



УДК 577.112:543.544

МОДИФИЦИРОВАНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ НОСИТЕЛЕЙ
ДЛЯ СИНТЕЗА БИОСПЕЦИФИЧЕСКИХ СОРБЕНТОВ*Кадушевичюс В. А., Суджювене О. Ф., Песлякас И. И.**Всесоюзный научно-исследовательский институт
прикладной энзимологии, Вильнюс*

Предложен метод модифицирования макропористых силикагелей — силохромов — растворимыми декстранами, включающий активирование носителя γ -аминопропилтриэтоксисилоаном, присоединение активированного эпихлоргидрином декстрана, термическую обработку и блокирование остаточных аминогрупп ацетилированием. Модифицированный таким образом носитель обладает минимальной неспецифической сорбцией белков и используется для получения сорбентов с групповой специфичностью, содержащих иммобилизованные красители. Показано, что полученные сорбенты могут быть успешно использованы для очистки коферментзависимых ферментов.

В последнее время для хроматографии белков и ферментов возрастающую популярность приобретают сорбенты на основе неорганических носителей, позволяющих получать структуры, более эффективные по массообмену и массопереносу, чем традиционные сорбенты на органической основе [1]. Главным недостатком неорганических носителей являются неспецифическая сорбция биологически активных веществ основного характера [2], в том числе белков, преимущественно нейтральных и основных [3], и возможность их денатурации на поверхности носителя. Чтобы исключить денатурацию и снизить неспецифическую сорбцию белков, неорганические носители модифицируют кремнийорганическими соединениями, содержащими алифатические спирты, так называемые гликофазы [1, 4, 5], или покрывают поверхность носителя слоем полимера [6—8]. Нам разработан метод модифицирования неорганических носителей — макропористых силикагелей — γ -аминопропилтриэтоксисилоаном с последующим присоединением активированного эпихлоргидрином декстрана, термической обработкой носителя и блокированием остаточных аминогрупп ацетилированием. Такой метод модифицирования создает возможность формирования покрытия из биологически совместимого с белками декстрана, который может пришиваться к аминсилохрому ковалентной связью.

В качестве исходных носителей были выбраны близкие по своим характеристикам макропористые силохромы С-80 (удельная поверхность 70—90 м²/г, радиус пор 250—400 Å) и СХ-2,5 (60—80 м²/г, 330—610 Å), сочетающие достаточно большую удельную поверхность и размеры пор для проникновения макромолекул. Среди опробованных методов модифицирования аминсилохромов растворимыми декстранами — активирование аминсилохрома эпихлоргидрином и пришивка к нему декстрана при рН 11,5, пикублирование аминсилохрома в растворе декстрана при рН 11,5 и последующая его пришивка при 78° С посредством эпихлоргидрина и, наконец, активирование декстрана эпихлоргидрином (2 ч, 30° С) с последующим его присоединением к аминсилохрому (3 ч, 78° С) — только последний приводит к повышению количества присоединенного декстрана с молекулярной массой 20 000—500 000 от 0,4—2,0 до 8—13 мг/г носителя. Оптимизация условий модифицирования этим методом была осуществлена на примере аминсилохрома СХ-2,5 с содержанием аминогрупп 300 мкмоль/г и декстрана с молекулярной массой 40 000 (табл. 1, 2).

Из результатов, представленных в табл. 1, 2, видно, что на эффективность модифицирования носителя наиболее существенное влияние оказывает концентрация декстрана. Так, ее повышение от 3,4 до 10% вызывает

Таблица 1

Зависимость количества декстрана с M 40 000, присоединенного к аминоксилохрому СХ-2,5, от концентрации NaOH
Концентрация декстрана 3,4%, эпихлоргидрина 0,6 М

Концентрация, NaOH, М	Количество присоединенного декстрана, мг/г носителя
0,13	11,7
0,24	8,3
0,49	16,1
0,73	18,2
0,99	21,6
1,18	16,6

Таблица 2

Зависимость количества декстрана с M 40 000, присоединенного к аминоксилохрому СХ-2,5, от концентрации декстрана в реакционной смеси 0,5 н. NaOH, 0,6 М эпихлоргидрин

