

Иммобилизованные ферменты

Иммобилизованные ферменты (от лат. *immobilis* — неподвижный), препараты ферментов, молекулы связаны с матрицей, или носителем (как правило, полимером), сохраняя при этом полностью или частично свои каталитические свойства. Иммобилизованные ферменты обычно не растворимы в воде; между двумя фазами возможен обмен молекулами субстрата, продуктов каталитической реакции, ингибиторов и активаторов.

Преимущество иммобилизации ферментов заключается в том, что фермент становится более стабильным, вероятно, за счет ограничения его способности денатурировать при изменениях pH, температуры и растворителей. К примеру, иммобилизованная глюкозоизомераза стабильна при 65°C в течение года, тогда как в растворе она денатурирует при 45°C за несколько часов.

Фермент иммобилизуют путем ионного связывания на колонке с носителем. После непрерывной автоматизированной работы в течение 30 дней при 50° С активность фермента снижается до 40%; для восстановления активности добавляют свежий фермент. В результате благодаря иммобилизации экономится 40% фермента.

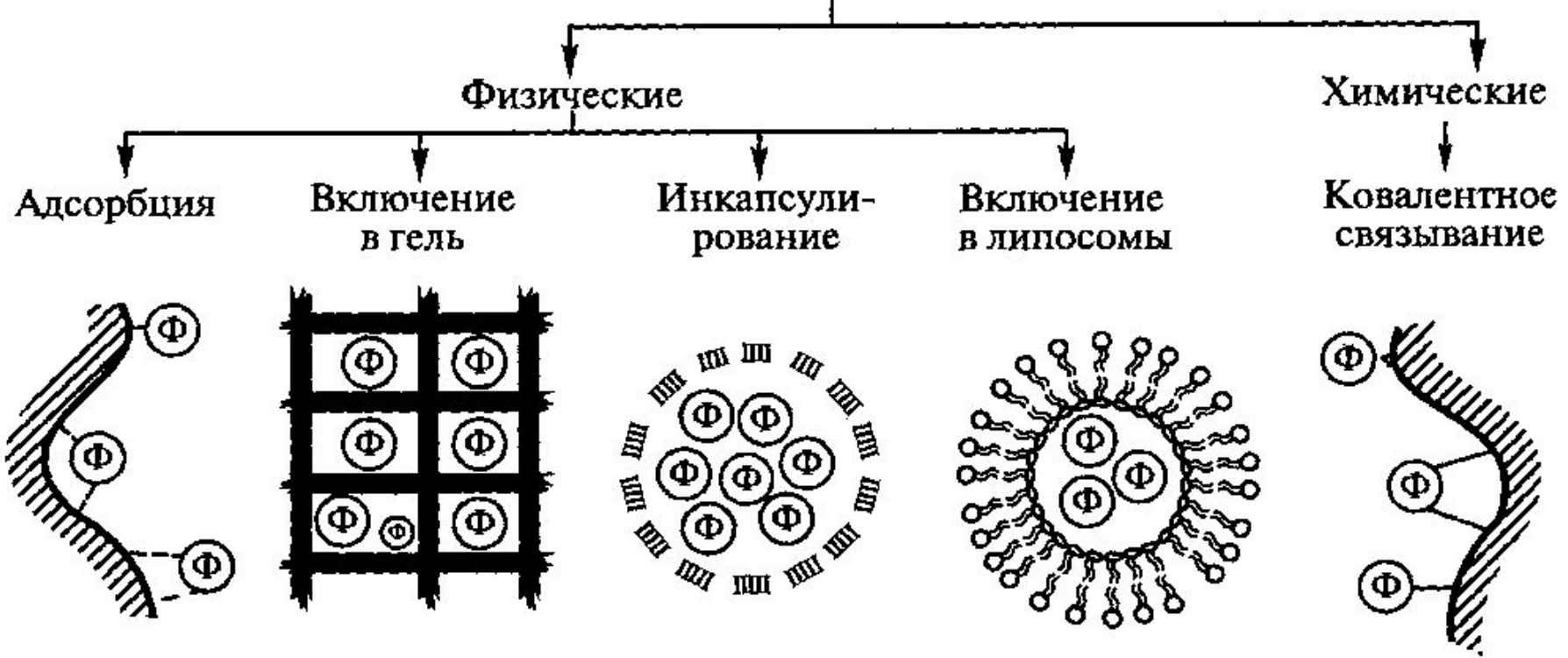
Методы получения иммобилизованных ферментов

Существуют различные способы иммобилизации ферментов. Они включают либо механическое включение (захват) фермента, либо его присоединение к определенной структуре, или матрице. Преимуществом метода захвата является то, что фермент сохраняется в естественном состоянии. Однако крупным молекулам трудно добраться до фермента.

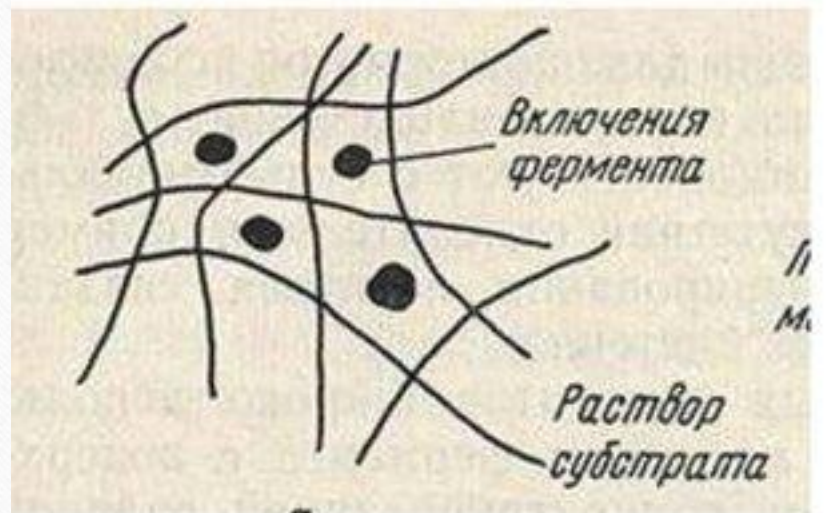
При физической иммобилизации фермент не связан с носителем ковалентными связями. Существует четыре типа связывания ферментов:

