

重组蛋白 分离与分析

范代娣 沈立新 米 钰 编著 •



化学工业出版社

重组蛋白分离与分析

范代娣 沈立新 米 钰 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

重组蛋白分离与分析/范代娣, 沈立新, 米钰编著.
北京: 化学工业出版社, 2004.7
ISBN 7-5025-5846-2

I. 重… II. ①范…②沈…③米… III. ①重组-蛋白质-分离②重组-蛋白质-分析 IV. TQ937

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 077317 号

重组蛋白分离与分析

范代娣 沈立新 米钰 编著

责任编辑: 王秀鸾

责任校对: 李 林 靳 荣

封面设计: 蒋艳君

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 850mm×1168mm 1/32 印张 9 字数 240 千字

2004 年 9 月第 1 版 2004 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5846-2/Q·107

定 价: 28.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

在当今科技飞速发展的时代，生物工程已成为世人关注的热点，生物工程领域的发展直接带动了相关学科及研究领域的发展，重组蛋白质工程便是生物工程快速发展产生的一门新兴学科。

重组蛋白质工程是基因工程技术在定点诱变技术获得突破后产生的被称为第二代基因工程的技术，由于蛋白质结构的特殊性，对天然结构的蛋白质进行改性比较困难，而通过基因工程技术生产新型结构的蛋白质比较容易，正是由于基因工程定点诱变技术获得突破，才使得重组蛋白质工程的发展有了质的飞跃，重组蛋白质可为生物医学材料领域、医学领域、新药物、化工原料、航空航天、化妆、美容、食品等行业提供性能优良的物质。但是，目前，对于重组蛋白类的分析鉴定和分离技术研究得还很不完善，需要众多的科学家的研究经验和研究方法的不断改进。

本书结合我们在实际研究中摸索出的分析和分离方法，详细介绍了重组蛋白质的不同性质和不同的分离提取技术，介绍了大规模工业化过程中蛋白质的分离技术，包涵体内蛋白质的分离技术、分泌型蛋白质的分离纯化技术、细胞内蛋白质的分离纯化技术、利用蛋白质工程技术对重组蛋白进行修饰等，并对比了各种分离、分析方法之间的优缺点。

鉴于作者在科研、教学的积累，既愿呈献给各界读者，又期望与同行交流，更盼从前辈处多获教益，遂不避个中之嫌，欣然命笔，有不妥之处，在所难免，敬请赐教。

编者

2004年6月

目 录

第 1 章 重组蛋白分离与分析概论	1
1.1 重组蛋白质概论	1
1.2 重组蛋白质的设计及纯化技巧	2
1.3 纯化目标	5
1.3.1 产品的纯度和安全性	5
1.3.2 终产物成本	5
1.4 纯化策略	6
1.5 纯化过程的放大	7
1.6 对纯化的综合评价	8
1.7 合理设计纯化工艺	8
主要参考文献	11
第 2 章 重组蛋白纯化的一般工艺及方法	14
2.1 引言	14
2.2 用做纯化的主要蛋白质性质	14
2.2.1 蛋白质大小	15
2.2.2 蛋白质形状	15
2.2.3 蛋白质荷电性	15
2.2.4 蛋白质等电点	16
2.2.5 蛋白质疏水性	16
2.2.6 蛋白质溶解度	16
2.2.7 蛋白质密度	16
2.2.8 蛋白质与配体结合能力	16
2.2.9 蛋白质与金属螯合能力	16
2.2.10 蛋白质的某些特殊性质	17
2.3 纯化分离技术	18
2.3.1 发酵液的预处理	18