Концентрация декстрана, %	Количество присоединенного декстрана, мг/г носителя
3,4	16,5
7,0	58,8
10,0	82,9

Таблица 3

Зависимость количества декстрана, присоединенного к аминоксилохрому СХ-2,5, от содержания аминокрупп на носителе и молекулярной массы декстрана

Молекулярная масса декстрана	Количество присоединенного декстрана, мг/г носителя при содержании NH ₂ -групп, мкмоль/г	
	39,3	345
20 000	23,5	45,9
40 000	58,1	62,3
80 000	77,1	92,1
500 000 *	50,0	81,5

* Концентрация декстрана в реакционной смеси 7%, для остальных — 10%.

увеличение количества присоединенного декстрана от 20 до 83 мг/г носителя, что является достаточным для покрытия поверхности носителя. Решающее значение концентрации полимера в процессе модифицирования им неорганического носителя установлено при покрытии неорганических носителей растворимыми полиэтиленiminaми [9].

Различия в количестве декстранов, присоединенных к аминоксилохрому, в зависимости от концентрации аминокрупп более выражено для декстранов малой (20 000) и большой (500 000) молекулярной массы, а для декстранов с M 40 000 и 80 000 при увеличении концентрации аминокрупп почти в 9 раз количество декстрана на носителе увеличивается на 7,2–19,5% (табл. 3). В обеих группах носителей с различным содержанием аминокрупп наблюдается тенденция увеличения количества декстрана на носителе при увеличении его молекулярной массы по крайней мере в ряду декстранов с M 20 000, 40 000 и 80 000.

Оценка эффективности модифицирования силохромов в отношении снижения неспецифической сорбции белков проведена нами в статических условиях (2 ч, 20°С) по альбумину человеческой сыворотки (рI 4,88), гемоглобину (рI 6,80) и цитохрому с (рI 9,2–10,1), т. е. по белкам, изоэлектрические точки которых находятся соответственно при кислых, нейтраль-

Таблица 4

Сорбция и десорбция в статических условиях альбумина (рН 7,1), гемоглобина (рН 8,0) и цитохрома *c* (рН 8,0) на аминоксиллохроме СХ-2,5 (концентрация аминокгрупп 345 мкмоль/г) и его декстран-производных

Носитель	Количество декстрана на носителе, мг/г	Белок	Количество сорбируемого белка, мг/г	Количество десорбируемого белка, мг/г	Десорбция, %	Количество белка, не десорбируемого 1 М NaCl, мг/г	Неспецифическая сорбция %, %
Аминосиллохром СХ-2,5	—	Альбумин	31,5	25,8	81,9	5,7	100
		Гемоглобин	13,5	2,0	14,8	11,5	100
		Цитохром <i>c</i>	4,0	1,3	32,5	2,7	100
Аминосиллохром-декстран <i>M</i> 20 000	45,9	Альбумин	27,8	26,9	96,8	0,9	15,8
		Гемоглобин	4,6	2,5	54,3	2,1	18,3
		Цитохром <i>c</i>	1,8	0,2	11,1	1,6	59,2
<i>M</i> 40 000	62,3	Альбумин	30,6	23,7	77,4	6,9	121,0
		Гемоглобин	5,9	2,6	44,1	3,3	28,7
		Цитохром <i>c</i>	0,6	0,3	50,0	0,3	11,1
<i>M</i> 80 000	92,1	Альбумин	27,5	21,7	78,9	5,8	101,7
		Гемоглобин	3,5	2,3	65,7	1,2	10,4
		Цитохром <i>c</i>	0,5	0,1	20,0	0,4	14,8
<i>M</i> 500 000	81,5	Альбумин	24,3	21,8	89,7	2,5	43,8
		Гемоглобин	3,9	2,1	53,8	1,8	15,6
		Цитохром <i>c</i>	1,3	0,3	23,1	1,0	37,0

* Неспецифическая сорбция — отношение количества белка недесорбируемого 1 М NaCl с модифицированного декстранами и исходного аминоксиллохрома.

