

# 生物活性蛋白质分离纯化技术研究现状分析

张仕佳

华北制药集团新药研究开发有限责任公司 河北石家庄 050000

**摘要:** 在生物科学领域, 生物活性蛋白质的分离纯化技术是获取具有生物活性的蛋白质的关键步骤, 对于研究其结构和功能、开发新的生物药物和治疗方法具有重要意义。然而, 由于生物活性蛋白质的多样性和复杂性, 其分离纯化仍然是一个技术难题, 本文就此展开了探讨。

**关键词:** 生物活性蛋白质; 分离纯化技术; 研究

## 引言:

随着生物技术的发展, 一些新的分离纯化技术不断涌现, 但传统的分离纯化方法仍然占据主导地位。这些传统的方法主要包括离子交换色谱、凝胶色谱、亲和色谱等。近年来, 一些新兴的蛋白质分离纯化技术, 如基于质谱的方法、蛋白质结晶方法等, 也逐渐被应用于生物活性蛋白质的分离纯化。

## 一、生物活性蛋白质的基本性质

### 1. 结构和功能

生物活性蛋白质是生命体内广泛存在的重要分子, 它们在维持生物体的正常生理功能和调节生命活动中扮演着关键角色。这些蛋白质的基本性质包括其特定的结构和功能。从结构上看, 生物活性蛋白质通常由氨基酸残基按照特定的序列排列而成, 并通过肽键将这些残基连接在一起。蛋白质的结构可以分为四个层级: 一级结构指的是氨基酸序列的线性排列, 二级结构是指将氨基酸按照特定的方式折叠成 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠等结构, 三级结构是指蛋白质分子内部的立体结构, 而四级结构是指由两个或多个蛋白质分子相互作用而形成的复合体。生物活性蛋白质的功能多种多样, 涵盖生物体内几乎所有的生物过程。它们可以作为酶催化化学反应, 参与代谢过程和细胞信号传导。生物活性蛋白质还能通过与其他分子结合来实现特定的功能, 例如激活或抑制特定生物过程, 调节基因表达, 参与细胞运动和细胞间相互作用等。此外, 一些生物活性蛋白质还在免疫系统中发挥着重要的免疫调节和抗原识别的功能。

### 2. 生物活性蛋白质的重要性

生物活性蛋白质的重要性不言而喻。它们是构建个体生命体化学特征的基础, 直接决定了生物体的生命过程和多种生物功能的实现。同时, 研究生物活性蛋白质不仅可以解析生物体内复杂的生物学过程, 还可以为药

物开发、治疗疾病、生物工程和生物技术领域提供重要的理论和实践基础。

## 二、生物活性蛋白质分离的基本原理

生物活性蛋白质是一类在生物学过程中发挥重要功能的蛋白质, 对其进行分离和纯化是许多研究和应用领域的关键步骤。现代生物技术提供了多种分离纯化方法, 其中常用的包括差凝法、高效液相色谱法、电泳法、亲和层析法、溶剂萃取法和结晶法。本文将详细介绍这些方法的原理和应用。

### 1. 差凝法 (Diffusion method)

差凝法是一种基于分子大小和形状差异的分离方法, 适用于分离分子量较大且具有不同空间构型的蛋白质。该方法的原理是将样品置于适当浓度的凝胶中, 通过模拟自然界中物质分子间的扩散和沉降过程, 利用蛋白质在凝胶中的扩散速度和沉降系数的不同进行分离。差凝法简单易行, 但在分离分子量较小的蛋白质时有效性较低。

### 2. 高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

高效液相色谱法是一种广泛应用于生物活性蛋白质分离纯化的技术。它基于样品中组分间的分配平衡, 利用色谱柱中填充的分离介质与蛋白质之间的相互作用进行分离。高效液相色谱法可根据蛋白质的大小、电荷性质、亲水性等特征选择合适的分离介质和溶剂体系。该方法具有高分离效率、灵敏度和选择性, 且适用于各种样品类型。

### 3. 电泳法 (Electrophoresis)

电泳法利用电场作用下带电粒子在电泳介质中的迁移速度差异进行分离。根据不同的电泳介质、电场强度和电源配置, 可以选择不同的电泳方式, 如凝胶电泳、等电点聚焦电泳等。电泳法可用于分离基于电荷、大小和异电熔点差异的蛋白质。它是一种常用的快速、高效

的分离方法，广泛应用于生物学研究和蛋白质分析。

#### 4. 亲和层析法 (Affinity Chromatography)

亲和层析法基于生物分子之间的特异相互作用进行分离，常用于纯化具有特定亲和性的蛋白质。该方法通过将特定的亲和配体固定在固定相上，从而实现靶蛋白的选择性结合和洗脱。亲和层析法具有高选择性和亲和性强的优势，可用于蛋白质结构和功能研究、生物药物研发等领域。

#### 5. 溶剂萃取法 (Solvent Extraction)

溶剂萃取法是一种基于物质溶解度差异进行分离的方法，适用于分离特定物质在不同溶剂体系中的溶解性差异。该方法涉及将样品与合适的溶剂混合，并通过相分离或萃取的方式将目标蛋白质从混合物中分离出来。溶剂萃取法通常需要考虑溶剂选择、溶剂配比和分离条件等因素，是一种常用的初步纯化方法。

#### 6. 结晶法 (Crystallization)

结晶法是一种基于物质溶解度和饱和度的分离方法，适用于分离具有比较高纯度要求的蛋白质。该方法利用物质在溶液中的溶解度差异，通过逐渐降低溶液中蛋白质浓度、调节温度和PH值等条件，使蛋白质逐渐形成晶体。结晶法需要充分理解蛋白质的结构和晶体形成机制，并且通常需要多次优化实验条件。

