

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Выполнила студентка группы Ф-51
Толстокорова Надежда

ИММОБИЛИЗАЦИЯ — это ограничение подвижности молекул ферментов, их конформационных перестроек.

Этот процесс основан на физико-химических принципах позволяющих закрепить структуру фермента так, чтобы активный центр его молекулы был активен длительное время.

ЗАДАЧИ БИОТЕХНОЛОГИИ ФЕРМЕНТОВ

1. Управление процессами путём прямого воздействия на катализатор;
2. Поиск приёмов и подготовка более стабильных форм биокатализаторов;
3. Создание иммобилизованных ферментов;
4. Основная задача при создании иммобилизованных ферментов: образование гетерогенных катализаторов, связанных с определёнными носителями.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

ИСТОРИЯ

- 1916 г. Гриффин Е, Нельсон Дж. провели адсорбцию, прикрепив инвертазу на активированный уголь;
- 1939 г. Пфанмюллер Дж., Шлейх Г. получили первый патент на иммобилизацию ферментов, прикрепив протеолитические ферменты на древесные опилки;
- 1951 г. Кембелл прикрепил фермент на целлюлозу;
- 1953 г. Грубхофер Н., Шлейт Д. нанесли на нерастворимый носитель пепсин, амилазу, РНК-азу;
- 1969 г. в Японии налажено производство L-аминокислот;
- 1970 г. Вайсман Дж., Сесс Дж. применили липосомы;
- 1971 г. состоялась 1-я конференция по инженерной энзимологии в США, где был узаконен термин иммобилизованные ферменты;
- 1973 г. запуск промышленных установок для производства глюкозофруктозных сиропов.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ФЕРМЕНТОВ

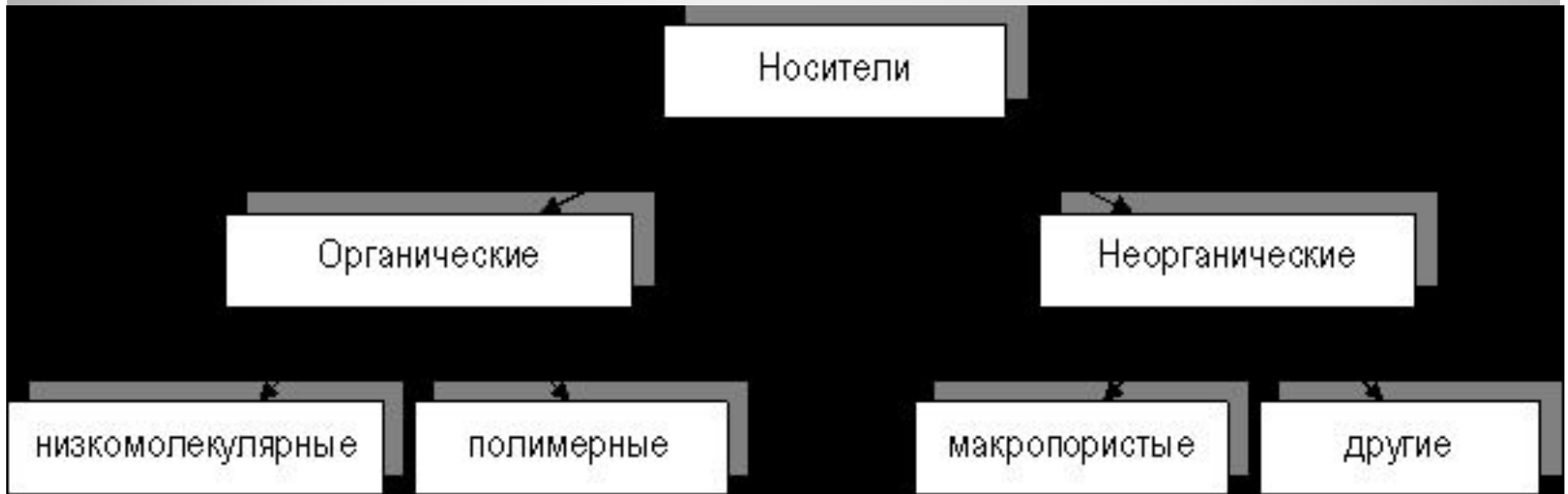
1. Ткани животных как отход мясоперерабатывающей промышленности (прежде всего, это богатые ферментами поджелудочная железа и слизистая оболочка желудка);
2. Некоторые растения (например, такие гидролитические ферменты, как папаин и рицин извлекают соответственно из сока дынного дерева и инжирного дерева из ячменя – амилазу;
3. Микроорганизмы.

