

“十一五”国家重点图书

蛋 | 白 | 质 | 科 | 学 | 与 | 技 | 术 | 丛 | 书

「蛋白质 色谱分离技术」

*Separation of Protein
by Chromatography*

郭立安 常建华 编著

色谱法分类及理论

离子交换色谱

亲和色谱

排阻色谱

反相色谱

疏水作用色谱

新型色谱和其他分离技术简介

制备液相色谱技术

蛋白质的保存技术

蛋白质样品鉴定技术



化学工业出版社
生物·医药出版分社

蛋 | 白 | 质 | 科 | 学 | 与 | 技 | 术

「蛋白质 色谱分离技术」

*Separation of Protein
by Chromatography*



郭立安 常建华 编著



化学工业出版社
生物·医药出版分社
· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白质色谱分离技术/郭立安, 常建华编著. —北京: 化学工业出版社, 2011. 1

(蛋白质科学与技术丛书)

ISBN 978-7-122-09713-2

I. 蛋… II. ①郭…②常… III. 蛋白质-分离-色谱法 IV. Q51-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 203189 号

责任编辑: 傅四周 郎红旗 周旭
责任校对: 陶燕华

文字编辑: 焦欣渝
装帧设计: 关飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 大厂聚鑫印刷有限责任公司

710mm×1000mm 1/16 印张 27 字数 416 千字 2011 年 2 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 129.00 元

版权所有 违者必究

丛书序

生命科学在 21 世纪已从基因组的研究进入功能基因组或结构基因组的研究，也就是说要在蛋白质结构的基础上研究基因编码的各种蛋白质的功能，并从传统的单个蛋白质的研究走向细胞内蛋白质群体的研究，从而更加深入地揭示生命活动的奥秘。这方面的工作构成了当今生命科学研究的前沿，即蛋白质科学。

人类对蛋白质重要性的认识源远流长。1878 年恩格斯在《反杜林论》中就指出“生命是蛋白体的存在形式”。不过当时对蛋白质的本质和结构还知之甚少。不久，瑞典的 Theodor Svedberg 利用他首创的超离心技术才知道蛋白质分子是均一的并具有固定的分子量。此后，剑桥大学的 Frederick Sanger 利用纸电泳和纸色谱测出了第一个蛋白质——胰岛素的一级结构；Max Perutz 和 John Kendrew 利用他们首创的重原子同晶置换技术测出了第一个蛋白质——肌红蛋白晶体的三维结构。我国对蛋白质的研究起步也不晚。20 世纪二三十年代，北京协和医学院吴宪领导的实验室对蛋白质的变性作用进行了深入系统的研究，提出蛋白质变性的实质是蛋白质分子从紧密而有序的结构变为散漫而无序的结构。吴宪的蛋白质变性学说对当前蛋白质分子折叠的研究仍然具有现实意义。及至 20 世纪五六十年代，中国科学院生物化学研究所、有机化学研究所和北京大学又通过社会主义大协作合成了胰岛素，而且得到了晶体。这不仅是世界上第一次在实验室合成了具有天然构象的蛋白质，而且彻底证明了“一级结构决定高级结构”这一重要原理。随后，我国又独立测出了胰岛素晶体的三维结构。正是由于国内外这些开创性的工作，才有了当前蛋白质科学的蓬勃发展。

回顾蛋白质科学发展的历程，我们可以看到先进技术对科学发展的无比重要性。除了上述的超离心、色谱、电泳、重原子同晶置换等技术以外，后来涌现的高效液相色谱、二维凝胶电泳、毛细管电泳、质谱、生物芯片等技术又引领了蛋白质组学的研究，使我们有可能对细胞内的大量蛋白质群体进行综合研究。由此看来，科学与技术是相辅相成的，相互促进的，二者缺一不可。

在人类基因组已被基本破译的基础上，成千上万的蛋白质的结构与功能及其相互作用亟待阐明。蛋白质科学的研究成果将有助于阐明生命现象的本质和活动规律，为多种疾病的致病机理和防治提供理论依据。因此，蛋白质科学是发达国家激烈争夺的制高点，成为近年来生命科学不断取得重大突破的热点领域。我国对蛋白质科学也给予了高度重视，《国家中长期科学和技术发展规划纲要（2006—2020 年）》

