**Киселев, Максим Всеволодович.**

## Получение и использование магнитных частиц для стабилизации белков в водно-органических смесях : На прим. моноклон. антител и α-химотрипсина : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.10. - Москва, 1999. - 107 с

## Оглавление диссертациикандидат химических наук Киселев, Максим Всеволодович

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 6 1.1 Белки в водно-органических смесях б

1.1.1 Неспецифические взаимодействие фермента и 6 органического растворителя

1.1.2 Специфические взаимодействия белков с 12 органическими растворителями

1.2. Методы стабилизации белков к инактивации в водно- 15 органических системах

1.2.1 Иммобилизация белков

1.3 Магнитные носители для иммобилизации белков

1.3.1 Магнитные материалы

1.3.2 Способы синтеза мелкодисперсных магнитных частиц

1.4 Физико-химические характеристики взаимодействия 26 белок-лиганд

1.4.1 Способы расчета параметров связывания

1.4.2 Анализ графиков в координатах Скетчарда

1.4.3 Анализ нелинейных графиков в координатах Скетчарда

1.5 Характеристика циклоспоринов 32 1.5.1. Общие сведения о цикпоспоринах

1.5.2 Фармакодинамика циклоспорина А

1.5.3 Фармакокинетика циклоспорина А

1.5.4 Метаболизм и элиминирование циклоспорина А

1.5.5 Методы анализа циклоспоринов

2. ВЫВОДЫ ИЗ ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ И ПОСТАНОВКА 44 ЗАДАЧИ

3. ВЫБОР ОБЪЕКТОВ

4. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 47 4.1. Материалы

4.1.1 Реактивы

4.1.2 Приборы и материалы

4.2 Методы

4.2.1 Получение суспензии мелкодисперсного магнетита

4.2.2 Получение покрытий магнитных частиц

4.2.3 Рентгенофазовый анализ

4.2.4 Интерференционная микроскопия

4.2.5 Квазиупругое рассеяние лазерного света

4.2.6 Активация полимерных покрытий магнитных частиц

4.2.7 Иммобилизация антител на частицах

4.2.8 Определение активности иммобилизованного а- 53 химотрипсина

4.2.9 Активация циклоспорина С

4.2.10 Получение конъюгата активированного циклоспорина 54 С с флуоресцеин- гексаметиледиамином

4.2.11 Получение конъюгата активированного циклоспорина 55 СсБСА

4.2.12 Методика проведения твердофазного 55 иммуноферментного анализа

4.2.13 Методика проведения иммунофлуоресцентного 56 анализа с использованием магнитных частиц

4.2.14 Экстракция циклоспорина А из крови пациентов

4.2.15 Определение концентрации циклоспорина А в 57 экстракте из крови пациентов

5. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

5.1 Получение мелкодисперсного магнетита

5.2 Получение покрытий магнитных частиц

5.2.1 Гидроксиапатитное покрытие

5.2.2 Покрытие из окиси титана (IV)

5.2.3 Получение ПЭИ покрытия

5.2.4 Покрытие из поперечно-сшитого ПАА

5.3 Активация полимерных покрытий магнитных частиц 71 5.4. Иммобилизация белков на поверхности частиц

5.4.1 Иммобилизация на неорганических покрытиях

5.4.2 Иммобилизация на полимерных покрытиях

5.5. Свойства а-химотрипсина, иммобилизованного на 74 магнитных частицах

5.6. Стабильность иммобилизованного а-химотрипсина в 76 водно-этанольных смесях

5.7 Свойства антител, иммобилизованных на магнитных 84 частицах

5.8. Разработка метода иммуноанализа циклоспорина А в 87 этанольных экстрактах крови пациентов

5.8.1 Получение конъюгатов для иммуноанализа

5.8.2.Выбор концентрации органической компоненты

5.8.3 Подбор условий экстракции циклоспорина А из 91 образцов крови

5.8.4 Построение градуировочной зависимости

5.8.5 Сравнение с существующими методами

6. ВЫВОДЫ

7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