ЭТАПЫ

Приготовление биотехнологических препаратов иммобилизованных ферментов, сводится к 2-м этапам:

1. Получение собственно фермента — очистка из биологического материала, применение убитых или живых клеток;
2. Наличие носителя и прикрепление фермента.

КЛАССИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ ДЛЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ



Органические – природные полимеры:

- полисахаридные (крахмал, целлюлоза-бумага, агароза-биогель, декстран, хитин, альгинат), липидные, белковые (гели - белки коллаген, желатин)

Синтетические полимеры могут быть в виде волокон, гранул, трубок; по составу это:

- производные целлюлозы, ДЭАЭ-целлюлоза, КМ-целлюлоза, нейлон, полистирол, полиэтилен, гели (полиакриламид), сефадексы; липосомы, акриловая кислота, N -винилпирролидон (полиамидная кислота), полиуретан

Неорганические:

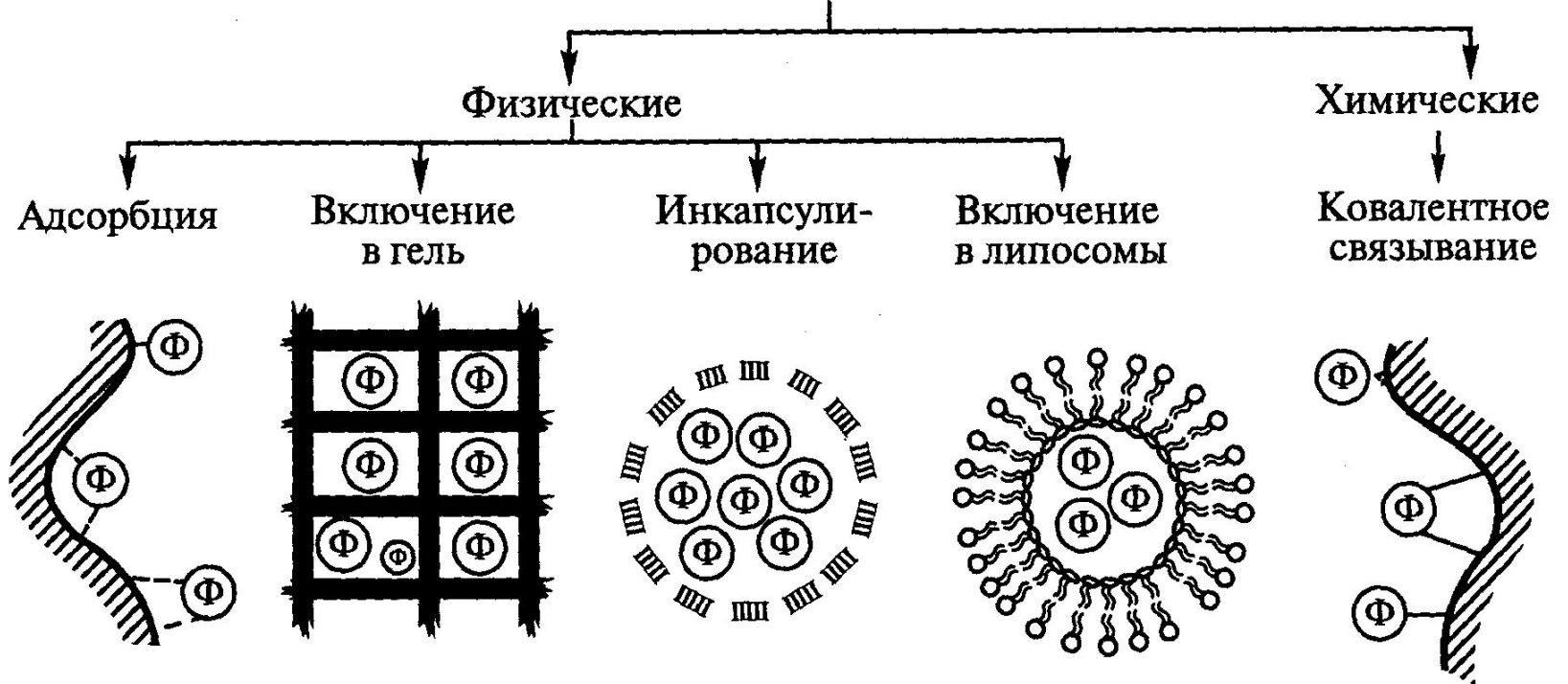
- стекло, гидроокись алюминия, титана, циркония, железа, глина, стекло, керамика, песок, силикагель, цеолиты, алюмосиликаты, металлы и их оксиды