Таблица 5

Содержание общих титруемых и первичных аминокгрупп в аминоксиллохроме СХ-2,5 и его декстран-производных

Носитель	Количество декстрана на носителе, мг/г	Содержание аминокгрупп, мкмоль/г	
		титруемых 5 М HCl	первичных
Аминосиллохром СХ-2,5	—	345,0	273,0
Аминосиллохром-декстран <i>M</i> 20 000	45,9	40,7	13,4
<i>M</i> 40 000	62,3	37,1	12,6
<i>M</i> 80 000	92,1	37,3	0
<i>M</i> 500 000	81,5	43,5	13,5

Таблица 6

Содержание аминокгрупп в аминоксиллохроме С-80 и его модифицированных производных

Носитель	Количество декстрана на носителе, мг/г	Содержание аминокгрупп, мкмоль/г	
		титруемых	первичных
Аминосиллохром С-80	—	162,0	146,4
Аминосиллохром-декстран <i>M</i> 40 000	63,9	37,8	12,0
То же после ацетилирования	63,9	6,9	0

ных и щелочных значениях рН. Как известно [10], исходный силлохром обладает ярко выраженной неспецифической сорбцией альбумина, α -химотрипсина, лизоцима и цитохрома *c*. Указанные белки не десорбируются в интервале значений рН 3,2—7,1, а цитохром *c* сорбируется необратимо. Перевод силлохрома в аминокпроизводное изменяет его адсорбционные свойства и должен исключать необратимость сорбции белков на поверхности носителя [10], однако, как видно из табл. 4, на аминоксиллохроме СХ-2,5 неспеци-

Статическая сорбция белков на аминосилохроме С-80 и его производных

Носитель	Количество декстрана на носителе, мг/г	Белок	Количество сорбированного белка, мг/г	Количество десорбируемого белка, мг/г	Десорбция, %	Количество белка, не десорбируемого 1 М NaCl, мг/г	Неспецифическая сорбция, %
Аминосилохром С-80	—	Альбумин	37,7	23,6	62,6	14,1	100
		Гемоглобин	7,0	2,6	37,1	4,4	109
		Цитохром с	4,5	0,9	20,0	3,6	109
Аминосилохром-декстран М 40 000	63,9	Альбумин	14,4	14,4	100,0	—	0
		Гемоглобин	2,8	1,3	46,4	1,5	34,1
		Цитохром с	3,0	2,8	93,3	0,2	5,5
То же после ацетилирования	63,9	Альбумин	14,2	14,2	100,0	—	0
		Гемоглобин	1,7	1,3	76,5	0,4	9,1
		Цитохром с	0	—	—	—	0

Таблица 8

Статическая сорбция альбумина (рН 7,1) и цитохрома с (рН 8,0) на сорбентах с иммобилизованными красителями (приведена в скобках)

Краситель	Концентрация красителя в сорбенте, мкмоль/г	Количество сорбированного белка, мг/г	Выход десорбции 1 М NaCl, %
Цибакрон голубой F3GA	2,7	26,8(20,7)	84,4(86,9)
Красно-коричневый 2КТ	3,2	27,3(23,4)	25,0(84,8)
Ярко-желтый 53	2,1	16,1(27,9)	45,4(85,6)
Оранжевый 5К	1,2	18,9(22,1)	100,0(89,0)
Красно-коричневый 2К	1,9	13,6(26,6)	100,0(95,4)
Желтый светопрочный 2КТ	3,3	7,8(16,8)	95,0(91,4)

Таблица 9

Статическая сорбция гемоглобина (рН 8,0) на сорбентах с иммобилизованными красителями

Краситель	Количество сорбированного белка, мг/г	Количество десорбируемого белка, мг/г		Общий выход десорбции, %
		1 М NaCl	1 М KSCN	
Цибакрон голубой	18,0	2,2	5,5	42,7
Красно-коричневый 2КТ	29,7	1,8	16,3	60,9
Красно-коричневый 2К	18,4	3,4	8,1	62,5
Желтый светопрочный 2КТ	12,5	2,1	6,5	68,8
Оранжевый 5К	8,6	1,9	4,0	68,6
Ярко-желтый 53	7,9	1,3	5,3	83,5