将“蛋白质研究”列为四项重大科学研究计划之一。在广大科研人员的共同努力下，我国在蛋白质研究领域已开始出现与国际先进水平基本同步的良好发展态势，取得了一些重要的理论和应用成果，陆续在“Nature”、“Science”、“Cell”等重要期刊上发表了一批有影响的论文。

正是在这样的背景下，化学工业出版社及时出版的这套《蛋白质科学与技术丛书》很有现实意义。丛书由相互独立而又彼此联系的各分册组成，主题包括“理论”和“技术”两个层面，现阶段以“技术”为主。归纳起来，这套丛书具有以下一些特色。

1. 选题涉及的范围较为广泛。从蛋白质的基础理论，到研究的各种技术方法，以至于前沿的蛋白质组研究，在丛书中都有体现，以满足不同方向、不同层次的科研和教学需要。

2. 编写队伍具有较高水准，由中国科学院、军事医学科学院、北京大学、南京大学等单位活跃在第一线的学术骨干为主编写。

3. 编写人员分布在国内外各研究机构，因而能扬各家之长，并体现国际化的学术合作。

值得欣慰的是，目前这套丛书已通过立项成为国家“十一五”重点图书出版项目，其编写计划也得到了学术界的大力支持，进展顺利。计划两年内陆续出版的第一批书目包括：

蛋白质物理学概论

蛋白质组学原理

蛋白质电泳技术指南

蛋白质色谱分离技术

蛋白质质谱技术

蛋白质微阵列

蛋白质结构模拟与设计

蛋白质高效表达技术

蛋白质科学的研究方兴未艾，今后的发展任重而道远。面对这一挑战，《蛋白质科学与技术丛书》的出版必将促进我国的蛋白质科学在已有的基础上进一步发扬光大。同时，随着这一领域的飞速发展，也希望这套丛书能不断推出后续的新篇和新人新作。

中国科学院院士

张友尚

2007年4月26日

前 言

近年来,生物技术已被国际上许多国家列为优先发展的高技术领域。我国在2006年就发布了《国家生物技术产业中长期发展规划》,到2020年我国的生物技术产业总产值达到2万亿元人民币以上。

生物技术产业发展的关键之一是分离技术。在生物技术产业总生产成本中的60%~90%是由分离技术所决定,而在分离技术中,色谱技术是其核心。目前,国际上95%以上蛋白质的分离是通过色谱技术完成的。而多年来我国的生物技术产业中使用的主要分离装备和大多试剂被国外所垄断,早期基因测序、现在的后基因组计划以及基因工程制药中的各个过程均是如此,使我国的生物技术产业的中长期发展和安全受到了威胁。这也就是从1986年国家高技术发展计划开始,在我国一系列重大的国家计划中将色谱关键技术列为国家重点支持的重要原因。作者从1986年的“863”和“七五”科技攻关国家项目开始,到现在一直在从事蛋白质的色谱分离技术研究,分别承担了国家“863”、国家科技支撑、国家自然科学基金和国家高技术产业化示范工程等多个重大产业化项目的研究。目前已完成了琼脂糖、硅胶等系列分离介质产品的工业化技术研究和工业制备色谱装备的技术研究,并制订了相应的产品质量标准。

在生物技术产业化过程中,蛋白质的色谱分离技术起到了关键的作用。国际上一些大的公司纷纷介入该领域,为该领域的发展起到了极大的促进作用。比如,美国的GE公司2004年就动用百亿美元购买了在蛋白质色谱分离技术上占绝对优势地位的Amersham-Pharmacia公司。