ТРЕБОВАНИЯ

Носитель должен быть:

- абсолютно нерастворим
- механически прочным
- химически стойким
- иметь высокую внутреннюю поверхность
- проницаем для субстрата и продукта реакции

Методы иммобилизации ферментов



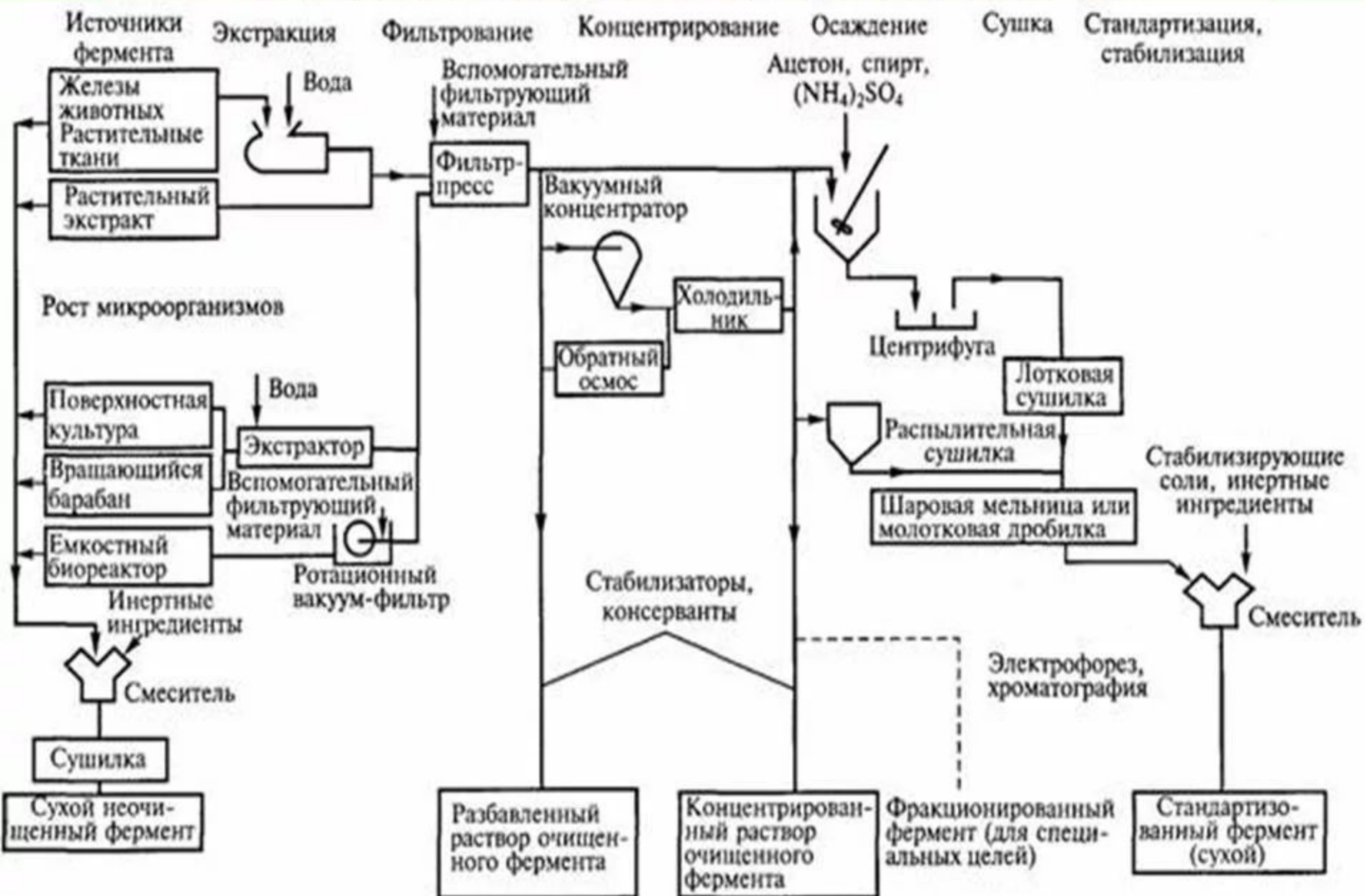
Физическая иммобилизация ферментов представляет собой включение фермента в такую среду, в которой для него доступной является лишь ограниченная часть общего объема. При физической иммобилизации фермент не связан с носителем ковалентными связями.

