

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие редактора перевода	5
Предисловие	7
Примечание издательства	7
Список авторов	8
Список сокращений	9
Введение. И. Д ж. Х и г г и н с	10
Глава 1. Иммобилизованные ферменты: адсорбция и ковалентное присоединение. Джонатан Вудворд	12
1. Введение	12
2. Адсорбция при помощи ионного связывания с ДЭАЭ- и КМ-сепадексом	14
2.1. Подготовка носителя	14
2.2. Адсорбция инвертазной активности	15
2.2.1. Определение активности свободной или растворимой инвертазы	15
2.2.2. Связывание фермента с носителем	15
2.2.3. Активность адсорбированной инвертазы и стабильность связи фермент — носитель	16
3. Адсорбция ферментов на аффинных носителях	18
3.1. Носители аффинного типа	18
3.2. Подготовка носителя и присоединение к нему целлубиазы	19
3.2.1. Определение активности свободной, или растворимой, целлубиазы	19
3.2.2. Активность адсорбированной целлубиазы и стабильность связи фермент — носитель	20
4. Ковалентное присоединение к сепарозе, целлюлозе и поликариламиду	21
4.1. Присоединение целлубиазы к сепарозе, активированной бромцианом	21
4.2. Присоединение инвертазы к микрокристаллической целлюлозе	23
4.3. Присоединение инвертазы к поликариламиду	24
4.3.1. Иммобилизация коммерческого препарата инвертазы на энзакрилах АА и АН	24
5. Свойства адсорбированных и ковалентно связанных ферментов	24
5.1. Максимальная «нагрузка» носителя	25
5.2. Кинетические параметры иммобилизованных ферментов	26
Благодарность	29
Литература	29

Глава 2. Иммобилизация биокатализаторов металлохелатным методом. Джон Ф. Кеннеди и Иоаким М. А. Кабрал	30
1. Введение	30
2. Иммобилизация ферментов металлохелатным методом	31
2.1. Методы иммобилизации ферментов на носителях, активированных переходными металлами	31
2.1.1. Первоначальный вариант металлохелатного метода	31
2.1.2. Химия иммобилизации фермента	31
2.1.3. Свойства ферментов, иммобилизованных металлохелатным методом	33
2.1.4. Проблемы металлохелатного метода	36
2.2. Развитие металлохелатного метода	39
2.2.1. Альтернативные методы активации неорганических носителей	39
2.2.2. Активация носителей белковой природы	40
2.2.3. Активация ионообменных носителей	43
2.2.4. Активация нейлоновых трубок	44
2.3. Поперечное сшивание ферментов, иммобилизованных металлохелатным методом	45
2.3.1. Поперечное сшивание глутаровым альдегидом	45
2.4. Иммобилизация ферментов на носителях, активированных переходными металлами	46
2.5. Иммобилизация ферментов и биомолекул на гидроксидах переходных металлов	48
3. Иммобилизация микробных клеток металлохелатным методом	49
3.1. Иммобилизация клеток микроорганизмов на гидроксидах металлов	50
3.2. Иммобилизация клеток на носителях, активированных переходными металлами	51
Литература	52
Глава 3. Иммобилизация клеток и ферментов включением их в гель. Марек П. Дж. Кирстен и Майкл Н. Кафлен	
1. Введение	53
1.1. Почему иммобилизация?	53
1.2. Применение иммобилизованных ферментов и клеток	54
2. Методы иммобилизации	55
2.1. Общие принципы	55
2.2. Включение ферментов в полиакриламидный гель	56
2.3. Включение клеток в полиакриламидные гели	57
2.4. Включение клеток в гель альгината кальция	58
2.5. Включение клеток в гели κ -караганана	60
2.6. Включение клеток в гели агара	60
2.7. Другие методы включения клеток в гели	61
2.8. Совместное включение ферментов и клеток	61
3. Конструирование реактора	62
Литература	63
Глава 4. Иммобилизация ферментов путем микрокапсулирования. Герберт Э. Клей, Дональд У. Сандрстрим и Донгсеок Шим	65
1. Введение	65
2. Методы микрокапсулирования	66
2.1. Применение микрокапсулирования для ферментов и биохимических систем	66
2.2. Методики эксперимента	68
3. Массоперенос	70
Литература	71

Глава 5. Ферментные электроды. Жорж Ж. Гильбо и Грациано де Оливера Нето	72
1. Введение	72
2. Рабочие параметры электродов	73
3. Экспериментальная часть	79
3.1. Аппаратура	79
3.2. Необходимые материалы	80
3.3. Изготовление электродов	82
3.3.1. Физически удерживаемые ферменты	82
3.3.2. Ковалентно связанные ферменты	84
3.4. Как пользоваться ферментным электродом	86
4. Примеры ферментных электродов	88
4.1. Широко используемые ферментные электроды	88
4.2. Электродные датчики с использованием ферментов в целых клетках микроорганизмов и тканей	93
4.3. Датчики, основанные на взаимодействии антиген — анти-тело	94
4.4. Наличие датчиков в продаже	94
Литература	95
Глава 6. Электрохимические методы с использованием иммобилизованных биоматериалов. Лемюэль Б. Уингард, мл.	96
1. Введение	96
2. Иммобилизация окислительно-восстановительных групп на поверхности электродов	98
2.1. Описание и подготовка носителей	98
2.2. Конкретные методики иммобилизации	99
3. Циклическая вольтамперометрия с использованием иммобилизованных веществ	101
3.1. Описание циклической вольтамперометрии	101
3.2. Прибор и методика	102
3.3. Результаты и интерпретация	103
4. Дифференциальная импульсная вольтамперометрия с использованием иммобилизованных веществ	108
4.1. Метод и аппаратура	108
4.2. Результаты и их интерпретация	108
5. Определение сопротивления массопереносу с помощью врашающихся электродов	109
6. Краткое содержание и выводы	113
Благодарность	114
Литература	114
Глава 7. Иммобилизованные клетки: трансформация стероидов. К. А. Кощекко, Г. В. Суходольская	115
1. Введение	115
2. Материалы и методы, используемые при трансформации стероидов	116
2.1. Δ^1 -Дегидрирование стероидных соединений	117
2.2. Включение в полиакриламидный гель	118
2.2.1. Трансформация стероидов с помощью клеток, включенных в полиакриламидный гель: реакция 1,2-дегидрирования	131
2.2.2. Влияние условий иммобилизации на Δ^1 -дегидрогеназную активность	122
2.2.3. Многократное проведение процесса 1,2-дегидрирования при помощи иммобилизованных клеток <i>A. globiformis</i>	123