随着生物技术的发展,现代基因工程药物从早期的原核和真菌表达,逐步发展到目前的人源性细胞的表达。蛋白质药物的单病人治疗量也从早期的几到几十微克到目前的几十到几百毫克以及克级水平,这对蛋白质的色谱纯化装备和技术提出了新的挑战,也促使我们从以经验为主的纯化工艺的选择逐步要进入理论指导下的纯化工艺的制定,同时,逐步培养我国在蛋白质分离技术方面的产业领军人物也迫在眉睫。结合我们近些年的工作经验,作者组织和编写了这本书,希望能对国内同行提供一些帮助。

全书共分十一章,重点介绍了各种蛋白质的色谱分离技术,包括离子交换、体积排阻、亲和、疏水、反相、制备色谱,同时对近年来新发展的色谱技术单列一章进行了介绍。为了让读者方便阅读,我们在第1章中对蛋白质的样品处理技术做了简单介绍,同时根据作者的经验,许多蛋白质纯化技术人员往往只重视纯化工艺的建立,而忽视纯化过程的蛋白质的保存技术,使得许多纯化工作前功尽弃,我们将蛋白质的保存技术单列一章,以引起大家的重视。

近年来，国内许多科技工作者编写了蛋白质纯化方面的书籍，有许多真知灼见，为本书的编写提供了许多指导和帮助，在此对他们一并表示感谢。同时，在本书的编写过程中得到了国内许多色谱分离技术专业研究人员的支持和教诲，对他们的支持表示感谢，尤其是耿信笃和朱宝泉先生，他们在治学上的严谨和工作上的认真态度使我们终生受益。感谢我的助手柳花和学生赵彦鼎、杨博，同时也感谢中国科学院化学研究所刘国詮、苏天升先生，他们对我的成长和该书的形成都付出了巨大的努力，他们同时也为我国的生物分离介质的产业化做出了贡献。同时，也感谢我们的家人和同事，风风雨雨 20 多年，伴随着我们进行着枯燥、费时、经常又是无结果但也有意义的色谱分离技术研究。正是由于他们的支持，才让我们能够静下心来，远离世俗的烦恼，为实现我国的生物分离技术产业化作出一些贡献。最后要感谢化学工业出版社的编辑们，正是由于他们的努力，该书才得以正式出版。

希望该书的出版，能够为我国从事蛋白质纯化技术研究的人员提供一些帮助，由于我们知识和认识上的局限性，对有些问题的认识并不一定正确，敬请大家批评指正。

作者

2010 年 11 月于西安

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 引言	1
1.2 蛋白质纯化方法	2
1.2.1 蛋白质与小分子纯化方法的比较	2
1.2.2 蛋白质常用纯化方法	2
1.2.3 蛋白质的分离工艺过程	5
1.2.4 纯化工艺设计基本原则	7
1.2.5 蛋白质纯化常用仪器和试剂	8
1.2.6 蛋白质纯化应注意的事项	10
1.3 蛋白质样品制备技术	11
1.3.1 原材料的选择	11
1.3.2 原材料的破碎技术	13
1.3.3 样品的提取	14
1.3.4 样品的回收	15
1.3.5 提取液的处理技术	17
1.4 蛋白质的沉淀分离技术	23
1.4.1 盐析法	23
1.4.2 有机溶剂沉淀法	28
1.4.3 其他沉淀法	31
1.5 膜分离技术在蛋白质纯化中的应用	32
1.5.1 概述	32
1.5.2 膜分离技术的分离原理及膜产品种类	33
1.5.3 膜技术生物分离中的应用	35
参考文献	38
第 2 章 色谱法分类及理论	39
2.1 色谱分类及装置	39
2.1.1 色谱分类方法	39
2.1.2 经典柱液相色谱技术	42
2.1.3 高效液相色谱技术	45
2.1.4 工业制备液相色谱技术	52
2.1.5 经典色谱、高效色谱、制备色谱三者间的关系	56
2.2 固定相	57