Существует четыре типа связывания ферментов:

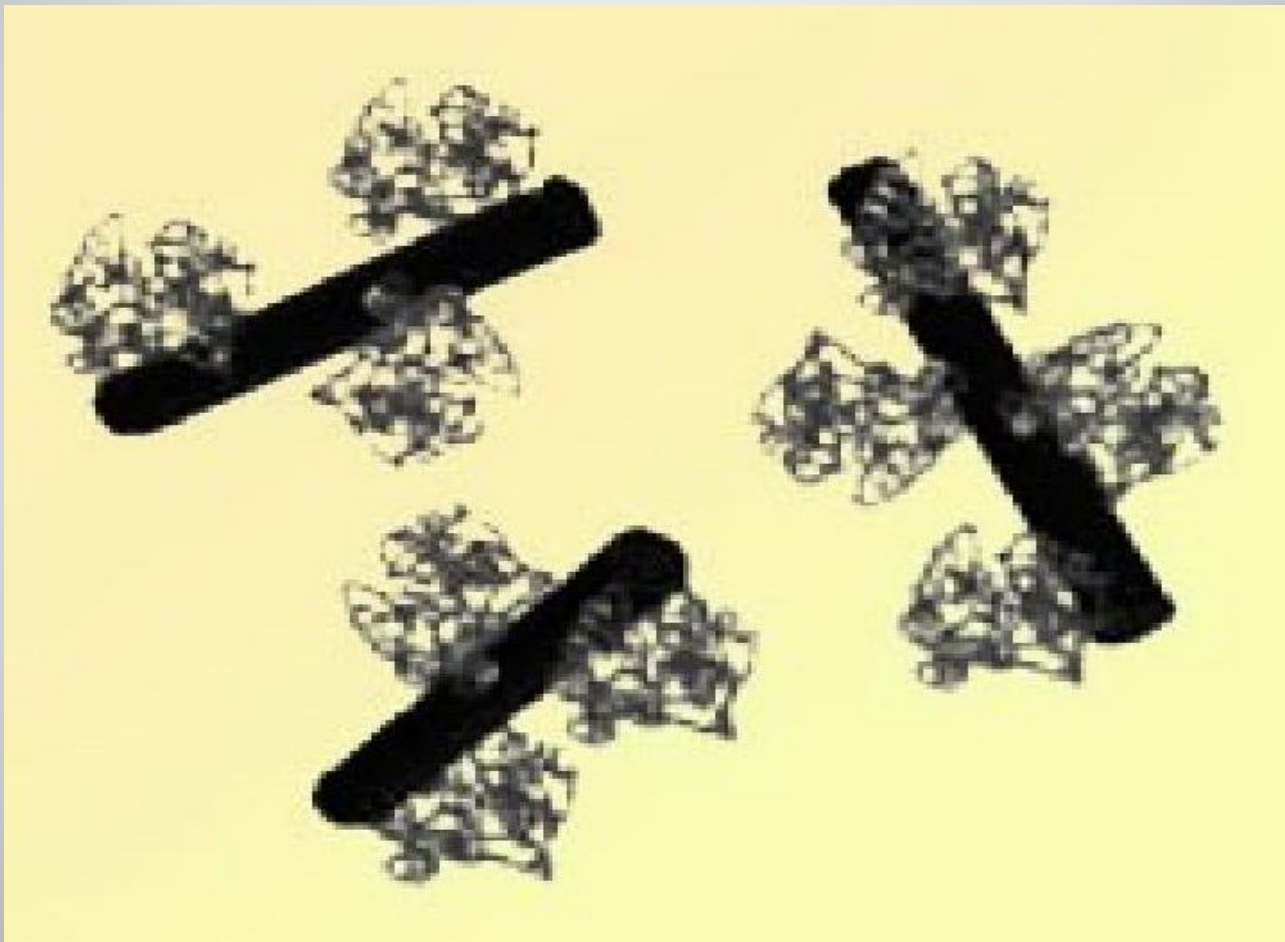
- адсорбция на нерастворимых носителях;
- включение в поры геля;
- пространственное отделение фермента от остального объема реакционной системы с помощью полупроницаемой перегородки (мембраны);
- включение в двухфазную среду, где фермент растворим, и может находиться только в одной из фаз.