фическая сорбция белков все же имеет место. Так, если альбумин при рН 7,1 десорбируется 1 М NaCl с выходом 82%, то десорбция гемоглобина и цитохрома с при рН 8,0 затруднена и выход десорбции 1М NaCl составляет соответственно 14,8 и 32,5%. Модифицирование аминосилохрома СХ-2,5 декстранами частично блокирует адсорбционно-активные центры, что способствует повышению десорбции гемоглобина до 44–65% и снижению необратимой адсорбции гемоглобина и цитохрома с. В ряду аминосилохромов, модифицированных декстранами различной молекулярной массы, снижение неспецифической сорбции наиболее четко проявляется для гемоглобина (10–29%) и цитохрома с (11–59%) (неспецифическая сорбция определена как соотношение количества белка недесорбируемого 1 М NaCl с модифицированного декстранами и исходного аминосилохрома).

Сравнение результатов, представленных в табл. 3, 4, показывает, что снижение неспецифической сорбции нейтральных и основных белков связа-

но с количеством присоединенного декстрана и его молекулярной массой. Наиболее эффективно модифицирование аминосилохрома декстраном с M 80 000: его количество, присоединенное к аминосилохрому, максимально — 92 мг/г, а неспецифическая сорбция по гемоглобину и цитохрому с минимальна — 10,4—14,8%. Наличие значительной сорбции альбумина при pH 7,1 на декстран-производных аминосилохрома указывает на присутствие ионогенных центров, в качестве которых могут выступать неблокированные аминогруппы (табл. 5).

В модифицированном декстранами аминосилохроме СХ-2,5 содержится около 5% (12,6—13,5 мкмоль/г) остаточных первичных или 11—13% (37,1—43,5 мкмоль/г) титруемых аминогрупп (табл. 5). Сам факт резкого снижения концентрации титруемых аминогрупп на носителе при его модифицировании декстранами неясен. Так, моделирование условий реакции модифицирования в отсутствие декстрана и эпихлоргидрина на примере аминосилохрома С-80 с содержанием аминогрупп 80 мкмоль/г показало, что по завершении всех стадий остается 69,8 мкмоль/г титруемых аминогрупп (87% от исходного), а моделирование условий в присутствии эпихлоргидрина и отсутствии декстрана показало почти 100%-ное сохранение титруемых аминогрупп.

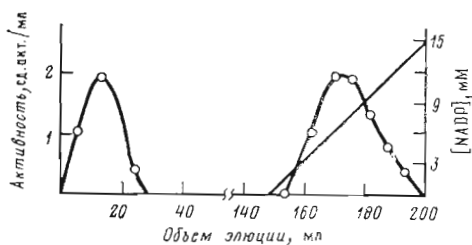
Для исключения действия остаточных аминогрупп в процессе синтеза носителя была включена завершающая стадия ацетилирования, снижающая концентрацию аминогрупп (табл. 6). В результате этой обработки неспецифическая сорбция белков была сведена к минимуму (табл. 7). Выход десорбции альбумина и гемоглобина 1 М NaCl с носителя, полученного на основе аминосилохрома С-80 и декстрана с M 40 000, после стадии ацетилирования составляет соответственно 100 и 76,5%, а цитохром с не сорбируется. Неспецифическая сорбция всего лишь на 9,1% наблюдается для гемоглобина. Однако исследование сорбции всех указанных белков на полученном носителе в динамических условиях — при колоночной хроматографии (в 0,02 М фосфатном буфере) — показало полный колоночный баланс, т. е. отсутствие необратимой адсорбции альбумина (при pH 7,1), гемоглобина и цитохрома с (при pH 8,0), а следовательно, применимость нового носителя как для аналитической, так и для препаративной хроматографии.

