

经验交流

还原辅酶 I 钠盐的简易制备方法

季钟煜* 李文杰*

(中国科学院上海生物化学研究所东风生化试剂厂)

一般市售或提取制得的辅酶 I 常为氧化型。然而生化实验室中在研究细胞呼吸电子链传递工作时,都要使用还原辅酶 I。因之,怎样制备出纯度高的还原辅酶 I,成为实验室经常遇到的一个技术问题。早在 1954 年,伍钦荣,邹承鲁^[1]采用稀碱溶液维持了醇脱氢酶反应的最适 pH 环境,制得了还原辅酶 I 钠盐。其后, Rafter 等^[2]使酶反应在 Tris 缓冲液中进行,终了时加入醋酸钡,制得了还原辅酶 I 钡盐,产率为 70%,其纯度同所用的原料氧化辅酶 I 一样。但钡盐为重金属盐,在酶学研究时诸多不宜,最好制成钠盐。

我们就此二法作了比较,认为醇脱氢酶的还原反应,只有在 Tris 缓冲液中才能进行完全。若用稀碱溶液,则最后约有三分之一量辅酶 I 不能得到还原。因此,我们按 Rafter 等法制得钡盐后,直接利用人造沸石(Zeolite)使钡盐变成钠盐。此法操作简便,得率高,其纯度同所用的氧化辅酶 I 一样。

材料

1. 辅酶 I 东风生化试剂厂生产。纯度为 80%。
2. 还原辅酶 I 钡盐 按 Rafter 法^[2]制备。制得的湿钡盐,宜快速干燥之,若久置于空气中,则颜色变黄。
3. 人造沸石(Zeolite) 又称软水剂,化学组分为

硅酸铝钠(Sodium Aluminum Silicate)。使用前先用三倍柱体积饱和食盐溶液处理,使其充分转变为钠盐,然后用重蒸馏水彻底洗去滞留的氯化钠,即可备用。

实验

因还原辅酶 I 遇光会有些分解,变成黄色。实验宜在避光室中进行,方可得白色产品。

称取 3 克还原辅酶 I 钡盐,溶于 200 毫升水中,离心,除去不溶物。将清液以流速为 5ml/分钟,通过人造沸石柱(2.1 × 17cm),流出液以 20 ml 为一份分瓶收集,合并其 340 nm 光吸收值较高的部分,共得 170ml。将此溶液冷冻干燥后得干重为 2.5 克的白色粉末,产率为 94%,纯度为 80%,此即还原辅酶 I 钠盐,宜保存于低温避光干燥器中。

参 考 文 献

- [1] 伍钦荣,邹承鲁:《生理学报》,1954 年,第 19 期,第 183。
- [2] Rafter, G. W., and Colowick, S. P.: Methods in Enzymology, Vol.3, 887, 1957。

[本文于 1981 年 3 月 22 日收到]

* 现在在中国科学院上海生物化学研究所工作。

链霉菌 (*St. roseofulvus* Kc13-375) 葡萄糖异构酶活力测定的改进

李桂琴 冯淑娛

(中国科学院兰州化学物理研究所)

关于用放线菌属生产葡萄糖异构酶活力的测定方法及酶活单位,国内外虽有很多报道,但很不统一,均自成体系。我们在 D-葡萄糖异构成 D-果糖动力学考察基础上,参照 Messing 等报道的方法,对目前国内所采用的高崎幸义所推荐的高渗法进行了改进。为有利于酶的激活,在反应系统中加入氯化钴溶液。改进后

的反应系统为: 60℃, 36% 葡萄糖作底物, 1.5 毫升, pH=6.9, 0.2M, pH=7.8 的磷酸缓冲液, 1.0 毫升, 0.1M 硫酸镁, 0.5 毫升, 0.005M 氯化钴, 0.5 毫升。反应体系的总体积为 10 毫升, 反应时间为 15 分钟。每毫升异构酶转化 1 个微克分子葡萄糖为果糖的酶活力规定成 1 个国际酶活单位 (IGIU)。测定方法: 第一步