Химический метод иммобилизации заключается в том, что путем химического взаимодействия на структуру фермента в его молекуле создаются новые ковалентные связи между белком и носителем.

Принципиальная технологическая схема получения ферментов



ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ НА ПОВЕРХНОСТИ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК



РЕАКТОРЫ ДЛЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ ФЕРМЕНТОВ

Биокаталитические системы существуют в биореакторе в виде неподвижной фазы, через которую протекает среда с субстратом. Это *циркуляционные реакторы*, чаще всего колоночного типа — это одностадийный процесс. Если используют целые клетки, то создают многостадийный процесс.

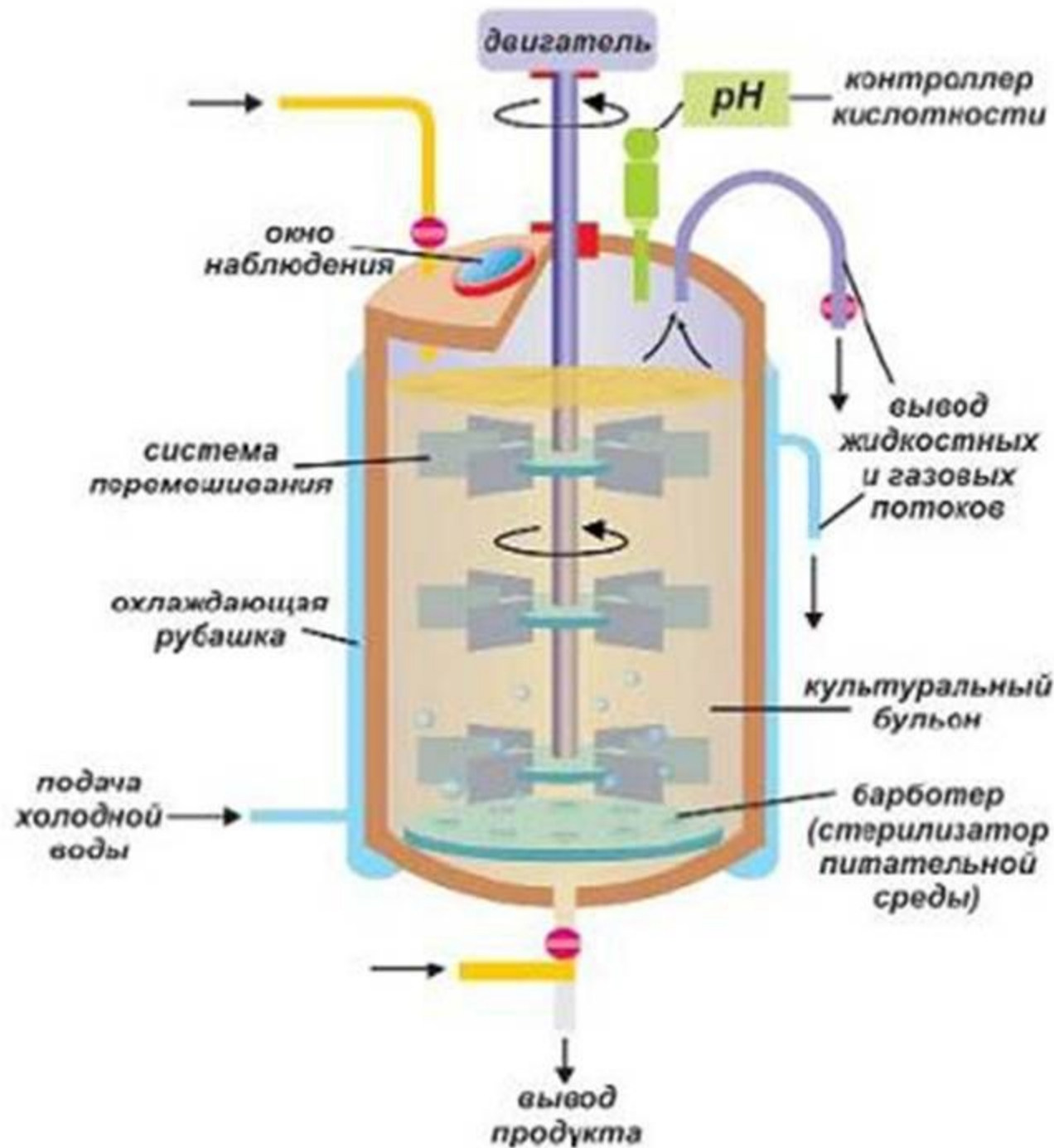
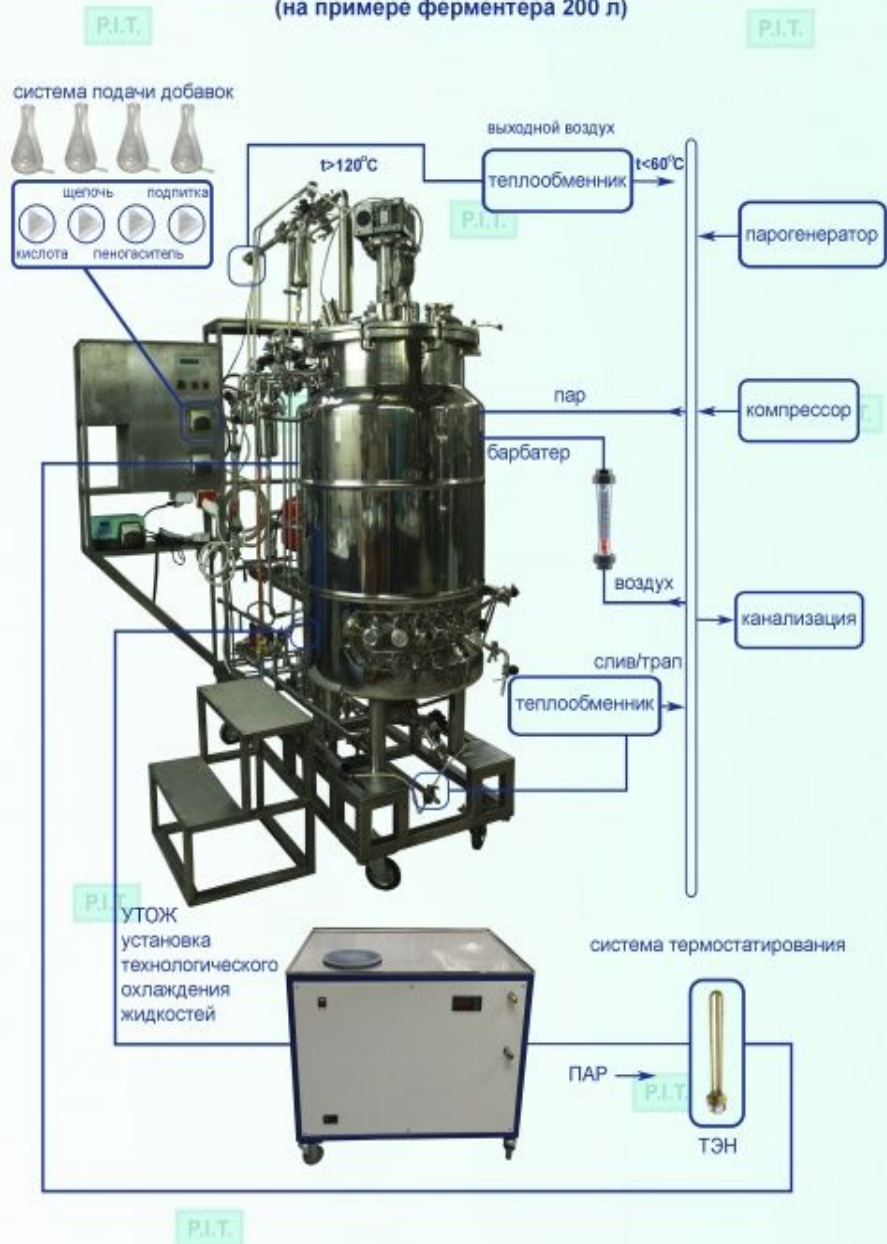


