3. 实验试剂

(4) 95 % 乙醇

(5) 饱和硫酸铵溶液

(6) 硫酸铵结晶粉末

(7) 0.1mol / L 盐酸溶液

(8) 0.1mol / L 氢氧化钠溶液

(9) 0.1mol / L 碳酸钠溶液

(10) 0.1mol / L 醋酸溶液

(11) 甲基红溶液。

(12) 2 % 氯化钡溶液

四、操作方法

1. 蛋白质的盐析

- (1) 试管中加5%蛋清水溶液5mL，再加等量的饱和硫酸铵溶液，混合静置析出球蛋白。
- (2) 倒出少量沉淀，加少量水，观察。
- (3) 过滤沉淀，向滤液中添加硫酸铵粉末到形成饱和溶液，析出清蛋白。
- (4) 取出部分清蛋白，加少量蒸馏水，观察。

2. 重金属离子沉淀蛋白质

- (1) 试管中加入5%蛋清水溶液2mL，再加3%醋酸铅溶液1~2滴，振荡试管，立刻产生沉淀。
- (2) 放置片刻倾出上清液，向沉淀中加入少量水，观察。

3. 有机酸沉淀蛋白质

- (1) 试管中加入5%蛋清水溶液2mL，10%三氯乙酸溶液1mL，振荡，观察。
- (2) 放置片刻，倾出上清液，向沉淀中加入少量水，观察。

4. 有机溶剂沉淀蛋白质

试管中加入5%蛋清水溶液2mL，再加入95%乙醇2mL。混匀，观察。

5. 乙醇引起的变性与沉淀

- (1) 取3支试管编号，依表5-1顺序加入试剂，振荡混匀，观察。
- (2) 放置片刻后，向各管内加水8mL，2、3号管中各加1滴甲基红，再分别用0.1mol / L醋酸溶液及0.1mol / L碳酸钠溶液中和，观察。
- (3) 每管再加0.1mol / L盐酸溶液数滴，观察。

表5-1 乙醇引起的蛋白质变性与沉淀操作

管号	5%蛋清水 溶液 /mL	0.1mol/L NaOH/ mL	0.1mol/L HCl/ mL	95%乙 醇/mL	醋酸缓冲溶 液 (pH4.7) /mL
1	1	—	—	1	1
2	1	1	—	1	—
3	1	—	1	1	—

五、实验结果和讨论

将实验结果列入表格，并写实验报告。

六、作业

1. 蛋白质盐析实验中，被硫酸铵析出的卵清蛋白，再加入蒸馏水后沉淀是否溶解？为什么？
2. 被醋酸铅沉淀的蛋白质，在加入少量水后，沉淀是否溶解？为什么？
3. 被三氯乙酸沉淀的蛋白质，在加入少量水后，沉淀是否溶解？为什么？
4. 请解释乙醇引起的变性与沉淀实验中各管发生的全部现象。