2.3.2 细胞分离技术	20
2.3.3 细胞破碎技术	24
2.3.4 生物物质的分离纯化技术	24
2.4 纯化方案中纯化顺序的选择	76
2.5 固定相的选择	77
2.6 方案的有效性分析	78
主要参考文献	79
第3章 细胞破碎的物理及化学方法	81
3.1 前言	81
3.2 破碎率的评价	81
3.3 破碎方法	82
3.3.1 球磨匀浆法	83
3.3.2 转子-定子式匀浆机匀浆	87
3.3.3 高压匀浆机匀浆	90
3.3.4 超声波破碎	94
3.3.5 其他物理方法	95
3.3.6 细胞自溶	98
3.3.7 酶解法	101
3.3.8 干燥法	102
3.3.9 其他化学溶剂法	103
3.3.10 细胞渗透法	103
3.3.11 通过细胞自身调控体系进行细胞的破碎	104
3.4 总结	104
主要参考文献	106
第4章 纯化过程中如何防止蛋白水解	108
4.1 天然及变性蛋白的水解	108
4.1.1 蛋白酶的生化作用	108
4.1.2 蛋白酶的种类和蛋白酶的作用机理	109
4.1.3 蛋白酶的特异性及对降解底物的敏感性	110
4.2 用作宿主细胞的真核、原核生物体内的蛋白酶	111
4.2.1 大肠杆菌 (<i>E. coli</i>) 内的蛋白酶	111
4.2.2 枯草杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) 产生的蛋白酶	112
4.2.3 酵母中的蛋白酶	113

4.2.4 哺乳动物细胞内的蛋白酶	115
4.3 蛋白酶的鉴定	116
4.4 防止重组蛋白水解的策略	117
4.4.1 基因调控法	118
4.4.2 去除蛋白酶的策略	121
4.4.3 抑制蛋白酶的策略	122
主要参考文献	125
第5章 从重组蛋白质中除去 N 末端甲硫氨酸的方法	127
5.1 引言	127
5.1.1 蛋白质转译后的修饰及鉴定分析	127
5.1.2 甲硫氨酸氨基肽酶的特性	131
5.1.3 胞质间重组蛋白的加工	131
5.1.4 与多余甲硫氨酸相关的非均匀性和免疫原性	132
5.2 去除末端甲硫氨酸的方法	133
5.2.1 体内去除末端甲硫氨酸的方法	133
5.2.2 去除末端甲硫氨酸的体外方法	135
主要参考文献	137
第6章 药用蛋白质的纯化	141
6.1 引言	141
6.2 蛋白质纯化过程中的质量控制	142
6.2.1 蛋白质生物功效	142
6.2.2 蛋白质结构	143
6.2.3 蛋白质纯度的测定	143
6.2.4 终产品中痕量杂质的分析	143
6.3 蛋白质纯化准则	143
6.3.1 初始原料物质的浓度和杂质性质	144
6.3.2 非蛋白杂质的去除	145
6.3.3 DNA 的去除	145
6.3.4 热源的去除	147
6.3.5 病毒的去 除	149
6.3.6 外源蛋白的去除	150
6.4 方案的有效性	151
6.5 结论	152

主要参考文献	153
第7章 利用工程修饰改进重组蛋白的纯化分离	157
7.1 引言	157
7.2 引入切割位点的重组工程蛋白	158
7.3 促进活性蛋白分离的工程技术	159
7.3.1 形成包涵体以稳定蛋白质	160
7.3.2 基团修饰以利天然活性蛋白质生产	162
7.4 简化纯化工艺的蛋白质工程	163
7.4.1 改进色谱性能的蛋白质工程	164
7.4.2 构建工程位点使蛋白质具有免疫亲和性能	164
7.4.3 构建工程位点使蛋白质具有离子交换吸附性能	166
7.4.4 构建工程位点使蛋白质具有金属亲和吸附性能	168
7.4.5 低成本纯化蛋白工程	171
7.4.6 改进分析方法的蛋白质工程	171
7.5 结论	172
主要参考文献	173
第8章 大肠杆菌表达的重组蛋白的分离纯化	175
8.1 引言	175
8.2 大肠杆菌表达的分泌型重组蛋白的纯化分离	178
8.2.1 纯化方法	179
8.2.2 实例	180
8.2.3 分泌型重组蛋白的纯化分离总结	199
8.3 大肠杆菌表达的包涵体蛋白的纯化分离	200
8.3.1 确定包涵体量	201
8.3.2 重组蛋白稳定性检测	204
8.3.3 纯化方案	206
8.3.4 包涵体的组成分析	210
8.3.5 包涵体的结构	214
8.3.6 影响包涵体形成的因素	214
8.3.7 包涵体蛋白纯化实例	216
8.3.8 包涵体蛋白纯化总结	221
主要参考文献	221
第9章 酵母表达的重组蛋白的分离纯化	225