Схема промышленного ферментера (на примере ферментера 200 л)



Образцы промышленных ферментеров



Устройство ферментера.



Биочистка почвы

in situ

- ❖ Очистке почвы от загрязнителя без её удаления из района загрязнения
- ❖ Введении в загрязнённую почву кислорода, ферментов, питательных веществ для стимуляции роста МО и аэробной биodeградации загрязнителей

ex situ

- ❖ Основана на снятии слоя загрязнённой почвы и очистке её за пределами места загрязнения
- ❖ Почву складывают слоем высотой 1-3 метра
- ❖ При этом для аэрации смешивают с рыхлым веществом (соломой)

В процессе ремедиации из-за продувки воздуха происходит испарение из грунта различных веществ, в том числе самого загрязнителя



ОЧИСТКА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ФЕРМЕНТАМИ

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

В пищевой промышленности:

- производство аминокислот (в 1969 г. в Японии из рацемических смесей с помощью аминокорилазы иммобилизованной на ДЭАЭ-целлюлозе);
- производство глюкозо-фруктозных сиропов (в 1973 г. в США глюкоизомеразу применили для крупнотоннажного производства, а в 1980 г. 10% сахара заменено на сироп в Японии и 40 % в США).

Ферменты в фармакологии и здравоохранении:

- производство антибиотиков; с 1974 г. в РФ получают 6-аминопенициллановую кислоту и далее полусинтетические антибиотики производят с помощью иммобилизованных ферментов;
- энзимодиагностикумы, заместительная энзимотерапия, система «искусственная почка».

Производство альтернативных источников энергии:

- биоэтанол и биогаз — благодаря ферментативной конверсии целлюлозы в глюкозу

*Очистка окружающей среды
Ферменты для моющих средств*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в самых различных областях нашей жизни, от медицины до военной промышленности, от переработки пищевых продуктов до микроэлектронных сенсоров используются уникальные способности биологических систем.

В данных условиях на первое место выдвигаются проблемы, связанные с выбором технологически оправданного варианта для решения поставленных задач. Поэтому и возникла идея закрепления фермента или клетки *на* или *в* нерастворимом носителе с целью определения преимущества данного подхода.

Для успешной разработки какого-либо процесса на основе иммобилизованных препаратов необходимо представлять себе совокупность всех имеющихся проблем, хорошо ориентироваться в научной и патентной литературе и знать основные методы создания биокатализатора.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!