2.2.4. Дегидрирование в непрерывных условиях трансформации (реакторы типа 1 и 2)	127
2.3. Включение в альгинат кальция	129
2.4. Включение в κ -каррагинан	130
2.5. Включение в мембрану из поливинилового спирта и другие синтетические мембранны	131
2.6. Включение в фотосщитые полимеры	132
2.7. Включение в агаровый гель и в белковые мембранны	133
2.7.1. Агаровый гель	133
2.7.2. Белковые мембранны	133
2.8. Адсорбция	133
2.8.1. Адсорбция на целлюлозе	135
2.8.2. Адсорбция на крупнопористой керамике	137
2.9. Ковалентное связывание	138
2.10. Сравнительная характеристика методов иммобилизации	139
3. Другие процессы трансформации стероидных соединений	141
3.1. Δ^1 -Восстановление	141
3.2. 20β -Восстановление	142
3.2.1. Периодические трансформации	143
3.2.2. Непрерывные трансформации	144
3.3. 11α -, 11β -Гидроксилирование	151
3.4. Асимметричное 17β -восстановление 3-метокси- $\Delta^{1,3,5(10),9(11)}$ -8, 14-секоэстратетрадиона-14, 17	152
Литература	152
Глава 8. Иммобилизованные растительные клетки: методы получения и способность к биосинтезу. П. Броделиус	154
1. Введение	154
2. Методы иммобилизации растительных клеток	155
2.1. Включение в гель	155
2.1.1. Альгинатные гели	155
2.1.2. κ -Каррагинан	158
2.1.3. Агар/агароза	158
2.1.4. Полиакриламид	159
2.1.5. Другие носители	161
2.1.6. Иммобилизация в мембратах	161
2.2. Адсорбция	161
2.3. Ковалентное связывание	162
3. Жизнеспособность иммобилизованных растительных клеток	162
3.1. Окрашивание	162
3.1.1. Флуоресцеиндиацетат	162
3.1.2. Карбол-фуксин	163
3.2. Дыхание	163
3.3. Рост и деление клеток	164
4. Способность иммобилизованных растительных клеток к биосинтезу	164
4.1. Биоконверсия	165
4.1.1. 12β -Гидроксилирование	165
4.1.2. Восстановление двойной связи	166
4.2. Синтез из предшественников	168
4.3. Синтез de novo	169
4.3.1. Индолсодержащие алкалоиды	170
4.3.2. Антрациноны	170
5. Экскреция продукта из клеток	171
5.1. Внеклеточные продукты	171
5.2. Внутриклеточные продукты	171
5.2.1. Спонтанная экскреция продукта	171
5.2.2. Индуцированная экскреция продукта	172

6. Заключение	174
Литература	175
Глава 9. Использование иммобилизованных клеток млекопитающих для количественного и качественного определения гормонов. Стефан П. Бидей	177
1. Введение	177
1.1. Иммобилизованные клетки млекопитающих	177
1.2. Биотест: общие представления	179
2. Иммобилизованные клетки в качестве тканей-мишеней в биотестах	181
2.1. Подложки для иммобилизации клеток	181
2.2. Иммобилизация клеток	182
2.3. Свойства клеток после иммобилизации	183
2.4. Выбор клеток-мишеней для биотестов	184
2.5. Выбор соответствующего ответа клеток	185
3. Получение и иммобилизация изолированных клеток	188
3.1. Получение из целых тканей клеток, чувствительных к действию гормона	188
3.1.1. Измельчение и ферментативное разрушение тканей	189
3.1.2. Определение выхода и жизнеспособности клеток	191
3.2. Иммобилизация клеток в виде монослоев	191
3.2.1. Получение повторов культур	191
3.2.2. Обработка клеток после иммобилизации	192
4. Обработка иммобилизованных клеток тестируемыми стимулаторами	192
4.1. Проведение биотеста: основные принципы	192
4.2. Практические методики биотестирования	195
4.3. Оценка ответа клеток	195
5. Практическое применение метода: биотестирование тиреотропного гормона (ТТГ) с помощью иммобилизованных клеток щитовидной железы человека	197
5.1. Выделение и иммобилизация клеток	198
5.2. Биотестирование тиреотропного гормона (ТТГ)	199
5.3. Анализ кривой доза — ответ	201
6. Контроль за проведением биотеста	202
6.1. Необходимость контроля при проведении биотеста	203
6.2. Простейшая схема контроля за проведением биотеста	203
7. Рекомендуемые поставщики реактивов и оборудования для культивирования клеток	205
7.1. Оборудование для культивирования (стекло)	205
7.2. Одноразовые пластмассовые принадлежности и реактивы для культивирования	205
Литература	205
Предметный указатель	206