9.1 引论	225
9.2 酿酒酵母或面包酵母表达的重组蛋白的分离纯化	227
9.2.1 酿酒酵母或面包酵母表达的胞内蛋白质的分离纯化	228
9.2.2 酿酒酵母或面包酵母分泌表达的蛋白质的分离纯化	232
9.2.3 结论	234
9.2.4 酿酒酵母或面包酵母表达的重组蛋白的研究展望	235
9.3 <i>Pichia pastoris</i> 生产的重组蛋白的分离纯化	235
9.3.1 背景	235
9.3.2 <i>Pichia pastoris</i> 表达体系的发展	236
9.3.3 <i>P. pastoris</i> 表达的胞内外源蛋白	239
9.3.4 <i>Pichia pastoris</i> 分泌的外源蛋白的分离纯化	242
9.3.5 讨论	248
主要参考文献	249
第10章 单克隆抗体的纯化	252
10.1 引言	252
10.2 单克隆抗体制备过程	253
10.3 抗体的物理特征	257
10.4 单克隆抗体纯化工艺	258
10.4.1 澄清	258
10.4.2 沉淀	260
10.4.3 分离	260
10.4.4 非蛋白杂质的去除	271
附录 鼠源性病毒检测	273
主要参考文献	274

第 1 章 重组蛋白分离与分析概论

1.1 重组蛋白质概论

重组蛋白质是一种由原核细胞、真核细胞、昆虫细胞、动物细胞等表达的外源蛋白质。克隆基因表达出所编码的蛋白质可供作结构与功能的研究，具有特定生物活性的蛋白质在医学领域、工业领域等都是很有应用价值的，克隆基因可以放在不同的宿主细胞中表达，可用大肠杆菌、枯草杆菌、酵母、昆虫细胞、哺乳类动物细胞、乃至整体动物。对不同的表达系统，需要构建不同的表达载体。克隆基因在不同的系统中表达成功的把握性，取决于对这些系统中基因表达调控规律的认识程度。

动物细胞表达的外源蛋白质最接近天然构想，是生物制药最理想的表达系统。然而，在规模化培养中动物细胞常常会面临对无血清培养基的适应性差，细胞无限度增殖以及细胞凋亡等难题。培养基成本昂贵，培养环境要求苛刻，工业化生产困难重重。相对来说原核细胞表达体系生产周期短、成本低廉，因此相对发展快，但是原核细胞表达体系纯化工艺相对要求严格，原核细胞表达体系研究最多的仍是大肠杆菌体系，真核细胞表达体系主要有酵母表达体系、动物细胞表达体系主要以 CHO、BHK 和杂交瘤细胞生产的外源蛋白质为主，这些将在后面的章节中仔细论述。

由于重组 DNA 技术的出现为制造新型蛋白质创造了条件，通过该手段可获得许多自然界中没有发现的新型结构的蛋白质，同时也可以通过以上手段生产自然界难以获得的结构明晰和功能清楚的

蛋白质，为蛋白质工程的发展奠定了基础，同时为功能蛋白质造福于人类提供了大量的参考信息，例如：产生了大量的蛋白质序列信息，这是通过传统的蛋白质化学知识不可能获得的。实际上，获取这个信息也是非常困难的，因为基本的结构信息仍然被锁在一个没有被破解并且显然是无法破解的密码中。人们可以通过已知蛋白质识别新序列蛋白质，并以此推断新蛋白质的功能和它们与已知蛋白质的相关性。但是最初人们无法知道一个新的蛋白质分子是如何折叠的，不能确定基本结构信息通过何种机制转化为具有精确三维结构的生物分子，后来随技术的发展人们通过 X 光进行晶体结构分析，可以明晰蛋白质的三维结构，然后利用已有的相关知识发展常规的蛋白质精确折叠规则的知识。

由于蛋白质的结构和功能是建立在大量实验的基础上的科学，因此必须生产大量蛋白质，用重组方法可获得易于在培养基中生长但在异种细胞株中表达量很少的蛋白质，进而获得其稀有信息。分子生物学的新方法并非是蛋白质分析科学的终结，相反，为蛋白质化学提供了机遇和挑战。原则上，存在大规模生产任何蛋白质的可能的方法，这些方法足够进行最准确的结构和功能分析。