2.2.1 基质	58
2.2.2 填料的形状、大小、孔径、结构及分布	70
2.2.3 配基	73
2.3 流动相	74
2.3.1 对流动相的一般要求	75
2.3.2 流动相的主要性质	75
2.4 基本理论	76
2.4.1 保留值	76
2.4.2 柱效能指标	78
2.4.3 分离效能总指标	81
参考文献	86
第3章 离子交换色谱	88
3.1 引言	88
3.2 离子交换作用	89
3.2.1 溶液中蛋白质的带电状况	89
3.2.2 离子交换	92
3.3 离子交换色谱保留机理	94
3.3.1 静电作用保留模型	94
3.3.2 计量置换保留模型	95
3.4 离子交换填料	97
3.4.1 离子交换填料的结构与分类	97
3.4.2 离子交换填料的种类	99
3.5 离子交换色谱填料的合成	108
3.5.1 硅胶基体离子交换填料的合成	108
3.5.2 高分子聚合物基体离子交换填料的合成	110
3.5.3 琼脂糖基体离子交换填料的合成	111
3.5.4 交联葡聚糖基体离子交换填料的合成	112
3.5.5 纤维素基体离子交换填料的合成	113
3.6 离子交换填料的性能及检测	114
3.6.1 外观	114
3.6.2 粒径分布测定	114
3.6.3 最大耐压和最大流速的测定	115
3.6.4 交换容量的测定	116
3.6.5 蛋白质吸附量的测定	117
3.7 离子交换色谱条件的选择	118
3.7.1 色谱填料的选择	118
3.7.2 柱子的选择	122

3.7.3	流动相选择	122
3.7.4	洗脱模式	127
3.7.5	其他色谱条件	128
3.8	离子交换色谱的应用	129
3.8.1	色谱技术	129
3.8.2	硅胶基体离子交换色谱应用实例	132
3.8.3	多糖基体离子交换色谱应用实例	134
3.8.4	规模放大的色谱条件	137
3.8.5	IEC 在蛋白质折叠复性中的应用	138
3.9	离子交换色谱中蛋白质的累加进样分离法	139
3.9.1	离子交换色谱中蛋白质洗脱曲线有突跃	139
3.9.2	离子交换色谱中蛋白质的累加进样分离法	139
3.9.3	离子交换色谱中蛋白质的累加进样分离法浓集样品	140
3.9.4	离子交换色谱中蛋白质的选择性保留分离法	141
3.10	多模式离子交换色谱	141
	参考文献	143
第4章	亲和色谱	145
4.1	引言	145
4.2	基本原理	145
4.3	亲和色谱填料	147
4.3.1	基体	148
4.3.2	配体	150
4.3.3	间隔臂	153
4.4	亲和色谱填料的制备	153
4.4.1	亲和色谱合成路线	153
4.4.2	多糖基体亲和色谱填料的制备	155
4.4.3	硅胶基体亲和色谱填料的制备	171
4.4.4	亲和色谱填料的性能评价	172
4.4.5	已商品化的多糖基体亲和色谱填料及中间体	172
4.5	若干类型亲和色谱介绍	174
4.5.1	固定金属离子亲和色谱	175
4.5.2	染料亲和色谱	180
4.5.3	凝集素亲和色谱	186
4.5.4	生物专一性亲和色谱	189
4.5.5	共价亲和色谱	190
4.5.6	磁性亲和色谱	193
4.6	亲和色谱操作技术	197

4.6.1	样品制备	197
4.6.2	装柱及平衡	197
4.6.3	上样及洗涤	198
4.6.4	洗脱	198
4.6.5	再生	199
4.6.6	柱子的保存	200
4.7	亲和色谱的应用	200
4.7.1	生物大分子分离纯化和分析中的应用	200
4.7.2	临床检测和治疗中的应用	204
4.7.3	活性细胞膜色谱的应用	204
4.7.4	食品安全性检查和农药残留检测中的应用	205
	参考文献	205
第5章	排阻色谱	207
5.1	引言	207
5.2	排阻色谱原理	208
5.3	排阻色谱固定相	210
5.3.1	排阻色谱柱的参数	210
5.3.2	排阻色谱填料的要求及种类	211
5.3.3	葡聚糖凝胶	213
5.3.4	琼脂糖凝胶	214
5.3.5	硅胶基体凝胶	215
5.3.6	聚丙烯酰胺凝胶	216
5.3.7	复合凝胶 Sephacryl 和 Superdex	217
5.3.8	有机高分子类凝胶	219
5.4	排阻色谱条件	219
5.4.1	柱子填料	219
5.4.2	柱子尺寸	221
5.4.3	洗脱模式及流动相	221
5.4.4	流速	222
5.4.5	上样量	223
5.5	排阻色谱的一般操作	223
5.5.1	排阻色谱凝胶的准备	223
5.5.2	排阻色谱的操作	224
5.6	排阻色谱的应用	227
5.6.1	蛋白质等大分子的分离纯化	227
5.6.2	大分子的脱盐和脱小分子物质	229
5.6.3	分子量测定	229