Модифицирование аминосилохрома растворимыми декстранами наряду со снижением неспецифической сорбции белков способствует повышению стойкости носителя к действию щелочных растворов, вызывающих его разрушение [11]. Исследование щелочного гидролиза аминосилохрома С-80 и его производного, модифицированного декстраном с M 40 000 при pH 9,1 (0,1 М глицин-NaOH, 25°С) в условиях колоночной хроматографии по скорости выхода в раствор красителя красно-коричневого 2К, присоединенного к обоим носителям, показало, что скорость выхода красителя с декстран-производного аминосилохрома в 4,8 раз ниже, чем с исходного аминосилохрома.

Таким образом, разработанный нами способ модифицирования аминосилохромов растворимыми декстранами обеспечивает возможность использования полученных носителей, как таковых, и для синтеза на их основе сорбентов для очистки ферментов и белков. Укрупненная партия носителя (350 г) синтезирована нами на основе аминосилохрома С-80 и декстрана с M 40 000 и использована для синтеза набора сорбентов с групповой специфичностью на основе иммобилизованных красителей, используемых для очистки коферментзависимых ферментов и фракционирования белков плазмы [12].

Как видно из табл. 8, концентрация вводимого в носитель лиганда-красителя (1,9—3,3 мкмоль/г) сравнима, с учетом присоединенного к аминосилохрому С-80 количества декстрана с M 40 000 (30,4 мг/г), с концентрацией красителя, вводимого в сефарозные матрицы [13]. Сорбенты, содержащие иммобилизованные красители, обладают достаточно высокой сорбционной емкостью по альбумину (7,8—27,3 мг/г) и выходом десорбции 1 М NaCl 25—100% и принципиально пригодны для очистки альбумина человеческой сыворотки [14]. Низкий выход десорбции альбумина с сор-

Кривая элюции глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (пик 2) из дрожжей на сорбенте с иммобилизованным красителем красно-коричневым 2К. Колонка 1,0×3,5 см; 0,02 М трис-HCl-буфер (рН 7,5), содержащий 0,3 М NaCl, 1 мМ EDTA, 0,05 мМ β-меркаптоэтанол. На 1 мл сорбента нанесено 66 единиц активности фермента



бентов на основе красно-коричневого 2КТ (25%) и ярко-желтого 5З (45,4%) не связан с действием носителя и относится к особенностям лигандов-красителей. Так, выход десорбции альбумина с сорбентов на основе сефарозы CL-6В также невысок: 13% для красно-коричневого 2КТ и 6,7% для ярко-желтого 5З. Новые сорбенты обладают высокой сорбционной емкостью по цитохрому *c* (16–27 мг/г) и высоким выходом его десорбции 1 М NaCl (85–95%). Полученные сорбенты прочно сорбируют гемоглобин при рН 8,0 (табл. 9), основная часть которого десорбируется хаотропным агентом — роданистым калием. Общий выход десорбции гемоглобина достигает 61–83%, за исключением сорбента, содержащего цибаكرون голубой F3GA (выход 42,7%). В последнем случае выход десорбции сравним с выходом десорбции гемоглобина при использовании аналога сорбента на основе сефарозы CL-6В (51,5%).

Полученные сорбенты пригодны и для очистки коферментзависимых ферментов. При хроматографии (рисунок) частично очищенной глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы на сорбенте, содержащем иммобилизованный краситель красно-коричневый 2К, фермент специфически десорбируется под действием NADP со 100%-ным выходом активности.

Экспериментальная часть

В работе использованы: силохром CX-2,5, С-80 и аминсилохромы CX-2,5 и С-80 отечественного производства, водорастворимые декстраны с молекулярной массой 20 000 (Ferak, Зап. Берлин), 40 000 (отечественного производства), 80 000 (Polskie Odczyniki Chemiczne, ПНР), 500 000 (LoBa-Chemie, Австрия), γ-аминопропилтриэтоксисилан (Fluka, Швейцария), активные красители красно-коричневый 2КТ, ярко-желтый 5З, оранжевый 5К, красно-коричневый 2К, желтый светопрозрачный 2КТ (отечественного производства), цибаكرون голубой F3GA (Serva, ФРГ), элихлоргидрин, ангидрид уксусной кислоты, фенол, конц. серная кислота (Союзреактив); белки — гемоглобин (Merck, ФРГ), цитохром *c* (Serva, ФРГ), альбумин человеческой сыворотки (Reanal, ВНР), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа из дрожжей (КФ 1.1.1.49), уд. акт. 140 ед. акт./мг (Merck, ФРГ), NADP (Serva, ФРГ).