事实上，机遇和挑战来同时存在，从鉴别新型蛋白质到选择合适的表达载体或宿主，从分析、纯化、定性重组产物到设计不稳定的衍生物以明确蛋白质结构和功能的关系，都存在着成功和失败两种可能。蛋白质化学家和分子生物学家应该紧密合作以解决“蛋白质结构和功能关系”这个难题。这种协作已经在制药领域生产出具有新效用的药剂，如何进行工业化生产重组蛋白仍然是科学家面临的难题，为了获得以上目的，必须要了解重组蛋白纯化过程中的相关宏观及微观信息，并且要取得合理的、具有经济效益的、易于产业化实施的重组蛋白的分离纯化工艺。

1.2 重组蛋白质的设计及纯化技巧

重组蛋白的分离纯化是通过 DNA 技术生产重组蛋白的重要步

骤，依据重组蛋白的性质选择合适的生化分离手段，是以合理的效率、速度、收率和纯度从细胞的全部其他成分特别是不想要的杂蛋白中分离纯化出来的关键。与一般的天然蛋白相比重组蛋白有其特定的结构特性和生物特性，因此，重组蛋白的纯化与一般天然蛋白的纯化相比有其自身的特性，必须针对重组蛋白的分子特性，应用生化分离技术的理论基础及特性进行重组蛋白质的分离。

首先，重组蛋白的纯化与分离天然蛋白相比要相对简单和容易，尤其在细菌或酵母表达体系表达的重组蛋白含量比杂蛋白含量相对高的情况尤为如此；其次，采用分泌型细胞生产的重组产物被分泌至培养液中，大大减少了被宿主细胞胞内蛋白污染的几率和程度简化了分离纯化的程序；再次，将重组蛋白表达于不同种类的细胞中，重组蛋白分离纯化的策略与从天然组织中分离提取天然蛋白全然不同；最后大肠杆菌表达体系、动物细胞表达体系、酵母表达体系表达同一重组蛋白纯化方案也会各不相同，例如：在大肠杆菌表达体系会引起 N 末端甲硫氨酸修饰，而动物细胞和酵母细胞表达的蛋白质会因糖基化作用可能打乱设计好的重组蛋白纯化方案。因此，对于不同的表达系统设计不同的易于纯化的方案至关重要。

对于动物细胞来说，利用它的糖基化作用对于设计新型重组蛋白和寻找新型药用糖蛋白有非常重要的意义。在选择哺乳动物细胞作为宿主时，细胞蛋白的糖基化形式非常关键。不同细胞各自的糖基转移酶活性不同，因此合成糖链的结构不同，产生不均一的糖蛋白，糖链影响糖蛋白的药理活性，生理生化特性（溶解性、稳定性、折叠和分泌）及药代动力学（半衰期、靶向性、免疫原性和抗原性）。其表现为糖基化的特定氨基酸残基的百分率，N 连接寡糖的高甘露糖和复杂的糖链形式，末端糖残基数，N 羟乙酰神经氨酸（N-acetylglucosamine, GlcNAc）的切割位点，糖链与糖链的连接方式，寡糖链末端唾液酸化百分率等不均一。采用基因工程方法改变细胞的糖链合成能力，或者在宿主细胞中进行随机突变，可构建成重组蛋白糖链结构改变而药用价值增强的突变细胞株。但

是，利用基因工程方法将外源性糖基转移酶基导入哺乳动物细胞，其糖基化机制与人类组织有着显著差异，这里不做详述，只是提示我们在设计和纯化哺乳动物表达体系的重组蛋白时要充分利用它的这一性质。

对于一个将要进行的纯化系统，搞清楚被加工体系的组分（见表 1-1）、尺寸大小（见表 1-2）对确定合理的纯化步骤非常有用。

表 1-1 各种细胞内蛋白质含量及组分

细胞类型	蛋白质含量 (占细胞干重)/%	核 酸	多 糖	脂 肪	灰 分
细菌	60~70	13~34	2~10	10~15	5~7
酵母	40~55	4~10	<15	1~6	5~7
放线菌	55~60	1~3	<10	2~9	5~7
海藻类	10~60	1~5	<15	4~80	
动物细胞	<10	<50	<50	<50	5~7
植物细胞	<70	<30	<90	<80	

表 1-2 重要组分主要尺寸范围统计

物质名称	大小/nm	物质名称	大小/nm
核糖体	20~25	原子	0.1~0.2
蛋白质	5~10	支原体	100~110
脂肪	1~5	细胞碎片	400~450
病毒	30~70	线粒体	1~2 μ m
小分子	0.4~0.9		