5.6.4	排阻色谱用于蛋白质复性	231
5.6.5	缓冲溶液的交换	233
5.6.6	浓缩蛋白质溶液	233
5.6.7	用排阻色谱测定蛋白质的构象转化点	233
	参考文献	234
第6章	反相色谱	236
6.1	反相色谱保留机理	236
6.1.1	疏溶剂化理论	236
6.1.2	计量置换模型	238
6.1.3	双保留机理	239
6.2	反相色谱的固定相	241
6.2.1	常用反相色谱的固定相	241
6.2.2	反相色谱固定相的合成	244
6.3	反相色谱流动相	245
6.4	蛋白质反相色谱实验条件的选择	246
6.4.1	蛋白质反相色谱的固定相及柱子选择	246
6.4.2	蛋白质反相色谱的流动相选择	247
6.4.3	蛋白质反相色谱的柱子温度对保留值的影响	249
6.4.4	蛋白质反相色谱的洗脱方式	249
6.4.5	上样量对保留值和分离度的影响	250
6.4.6	检测	251
6.5	反相色谱的应用	251
6.5.1	蛋白质反相色谱中的突跃及累加进样	251
6.5.2	反相色谱在蛋白质分离中的应用	252
6.5.3	肽图及氨基酸序列分析	253
6.5.4	酶活性测定	255
6.5.5	HPRPC 的高效分离	255
6.5.6	蛋白质构象变化的研究	255
6.5.7	蛋白质样品脱盐	256
	参考文献	256
第7章	疏水作用色谱	258
7.1	引言	258
7.2	蛋白质的亲水性和疏水性基团	258
7.3	疏水作用色谱保留机理	259
7.3.1	疏溶剂化理论	259
7.3.2	熵增原理	260

7.3.3	计量置换模型	260
7.3.4	溶质和配基之间的界面自由能变化决定洗脱和吸附	261
7.4	疏水作用色谱填料	261
7.4.1	疏水作用色谱填料的构成	261
7.4.2	商品化疏水作用色谱填料	263
7.5	疏水作用色谱填料的合成	263
7.5.1	硅胶基体疏水作用色谱填料的合成	263
7.5.2	多糖基体疏水作用色谱填料的合成	265
7.6	疏水作用色谱填料的性能及检测	267
7.6.1	外观	267
7.6.2	粒径分布测定	267
7.6.3	最大耐压和最大流速的测定	267
7.6.4	蛋白质吸附量的测定	267
7.6.5	配基密度的测定	268
7.6.6	蛋白质活性回收率测定	269
7.7	疏水作用色谱条件的选择及对分离的影响	270
7.7.1	色谱填料的选择	271
7.7.2	柱子的选择	271
7.7.3	流动相的选择	272
7.7.4	温度对色谱的影响	274
7.7.5	洗脱模式	274
7.7.6	疏水色谱与反相色谱的关联	275
7.8	疏水作用色谱的应用	278
7.8.1	疏水作用色谱技术	278
7.8.2	疏水作用色谱的应用实例	280
7.9	HIC 中蛋白质的累加进样分离法	284
	参考文献	286
第 8 章	新型色谱和其他分离技术简介	288
8.1	扩张床吸附技术	288
8.1.1	扩张床吸附技术简介	288
8.1.2	扩张床吸附技术中使用的介质	288
8.1.3	扩张床吸附技术中使用的柱子	290
8.1.4	扩张床吸附技术的操作	291
8.1.5	扩张床吸附技术的应用	293
8.1.6	扩张床吸附技术的应用实例	293
8.2	多维液相色谱	294
8.2.1	多维液相色谱基本概念	294

