**Гладилин, Александр Кириллович.**

## Принципы конструирования биокаталитических систем на основе полиэлектролитов в среде органических растворителей : диссертация ... доктора химических наук : 02.00.15. - Москва, 1999. - 227 с.

## Оглавление диссертациидоктор химических наук Гладилин, Александр Кириллович

Список сокращений

1. Введение

2. Обзор литературы

2.1. Понятие стабильности ферментов

2.2. Стабильность ферментов в органических средах

2.3. Подходы к стабилизации ферментов в органических 37 средах

2.4. Обращенные мицеллы полимерных ПАВ

2.4.1. Выбор полимера, способного к мицеллообразованию

2.4.2. Получение и свойства полимерных ПАВ

2.4.3. Системы обращенных мицелл полимерного ПАВ

2.5. Нековалентные комплексы полиэлектролитов

2.5.1. Интерполиэлектролитные комплексы

2.5.2. Белок-полиэлектролитные комплексы

2.5.3. Каталитические свойства и стабильность ферментов в 73 комплексе с полиэлектролитом

3. Постановка задачи

4. Выбор объектов исследования

5. Основные методы

5.1. Синтез полимерного ПАВ (ЦЭПЭИ)

5.2. Определение кислотности цэпэи и ее регуляция

5.3. Приготовление раствора обращенных мицелл 84 полимерного ПАВ

5.4. Измерение размеров обращенных мицелл полимерного 85 ПАВ

5.5. Измерение каталитической активности ферментов

5.6. Стабильность ферментов в системе обращенных мицелл 86 полимерного ПАВ

5.7. "Сухой комплекс" фермента с полимером

5.8. Ферментативный гидролиз бтна в мембранном реакторе

5.9. Приготовление комплексов ферментов с 89 полиэлектролитами для использования в гомогенных биокаталитических системах

5.10. Изучение комплекса ХТ с ПБ методом флуоресцентной 91 спектроскопии с использованием эозина

5.11. Седиментационный анализ комплексов ХТ и ПВП

5.12. Каталитическая активность препаратов хт в гомогенных 92 водно-органических смесях

5.13. Каталитическая активность препаратов трипсина в 95 гомогенных водно-органических смесях

5.14. Каталитическая активность препаратов ПРХ в 96 гомогенных водно-органических смесях

5.15. Ацилирование аминогрупп ХТ

5.16. Восстановительное алкилирование аминогрупп ХТ 99 глицериновым альдегидом

5.17. Определение степени модификации препаратов ХТ

5.18. Определение концентрации активных центров в 100 препаратах ХТ

5.19. Флуоресцентная спектроскопия

5.20. Спектроскопия кругового дихроизма

5.21. Вторая производная уф спектров белка

5.22. Твердофазный иммуноферментный анализ в водно- 102 органических средах

5.23. Приготовление и исследование биосенсора на этанол

5.24. Приготовление суспензий препаратов ферментов

5.25. Приготовление растворов для проведения реакции 104 пептидного синтеза Ы-ацетил-Ь-тирозин-Ь-лизинамида

5.26. Приготовление растворов для проведения реакции 105 пептидного синтеза этилового эфира Ы-ацетил-Ь-тирозил-Ь-лейцина

5.27. Определение каталитической активности суспензий 105 препаратов ХТ в средах с высоким содержанием органического растворителя

6. Результаты и обсуждение

6.1. Обращенные мицеллы полимерного ПАВ

6.1.1. Синтез полимерного ПАВ и оптимизация системы.

6.1.2. Свойства ферментов, включенных в обращенные 114 мицеллы полимерного ПАВ

6.1.2.1. Влияние рН на каталитические параметры 114 ферментов

6.1.2.2. Влияние концентрации воды на каталитические 118 параметры ферментов

6.1.2.3. Стабильность ферментов в системе обращенных 119 мицелл полимерного ПАВ

6.1.3. "Сухой комплекс" ХТ-ЦЭПЭИ

6.1.4. Катализ ХТ, включенным в обращенные мицеллы 124 полимерного ПАВ, в мембранном реакторе

6.2. Гомогенные биокаталитические системы

6.2.1. Кинетические эффекты комплексообразования

6.2.2. Область существования фёрмент-полиэлектролитных 131 комплексов в гомогенных водно-органических смесях

6.2.2.1. Метод скоростной седиментации

6.2.2.2. Метод флуоресцентной спектроскопии

6.2.3. Природа взаимодействий фермента с 136 полиэлектролитом в водно-органических смесях

6.2.4. Факторы, определяющие наличие и величину 137 кинетических эффектов комплексообразования

6.2.4.1. Природа органического растворителя

6.2.4.2. Состав и свойства водной фазы

6.2.4.3. pH-Эффекты

6.2.4.4. Природа полиэлектролита и его содержание в 140 системе

6.2.4.5. Природа фермента

6.2.4.6. Природа субстрата

6.2.5. Молекулярные причины кинетических эффектов 162 комплексообразования

6.2.5.1. Флуоресцентная спектроскопия

6.2.5.2. Спектроскопия кругового дихроизма

6.2.5.3. Вторая производная УФ спектра белка 168 6.3. Гетерогенные белок-содержащие системы

6.3.1. Стабилизация антител

6.3.2. Оптимизация фермент-содержащего покрытия 176 электрода

6.3.3. Фермент-полиэлектролитные комплексы как 178 катализаторы пептидного синтеза

6.3.3.1. Комплексы ХТ с полиэлектролитами как 179 катализаторы синтеза этилового эфира М-ацетил-L-тирозил-1-лейцина

6.3.3.2. Двойные комплексы ХТ с полиэлектролитами как 187 катализаторы синтеза М-ацетил-1-тирозил-1-лизинамида Выводы 190 Список литературы

Список сокращений

АДГ - алкогольдегидрогеназа

БАНА - /7-нитроанилид Ы-бензоил-Ь-аргинина

БТЭЭ - этиловый эфир Ы-бензоил-Ь-тирозина

БТНА - п-нитроанилид Ы-бензоил-1-тирозина

ДМСО - диметилсульфоксид

ДМФА - Ы.Ы-диметилформамид

ГЛБ - гидрофильно-липофильный баланс глиц-ХТ - сс-химотрипсин, ковалентно модифицированный глицериновым альдегидом КД - спектроскопия кругового дихроизма МУТМАК - 4-метилумбеллиферил п-триметилциннамат хлорид аммония ПА - полианион

ПАВ - поверхностно активное вещество

ПАК - полиакриловая кислота

ПАС - полианетолсульфат

ПВП - N-алкилированный поли-4-винилпиридин

ПВС - поливинилсульфат

ПБ - полибрен (3,6-ионен) пир-XT - а-химотрипсин, ковалентно модифицированный пиромеллитовым ангидридом ПК - поликатион ПРХ - пероксидаза хрена ПЭ - полиэлектролит ПЭИ - полиэтиленимин трис-ХТ - а-химотрипсин, ковалентно модифицированный трис(гидроксиэтил)аминометаном УФ - ультрафиолетовый XT - а-химотрипсин

ЦЭПЭИ - полиэтиленимин, модифицированный цетил- и этилбромидом янт-ХТ - а-химотрипсин, ковалентно модифицированный янтарным ангидридом

CHES - 2-[М-циклогексиламино]-этансульфоновая кислота CsA - циклоспорин А

MOPS - 3-[Ы-морфолино]-пропансульфоновая кислота