知道了常规的宿主体系蛋白质含量的多少及各组分尺寸大小，对选择合适的下游加工工艺（蛋白质纯化工艺）非常有用，重组蛋白在细胞蛋白中的含量和在体系中的尺寸大小，直接关系着选择诸如超滤、透析等工艺膜的尺寸大小和工艺的可行性。在蛋白质纯化过程中了解了被加工体系混合物的特性尺寸、相对含量外，目标蛋白质的结构信息很重要，例如：对于同样大小分子量的蛋白质来说，球型蛋白和线型蛋白具有完全不同的结构，因此，要采取的纯化方案就完全可能不同。

大多数新的及人们感兴趣的蛋白质是自然界缺乏的，其动力

学、物化性质、生物学活性、功能及三维空间结构还有待研究，因此，可借助相应的技术生产重组蛋白进行该方面的定性研究，以设计的功能，相对了解的重组蛋白的结构与功能之间的信息去推理天然结构的蛋白质结构、功能之间的信息。从经济角度出发，当人们希望通过改善制药、工业和农业产品性能、设计和生产二代产品时，就迫切需要得到这些研究所提供的信息。重组蛋白质本身就可以用作药品，这就对与纯度和安全性相关的质量控制方面信息有严格要求。另外这些蛋白质是研究代谢调节途径及开发合理的药物设计策略的重要工具。

1.3 纯化目标

1.3.1 产品的纯度和安全性

将目标重组蛋白从含有杂蛋白、核酸、脂质、糖类、宿主细胞新陈代谢产物以及细胞培养基中分离、纯化出来是人们的最终目的，产品的纯度与蛋白质的用途有关。科学家在实验室中用作学术研究的蛋白质的纯化所要求的纯度和安全性与拟用于人体的蛋白质纯度要求重点不同。这里必须强调一点是没有百分之百纯度的蛋白质。人们都在使用适合于特定工作需要的不同纯度的蛋白质。蛋白质的纯度会随着其应用的途径而改变，当它被用作动力学、序列测定或结晶学研究或用于注射时，其纯度要求各不相同，当蛋白质被应用于临床时其纯度和安全性就显得尤为重要了。通常会出现这样一些危险因素：终产物中含有致癌作用的病毒片段或 DNA 片段，含有能导致免疫反应的杂蛋白、病毒及微生物源的高热源污染物。纯化技术旨在确保消除这些污染物，并且必须保持最大程度的精确性和重现性，因此，纯化不应该只追求纯化本身，而且应该常规考虑产品、剂量和接受治疗的人的状况等因素。

1.3.2 终产物成本

对于生产和临床都非常重要的另一个目标是终产物的成本问题。从各种杂质含量大大高于重组目标蛋白的悬浮液中分离、纯化

出符合要求的高纯度的产物是一个冗长而昂贵的过程，这是由于重组产物表达量难以大幅度提高，加上产物的稳定性及失活等方面的影响因素以及生物物质的分离、纯化方法本身比较复杂、昂贵。一般的，重组蛋白的分离纯化的成本占整个蛋白生产过程成本的80%~90%以上，因此合理的纯化步骤可大大降低目标产品的生产成本，实现大规模商业化生产。理想的纯化步骤应该为上一步骤产生的样品不需要经进一步处理就适用于下一纯化步骤，减少步骤意味着减少时间和成本，同时提高具有生物活性产物的产量。

1.4 纯化策略

蛋白质的纯化包含多种方法，如何将这些方法合理组合是蛋白质纯化的关键，该过程可以完全凭经验行事，事实上，这也是在发展和引入亲和方法之前纯化策略的惟一途径。亲和方法指使用特定的抗体或配体纯化目标蛋白质，近些年来，这种方法被越来越多地使用，普遍地促进了蛋白质的纯化过程。

在阐述纯化策略之前，首先需对整个过程的检测和定量的重要性进行说明。显然，每一纯化阶段的检测和定量方法对纯化来说十分重要。但在实际中，测定技术的发展常常滞后于纯化技术。这里，重组技术又一次显示出了优势。过去，稀有蛋白质的检测只有靠生物技术与放射技术联合检测这一种方法，而现在可以生产出可以直接进行生物化学检测数量级的蛋白质，如高血压蛋白酶。高血压蛋白酶是生成血管紧张素Ⅱ（一种有力的血管收缩药和醛固酮分泌物质）的一系列反应的起始物质。高血压蛋白酶以微克数量级存在于血浆中，对它的检测取决于对其释放出的血管紧张肽Ⅰ（高血压蛋白酶活动的产物）的放射性免疫测定，显然这种间接测定方法不是以毫克级生产的重组高血压蛋白酶的必需测定方法，人们可以将蛋白质水解成肽段用高效液相色谱法（HPLC）检测并基于此进行纯化和鉴定。对于没有催化活性的蛋白质，凝胶或柱分离系统可以帮助识别或确定目标蛋白。无论如何，简化测定过程会加速蛋