- — адсорбция на нерастворимых носителях;
- — включение в поры геля;
- — пространственное отделение фермента от остального объема реакционной системы с помощью полупроницаемой перегородки (мембраны);
- — включение в двухфазную среду, где фермент растворим и может находиться только в одной из фаз.

Методы иммобилизации ферментов

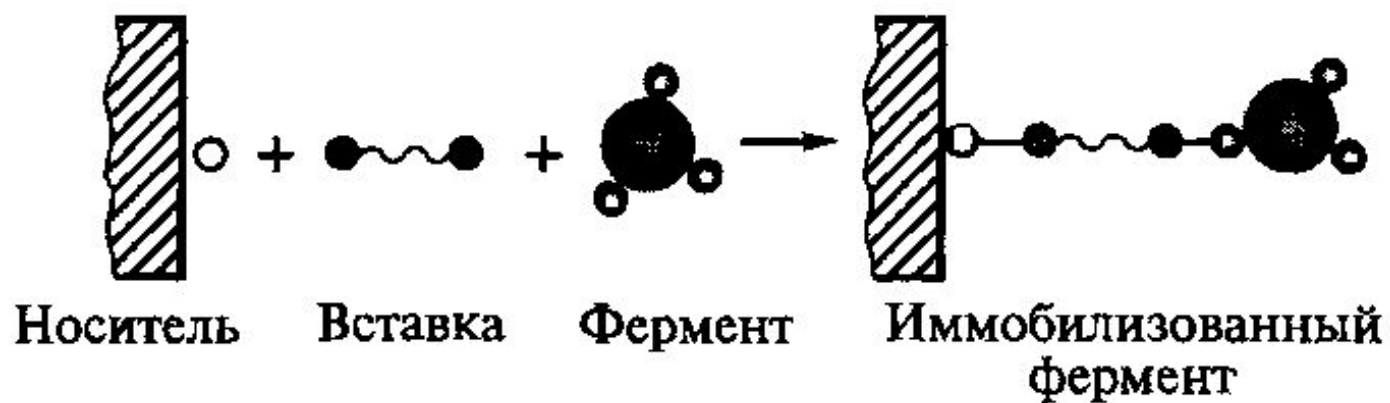


Для иммобилизации ферментов в геле существует два основных способа. При одном из них фермент помещают в водный раствор мономера, а затем проводят полимеризацию, в результате чего образуется полимерный гель с включенными в него молекулами фермента. В реакционную смесь часто добавляют также бифункциональные (содержащие в молекуле две двойные связи) сшивающие агенты, которые придают образующемуся полимеру структуру трехмерной сетки.



В другом случае фермент вносят в раствор готового полимера, который затем каким-либо образом переводят в гелеобразное состояние. Способ иммобилизации ферментов путем включения в полимерный гель позволяет создавать препараты любой геометрической конфигурации, обеспечивая при этом равномерное распределение биокатализатора в объеме носителя. Метод универсален, применим для иммобилизации практически любых ферментов, полиферментных систем, клеточных фрагментов и клеток. Фермент, включенный в гель, стабилен, надежно защищен от инактивации вследствие бактериального заражения, так как крупные клетки бактерий не могут проникнуть в мелкопористую полимерную матрицу.

Главным отличительным признаком химических методов иммобилизации является то, что путем химического взаимодействия на структуру фермента в его молекуле создаются новые ковалентные связи, в частности между белком и носителем. Препараты иммобилизованных ферментов, полученные с применением химических методов, обладают по крайней мере двумя важными достоинствами.



- Во-первых, ковалентная связь фермента с носителем обеспечивает высокую прочность образуемого конъюгата. При широком варьировании таких условий, как рН и температура, фермент не десорбируется с носителя и не загрязняет целевых продуктов катализируемой им реакции. Это особенно важно при реализации процессов медицинского и пищевого назначения, а также для обеспечения устойчивых, воспроизводимых результатов в аналитических системах.
- Во-вторых, химическая модификация ферментов способна приводить к существенным изменениям их свойств, таких как субстратная специфичность, каталитическая активность и стабильность.

Применение иммобилизованных ферментов

Лучшим примером процесса, в котором успешно используются иммобилизованные ферменты, является производство кукурузного сиропа с высоким содержанием фруктозы.



Первым иммобилизованным ферментом, примененным в промышленном масштабе, была аминоксилаза. Она была использована в Японии в 1969 г. для производства аминокислот, добавляемых в корм животных. На мировом рынке эта продукция пользуется большим спросом.

Другой пример использования иммобилизованных ферментов — производство полусинтетических пенициллинов из природных пенициллинов. Иммобилизованный фермент химически модифицирует одну из боковых групп молекулы пеницилина, что приводит к повышению антибиотической активности пенициллинов.



Большой рынок сбыта занимают тромболитические ферменты, предназначенные для борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Так был внедрен препарат «стрептодеказа», содержащий стрептокиназу – активатор предшественника протеиназы плазмينا, предотвращающий образование тромба в кровеносной системе.

Спасибо за внимание.
