

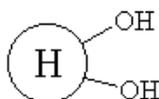
Задача 15

Иммобилизация ферментов

Иммобилизация (закрепление) ферментов используется для получения биологических катализаторов с новыми свойствами (повышенная стабильность и каталитическая активность, измененная субстратная специфичность и т.п.). В подавляющем большинстве случаев для этого в систему вводят новый компонент – носитель. Способы иммобилизации можно разделить на две группы: физические (без образования ковалентных связей фермент – носитель) и химические (с образованием ковалентных связей фермент – носитель).

Распространенным носителем являются полисахариды (целлюлоза, агароза, хитозан и прочие). Поскольку гидроксильные группы не способны быстро образовывать ковалентные связи с белком, полисахаридные носители необходимо сначала активировать. Активация заключается в химической модификации гидроксильных групп, находящихся на поверхности носителя, и приводит к появлению электрофильных групп, которые затем легко вступают в реакции с нуклеофильными группами на поверхности белка. Полисахариды очень часто активируют бромцианом (BrCN), в результате чего первоначально образуется производное А.

1. Приведите формулу промежуточного соединения А, полученного при обработке некоторого полисахарида недостатком бромциана, и название образовавшейся в нем функциональной группы. Используйте для носителя следующее обозначение:



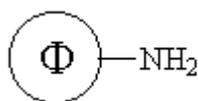
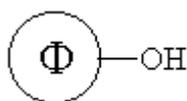
Производное А обладает очень высокой реакционной способностью и превращается в менее активное, но пригодное для последующего взаимодействия с белком соединение Б и непригодное для этой цели соединение В.

2. Приведите формулы производных Б и В и названия появившихся в них в ходе их образования из А функциональных групп. Учтите при этом, что процесс активации протекает в водном растворе, а гидроксильные группы носителя расположены близко друг к другу.

Нуклеофильные группы на поверхности белка, способные к взаимодействию с активированным носителем – это гидроксильные и аминокислотные боковые радикалы (SH-группы для взаимодействия с носителем не годятся).

3. Приведите формулы боковых радикалов канонических аминокислот, которые содержат в своем составе гидроксильные и аминокислотные группы. Приведите тривиальные названия этих аминокислот.

4. Приведите формулы продуктов взаимодействия производного Б с OH- и NH₂-группами фермента и названия образовавшихся функциональных групп, связывающих остатки носителя и фермента. Используйте следующие обозначения (если нужно, пририсовывайте к ферменту более одной OH- или NH₂-группы):



5. При иммобилизации сначала активируют носитель, а уже затем активированный носитель взаимодействует с белком. Какие побочные продукты могут образоваться в системе, если носитель, фермент и бромциан поместить в систему одновременно?

6. Для повышения эффективности иммобилизации бромциан иногда предварительно обрабатывают 1 эквивалентом триэтиламина. Это предпринимают для:

- I. Повышения реакционной способности активирующего агента**
- II. Понижения реакционной способности активирующего агента**
- III. Повышения выхода иммобилизованного фермента**
- IV. Предотвращения инактивации фермента при экстремальных значениях рН**
- V. Повышения значения рН, при котором оптимально проводить активацию**
- VI. Понижения значения рН, при котором оптимально проводить активацию**
- VII. Повышения электрофильности циановой группировки**
- VIII. Понижения электрофильности циановой группировки**
- IX. Повышения нуклеофильности циановой группировки**
- X. Понижения нуклеофильности циановой группировки**

Выберите из приведенных выше ответов правильные и укажите их номера в ответе

7. Приведите схемы реакции

А) бромциана с триэтиламином

Б) полисахаридного носителя с таким модифицированным активатором.

При связывании фермента с полисахаридным носителем, активированным BrCN, экспериментаторы стараются избегать значительного избытка фермента (по отношению к активированным группам) и длительного проведения данной реакции.

8. Объясните причины такого подбора условий. Проиллюстрируйте свои рассуждения примером реакции, возможной при несоблюдении данных условий.