Силанизирование силохромов γ-аминопропилтриэтоксисиланом проводили по методике [15] с тем различием, что в качестве растворителя использовали ацетон. На 1 г носителя брали 10 мл 10% раствора γ-аминопропилтриэтоксисилана.

Для модифицирования аминсилохромов растворимыми декстранами в 5 мл 10% раствора декстрана в 0,5 М NaOH вводили 0,24 мл элихлоргидрина (конечная концентрация в смеси 0,6 М) и раствор перемешивали 2 ч при 30° С. Затем прибавляли 1 г аминсилохрома, температуру реакционной смеси поднимали до 78° С и перемешивали 3 ч. По завершении реакции носитель отфильтровывали, промывали водой (10 мл на 1 г) и выдерживали 15–20 ч при 100–105° С. Продукт промывали водой, 0,1 М HCl, водой, 0,1 М NaOH, водой и высушивали.

Количественное определение декстранов на носителе проводили по методу Дюбуа [16]. Для каждого декстрана строили калибровочную кривую и для определения 0,02 г модифицированного носителя заливали 1 мл воды, добавляли 5 мл H₂SO₄ (*d* 1,84), смесь выдерживали 30 мин при 30° С, до-

бавляли 1 мл 5% раствора фенола и выдерживали 10 мин при 20° С и 10 мин при 30° С. Носитель отфильтровывали и поглощение фильтрата измеряли при λ 490 нм. В кювету сравнения вводили фильтрат аналогичным образом обработанного немодифицированного носителя.

Определение аминогрупп на носителе проводили его титрованием 5 мМ HCl в 0,2 М NaCl при pH 7,0 на титраторе Т-105 (отечественного производства). Концентрацию первичных аминогрупп на носителе определяли спектрофотометрически с салициловым альдегидом при λ 250 нм [17].

Неспецифическую сорбцию белков определяли в статических условиях. Для этого 0,3 г носителя или сорбента, уравновешенного исходным буфером, заливали раствором белка в 1,5 мл буфера. Суспензию перемешивали 2 ч при комнатной температуре, после чего носитель отфильтровывали и белок десорбировали 1 М NaCl. Статическая сорбция проводилась в 0,02 М фосфатном буфере, pH 7,4 для альбумина и pH 8,0 для гемоглобина и цитохрома с. Исходная концентрация белка 10 мг/мл. Концентрацию белка определяли при λ 280 нм для альбумина, 405 нм для цитохрома с и 410 нм для гемоглобина. Ацетилирование носителей проводили уксусным ангидридом в метаноле по методике [18] при 5-кратном избытке ангидрида по отношению к содержанию аминогрупп.

Присоединение активных красителей к модифицированному носителю проводили согласно общей методике [19]. Концентрацию красителя на сорбенте определяли по разнице между взятым и найденным в промывных растворах его количество с использованием коэффициентов экстинкции при максимуме поглощения для цибакона голубого F3GA (13,6 л·мм⁻¹·см⁻¹; 615 нм), ярко-желтого 53 (17,4; 405 нм), красно-коричневого 2КТ (17,4; 540 нм), оранжевого 5К (21,4; 490 нм), красно-коричневого 2К (13,5; 530 нм), желтого светопрочного 2КТ (24,4; 450 нм).

Хроматографию глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы проводили в 20 мМ трис-HCl-буфере (pH 7,5), содержащем 5 мМ MgCl₂, 1 мМ EDTA, 0,05 мМ β -меркаптоэтанол и 0,3 М NaCl. Для определения активности фермента использовали систему из 2,45 мл 0,1 М глицил-глицин-буфера (pH 8,0), содержащего 0,1 М MgCl₂ и 1,0 мМ EDTA, 0,4 мл 0,02 М глюкозо-6-фосфата и 0,1 мл 7 мМ NADP и 0,05 мл раствора фермента. За единицу активности принимали количество фермента, приводящее к образованию 1 мкмоль NADPH при 30° С за 1 мин.