8.2.2	多维液相色谱的相关技术	295
8.2.3	多维液相色谱的应用	298
8.3	径向色谱	299
8.3.1	径向色谱的原理	299
8.3.2	径向色谱的特点	300
8.3.3	径向色谱的应用	300
8.4	膜色谱	302
8.4.1	膜色谱的原理和特点	302
8.4.2	膜色谱的介质及色谱柱	302
8.4.3	膜色谱的应用	305
8.5	灌注色谱	307
8.5.1	灌注色谱法的产生	307
8.5.2	灌注色谱法的原理及特点	308
8.5.3	灌注色谱法的应用	311
8.6	逆流色谱	313
8.6.1	逆流色谱的发展与仪器	313
8.6.2	逆流色谱的分离原理	315
8.6.3	逆流色谱在蛋白质分离中的应用	317
8.7	整体柱色谱技术	319
8.7.1	整体柱色谱技术简介	319
8.7.2	整体柱色谱的柱子	320
8.7.3	整体柱色谱的应用	322
	参考文献	324
第9章	制备液相色谱技术	327
9.1	分离条件评估参数	328
9.1.1	负载量	329
9.1.2	制备色谱分离效果的评估	330
9.2	制备色谱装备的相关技术	330
9.2.1	制备色谱柱筛板及流动相出入口选择	330
9.2.2	制备色谱柱的装填技术	331
9.2.3	制备色谱中的污染问题	333
9.2.4	进样	334
9.2.5	检测器	335
9.2.6	自动化系统	335
9.2.7	几个典型的制备色谱系统	335
9.3	最佳化纯化条件建立	336
9.3.1	影响色谱柱最大负载量的因素	337

9.3.2	提高工业制备色谱处理量的方法	338
9.3.3	样品的负载与回收率纯度间的关系	341
9.4	色谱技术之间的相容性选择原则	342
9.4.1	不同纯化阶段色谱技术选用原则	342
9.4.2	不同色谱技术的相容性	343
9.4.3	不同纯化技术与蛋白质色谱纯化技术组合的要求	344
9.5	短柱制备色谱技术	345
9.6	蛋白质纯化的精品更精技术	347
9.7	制备色谱在蛋白质纯化方面的应用	348
9.7.1	色谱法分离血液制品	348
9.7.2	胰岛素的制备色谱纯化	351
9.7.3	疫苗的制备色谱纯化	352
9.7.4	制备 HPLC 的应用	355
	参考文献	356
第 10 章	蛋白质的保存技术	358
10.1	影响蛋白质保存稳定的因素	359
10.1.1	空气	359
10.1.2	温度	359
10.1.3	水分	360
10.1.4	光线	360
10.1.5	样品的 pH	360
10.1.6	时间	360
10.1.7	蛋白质本身性质改变	360
10.1.8	保护剂的作用	360
10.2	蛋白质的保存方法	361
10.2.1	低温保存	362
10.2.2	在稳定 pH 下保存	363
10.2.3	在高浓度下保存	364
10.2.4	在保护剂存在下保存	366
10.3	固态保存	372
10.3.1	制成干粉或结晶	372
10.3.2	制成水不溶酶	373
10.3.3	蛋白质的玻璃化保存技术	373
10.3.4	制成酶衍生物	374
10.3.5	冷冻干燥	374
10.4	冷冻干燥技术	375
10.4.1	冷冻干燥的原理和作用	375