综上所述，差凝法、高效液相色谱法、电泳法、亲和层析法、溶剂萃取法和结晶法是常用于生物活性蛋白质分离纯化的方法。它们各自具有不同的原理、适用范围和优缺点，在特定的研究和应用领域中都具备重要的价值和意义。研究人员可以根据具体的目的和要求选择合适的方法来进行生物活性蛋白质的分离纯化工作。

### 三、生物活性蛋白质分离纯化技术的发展现状

#### 1. 蛋白质组学和生物信息学在蛋白质分离纯化中的应用

蛋白质组学研究是通过综合利用多种技术手段来研究细胞、组织或生物体中蛋白质的组成、功能和相互作用等方面的方法。生物信息学则是应用计算机和统计学等技术来处理和分析生物学数据的学科。在蛋白质分离纯化过程中，蛋白质组学和生物信息学的应用可以提供强有力的支持来更好地理解蛋白质的特性和功能。蛋白质组学技术可以高通量地分离和鉴定蛋白质，从而发现新的生物标记物、药物靶点以及治疗策略等。通过质谱和电泳等技术，可以分析蛋白质组成的复杂性，并鉴定出目标蛋白质。这种高通量的分析方法能够大幅提高蛋白质分离纯化的效率和准确性，为研究和应用领域提供

了更多的可能性。生物信息学则帮助科学家们分析蛋白质的结构和功能。通过蛋白质序列、结构和功能的信息，可以预测和推断蛋白质的特性。此外，生物信息学还可以利用已知的蛋白质数据库，通过比对和相似性搜索等方法来研究蛋白质之间的相互作用和功能。蛋白质组学和生物信息学的联合应用使得蛋白质分离纯化的过程更加高效和可靠。生物信息学为蛋白质组学研究提供了理论和计算模型的支持，帮助科学家们解读实验结果并理解蛋白质的结构和功能。同时，蛋白质组学技术的发展也为生物信息学提供了大量丰富的实验数据，对该学科的发展做出了重要贡献。总之，蛋白质组学和生物信息学的结合应用为蛋白质分离纯化提供了更强大的工具和方法。这种综合应用能够提高蛋白质分离纯化的效率、准确性和可靠性，为生物医药领域的研究和开发提供有力的支持，并为新的治疗策略和药物研发提供了新的思路和方法。

#### 2. 新型分离纯化技术的研发和应用

新型分离纯化技术的研发和应用在蛋白质科学研究中扮演着重要角色。其中，超滤和纳滤技术是两种备受关注的方法。超滤技术利用膜的孔径大小不同，将分子量不同的蛋白质和其他生物分子进行分离。而纳滤技术则是利用电荷和分子大小双重差异进行分离，具有高效、快速、可连续分离等优点。微流控芯片也在蛋白质分离纯化中崭露头角。这种高度集成、微型化的分离技术可以在芯片上实现蛋白质的快速、高效、微型化分离，提高蛋白质的产量。此外，新型分离纯化技术如分子印记技术、双水相萃取技术等也得到了广泛研究。分子印记技术可以制备出具有特定分子识别能力的聚合物，从而实现目标蛋白质的特异性吸附和分离。双水相萃取技术则是利用两种水溶液的相容性和蛋白质在两相中的分配系数进行分离纯化，具有条件温和、操作简单等优点。这些新型分离纯化技术的不断研发和应用，为蛋白质科学研究和生物医药领域提供了更多有效的手段，进一步推动了相关领域的发展。

#### 3. 非传统蛋白质纯化方法的研究进展

非传统蛋白质纯化方法的研究进展主要涉及到微管、介孔材料、疏水相互作用和交联剂等新型材料的运用。其中，微管技术是一种新兴的蛋白质纯化技术，它利用微管表面的特异性配体与目标蛋白质结合，从而实现蛋白质的分离。这种方法的优势在于高特异性和高分辨率，但由于微管表面的配体难以制备，因此限制了其应用范围。介孔材料是一种人工合成的、具有高度有序孔道结构的材料，可以作为新型的蛋白质纯化介质。这些材料

具有高比表面积和孔容，可实现目标蛋白质的快速吸附和分离。同时，介孔材料还具有可调的孔径和功能化的表面基团，可实现蛋白质的特异性分离。此外，疏水相互作用也被广泛应用于蛋白质的纯化过程。这种相互作用基于目标蛋白质与介质之间的疏水作用力，可实现对蛋白质的选择性吸附和分离。此外，交联剂也可以被用来稳定蛋白质的三维结构，从而保护其生物活性。这些非传统蛋白质纯化方法的研究进展为蛋白质的分离纯化提供了更多的选择和可能性。

#### 四、结束语

总之，生物活性蛋白质分离纯化技术的研究是生物

学领域的重要组成部分对于提高人类健康水平和生活质量具有重要意义应进一步加大投入力度促进相关科研工作的深入开展。

#### 参考文献：

- [1]黄文.白果活性蛋白的分离,纯化,结构及其生物活性研究[D].华中农业大学,2002.DOI: 10.7666/d.Y468766.
- [2]苗丹青,朱晴晴.生物活性蛋白质分离纯化技术研究现状[J].中国科技期刊数据库医药,2023.
- [3]杨晓明,耿信笃.牛胰腺中活性蛋白的分离纯化方法研究进展[C]//中国中西部地区色谱学术交流会.中国化学会;陕西省化学学会,2010.