Авторы приносят благодарность сотрудникам НИОПиК М. Г. Романовой и В. А. Чернышовой за предоставление образцов активных красителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Becker N., Unger K. K. *Chromatographia*, 1979, v. 12, № 8, p. 539–544.
2. Mizutani T., Mizutani A. *Anal. Biochem.*, 1977, v. 83, № 1, p. 216–221.
3. Березин П. В., Антонов В. И., Мартинек К. Имобилизованные ферменты. М.: МГУ, 1976, т. 1, с. 115.
4. Regnier F. E., Noel R. J. *Chromatogr. Sci.*, 1976, v. 14, № 7, p. 316–320.
5. Alfredson T. V., Wehr C. T., Tallman L., Klink F. J. *Liquid Chromatogr.*, 1982, v. 5, № 3, p. 489–524.
6. Darling T., Albert J., Russell P., Albert D. M., Reid T. W. J. *Chromatogr.*, 1977, v. 131, p. 383–390.
7. Кунпер Х. Я., Егоров Х. Р., Кивисилла К. А. Тр. Таллинск. политехн. ин-та, 1979, № 465, с. 33–39.
8. Зубов В. П., Иванов А. Е., Туркин С. И. *Биоорг. химия*, 1982, т. 8, № 7, с. 996–997.
9. Vanecek G., Regnier F. E. *Anal. Biochem.*, 1982, v. 121, № 1, p. 156–169.
10. Ellekov Yu. A., Kiselev A. V., Khokhlova T. D., Nikitin Yu. S. *Chromatographia*, 1973, v. 6, № 4, p. 187–189.
11. Грузинь П. В., Арен А. К., Мелнгаље Р. А. *Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим.*, 1978, № 4, с. 416–421.
12. Песляк С. И., Суджювене О. Ф., Глемжа А. А. *Прикл. биохимия и микробиол.*, 1981, т. 17, № 3, с. 456–471.
13. Angal S., Dean P. D. G. *Biochem. J.*, 1977, v. 167, № 1, p. 301–303.
14. Мизунов В. Н., Готова Т. С., Лялова Т. Д., Позина И. М., Суджювене О. Ф., Кадзуевичюс В. А., Песляк С. И. В сб. тезисов Всес. конф. по перспективам использования биоспецифической хроматографии в технологии производства высокоочищенных ферментов. Вильнюс, 1982, с. 79–80.

15. Ларин В. И., Варламов В. П., Семенова Н. Н., Рогожин С. В. Биохимия, 1980, т. 45, вып. 9, с. 1597-1601.
16. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith P. Anal. Chem., 1956, v. 28, № 3, p. 350-356.
17. Коренман М. М. Фотометрический анализ. М.: Химия, 1975, с. 72.
18. Hirano S., Yamaguchi R. Biopolymers, 1976, v. 15, № 9, p. 1685-1691.
19. Böhme H. J., Kopperschläger G., Schulz J., Hofmann J. J. Chromatogr., 1972, v. 69, № 1, p. 209-214.

Поступила в редакцию
5.I.1983
После доработки
2.II.1983

MODIFICATION OF INORGANIC SUPPORTS FOR THE SYNTHESIS OF BIOSPECIFIC ADSORBENTS

KADUŠEVIČIUS V. A., SUDZHIUVENE O. F., PESLIAKAS J. J.

All-Union Research Institute of Applied Enzymology, Vilnius

The method of modification of porous inorganic supports by water-soluble dextrans has been proposed. It includes activation of the support, i. e. silochromes, by γ -aminopropyltriethoxysilane, coupling of epichlorohydrine activated dextran, thermal treatment, and blocking of residual amino groups by acetylation. The inorganic support modified by the described procedure exhibits minimal non-specific adsorption of proteins and is used for the synthesis of group-specific adsorbents containing immobilized dyes. The possibility of application of such adsorbents for purifying the coenzyme-dependent enzymes is shown.