白质的纯化过程，而这正是重组蛋白质的一个很大优点。

通过对纯化过程的每一步进行逐步测定，然后把每步测定的情况汇总到反映特定活性、总单位、总蛋白和产量的列表中可以对纯化过程进行逐步评估。因此，检测对纯化过程的顺利有效进行是非常重要的。在进行纯化之前，假定已经很好的掌握了研究中涉及的蛋白质的检测和定量的手段。

1.5 纯化过程的放大

通常以中试规模进行重组蛋白质试验制品的生产，这个数量只能满足基础研究的需要。商业产品需要对所有操作进行放大，但大规模生产带来一连串的新的复杂问题。

(a) 将初始抽提物体积减少至可操作的体积范围需要的时间较长，将该操作过程保持在低温下进行也很困难，而且必须除去某些特定的物质以保证分离柱的功效。在放大过程中，大规模的超滤和离心设备已经可以避免这些问题。

(b) 较大的分离柱的均匀填充是很困难，不均匀的填充会导致流体的不均匀分布，从而引起物料流失、分离效果变差。

(c) 由于纯化的最终目标是不仅在质量上达到最优化，而且在数量上达到最优化，因此，纯化过程中目标产物不能损失过多。在中等规模生产中不存在产量最大化，因为为了基础研究的纯度要求可牺牲数量保证纯度。

基础研究科学家和生产技术人员的协作对于生产过程的有效放大是至关重要的。研发人员必须探索纯化的条件范围而不是纯化过程中的个别细节问题，而且将这种信息传递到生产线中以保证整个过程的有效性，这些信息包括不影响最终产品产量和生物活性的工艺操作参数如 pH 范围、温度、离子强度、缓冲溶液浓度、洗脱液浓度和流体流速，同时也必须包括所使用材料的干净程度、消毒和灭菌情况。最后，质量控制科学家必须确保产品符合商用的特定要求。大范围的专业技术的综合利用是成功地进行工业化生产药用蛋

白质的基础。

1.6 对纯化的综合评价

没有 100% 纯的蛋白质，只是不纯的程度有别而已。可以采用一系列的测试方法评估纯化后的蛋白质中的杂质含量，如氨基酸分析、RP-HPLC、聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）、等电聚焦、其他的非变性凝胶电泳和 N 末端序列分析等简单、有效的分析方法，通过这些手段可以确定一个蛋白质纯度是否达到 99.9%。当发现核酸中有潜在的癌基因时，应引起足够的重视，该情况下建议使用适当标记的放射性探针，可检测到 10ng 数量级的核酸。纯化后的蛋白质可能被各种物质污染，针对制药工业，每个国家都有自己制定的纯度标准。

由于本书主要对重组蛋白的生产进行研究，人们经常会问，工程产品是否与相应的天然品一致？为了在一定深度上回答这个问题，需要对天然蛋白进行详细的定性，而这在大多数情况下是不可能的。如果具有足够的天然蛋白的信息，就可以对两者做直接的比较，否则，评价重组蛋白的惟一途径就是在动物模型实验中检测它的生物活性。随着对重组蛋白经验的日益增多，人们越来越倾向于接受采用工程产品建立通过天然蛋白不可能测定的活性单位和结构的信息文库。

1.7 合理设计纯化工艺

本书的重点是论述由重组 DNA 技术生产的重组蛋白质的纯化和分析定性。与天然蛋白相比，重组蛋白的优势是明显的，它的有关信息可预先设计。理论上，对任何蛋白质，无论其活性状态下的结构等信息是多么难以得到，都可以通过重组技术大量生成并被纯化和定性（尽管迄今为止在某种情况下还不太可能）。这样一来，可得到大量由核酸衍生的氨基酸序列，并建立起这些衍生蛋白质之