10.4.2	实验室制备冻干品的简易方法	376
10.4.3	工业生产的冷冻干燥系统	377
10.4.4	冷冻干燥对蛋白质活性的影响	380
10.4.5	保护剂的作用	381
	参考文献	387
	第 11 章 蛋白质样品鉴定技术	388
11.1	蛋白质的定量	388
11.1.1	蛋白质的 HPLC 法定量	389
11.1.2	单波长紫外分光光度法定量	390
11.1.3	多波长紫外分光光度法定量	391
11.1.4	凯氏定氮法	392
11.1.5	双缩脲法	392
11.1.6	考马斯亮蓝染色法	393
11.1.7	Lowry 法	394
11.1.8	二喹啉甲酸法	394
11.1.9	由蛋白质总活性定量	395
11.2	蛋白质纯度分析	396
11.2.1	紫外光度法	396
11.2.2	超速离心沉降法	396
11.2.3	凝胶电泳法	396
11.2.4	色谱法	403
11.2.5	活性对照法	403
11.2.6	等电聚焦	403
11.2.7	其他检测法	404
11.3	蛋白质的定性表征	404
11.3.1	蛋白质定性的依据	404
11.3.2	蛋白质的电泳定性及分子量测定	405
11.3.3	蛋白质的色谱定性和分子量测定	405
11.3.4	蛋白质的质谱	405
11.3.5	蛋白质的氨基酸序列测定	409
11.3.6	蛋白质的等电点测定	410
11.3.7	蛋白质的肽谱	411
11.3.8	蛋白质中糖含量分析	412
11.3.9	蛋白质的生物活性测定	415
	参考文献	416

第1章 绪论

1.1 引言

生物技术在近些年得到了突飞猛进的发展，许多科研成果正在以不可想象的速度产生，比如克隆羊“多莉”的出生、人类基因组全序列的测定、后基因组计划、SARS疫苗以及各种转基因食品和药品的生产等，不胜枚举。所有这些成绩的取得，都证明了我們正处在生命科学大发展的时代。

在生命科学研究中，生物技术的发展尤其受到人们的关注。其主要原因是它能依照人们的想象高效地开发和生产人类所必需的产品，产生巨大的经济效益。但在生物技术走向产业化的过程中，分离技术是一个必不可少的生产过程，占生物技术产业化过程中总生产成本的60%~90%。因此，分离纯化技术就成了生物技术产业化过程中一个关键的技术和核心技术。没有分离纯化技术的发展，我国的生物技术产业就会受制于人，产业安全也会受到影响，更无法真正参与国际市场的竞争。这就是为什么国家从“七五”计划开始到现在，一直将分离纯化技术列入国家一系列重大研究计划（比如863、科技攻关、自然科学基金重点、高技术产业化示范工程）的重要原因。

分离纯化技术的发展促进了生命科学许多学科的发展，已成为生命科学发展必不可少的工具。比如免疫学，正是由于分离纯化技术的发展，才使许多新的蛋白质和免疫物质（如受体、抗体）被发现，最终使人们对生命的认识由细胞水平进入了分子水平。在临床研究方面，许多疾病与蛋白质的含量变化密切相关，如肝癌病人的甲胎蛋白和铁蛋白含量明显高于正常人，研究这些蛋白质含量变化对疾病的治疗和诊断均有重要意义。另外，蛋白质的分离纯化技术又直接与巨大的经济利益相联系，是一个新兴的高技术、高效益、高风险的产业。因此，近30多年来，国内外许多研究机构及企业对这项技术给予了高度的重视，继而成立了许多研究所和公司来开发和利用这项技术，并从中获得了巨大的利益。2008年，美国生物技术产业的销售收入已达2000多亿美元，年增长25%以上，远高于国民经济平均增长水平。

我国从20世纪80年代中期就开始这方面的研究。在国家高技术发展计划（863）和国家科技攻关等重大课题中都投入了巨大的研究经费，参与研究的单位也有20多家，从事的研究人员有近千人，使我国的蛋白质纯化技术有了一定的研究基础，并取得了一定的成果。在生物医药方面，我国已有18种产品获得了国家食品药品监督管理局的正式生产批文，并投入了生产，200多个品种正在进行临床试验中，500多个品种正在进行申报和研究中。2008年我国生物技术产品的销售收入达到600多亿人民币。按照“十一五”国家中长期生物技术发展规划，2020年我国的生物技术产品价值将达到20000亿人民币，成为我国国民经济的—个主导产业。所有这些都使我们对生命科学的发展充满信心。