



生物技术制药

酶工程制药

目 录

- 0 1 概述
- 0 2 酶的分离纯化
- 0 3 酶和细胞的固定化
- 0 4 酶工程在医药领域中应用实例

01

固定化酶的制备





固定化酶的制备

1.固定化酶的定义：

固定化酶是指经物理或化学方法处理，使酶定位于限定的空间区域内，不易随水流失又能发挥催化作用的酶制剂。



固定化酶的制备

2. 固定化酶的特点

具有生物催化剂的功能，又有固相催化剂的功能。

优点

- ① 可多次使用，在多数情况下，酶的稳定性提高
- ② 反应后，酶、底物、产物易分开，产物中无残留酶，易纯化，产品质量高。
- ③ 反应条件易控制，可实现转化反应的连续化和自动控制。
- ④ 酶的利用效率高。单位酶催化的底物量增加，用酶量减少。
- ⑤ 比水溶性酶更适合于多酶反应。



固定化酶的制备

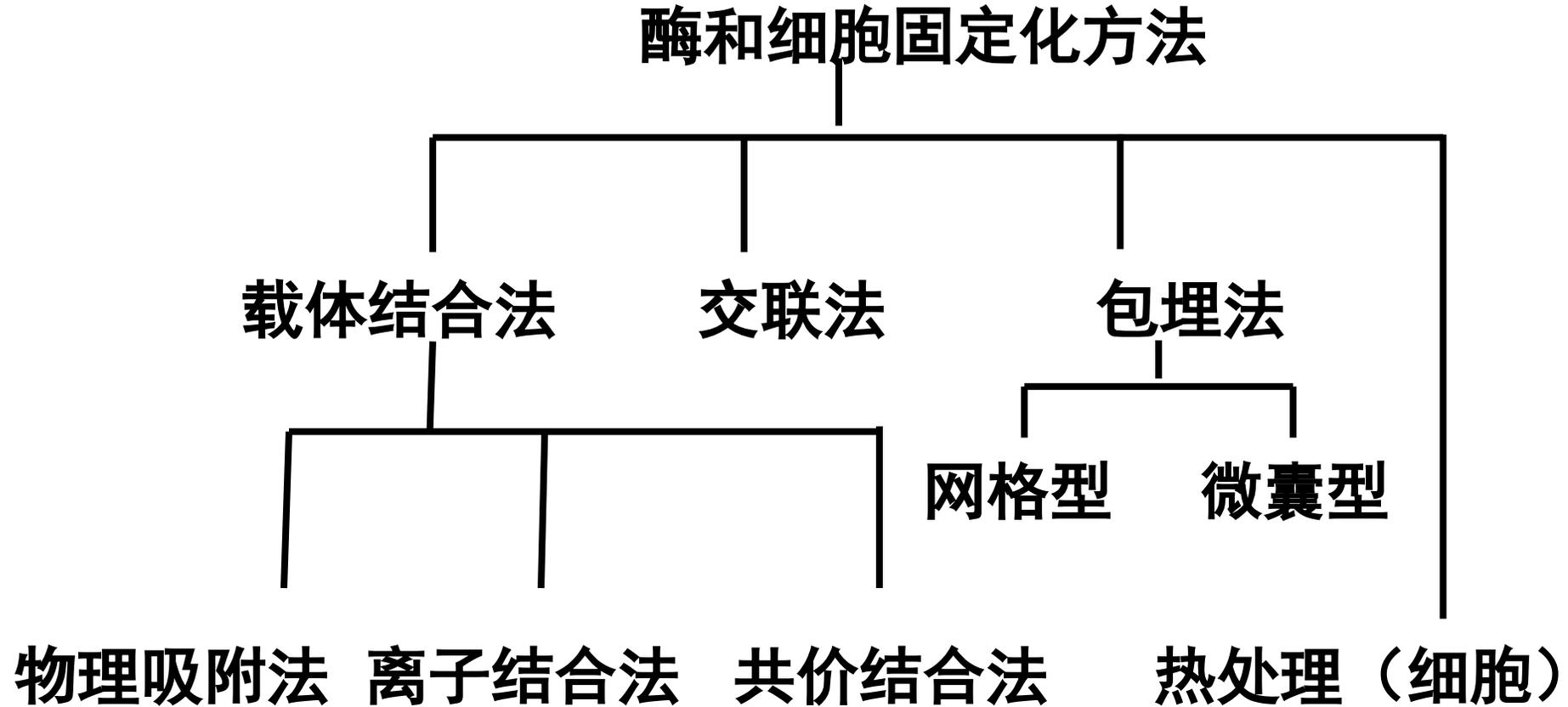
缺点

- ① 固定化时，酶活力有损失。
- ② 增加了生产的成本，工厂初始投资大
- ③ 只能用于可溶性底物，而且较适于小分子底物，对大分子底物不适宜。
- ④ 胞内酶必须经过酶的分离纯化
- ⑤ 与完整菌体相比，不适宜于多酶反应，特别是需要辅助因子的反应。



固定化酶的制备

3. 酶和细胞固定化方法





固定化酶的制备

(1) 载体结合法

① 物理吸附法

作用力：氢键、疏水键

常用载体：氧化铝、硅藻土、多孔陶瓷、纤维素等。

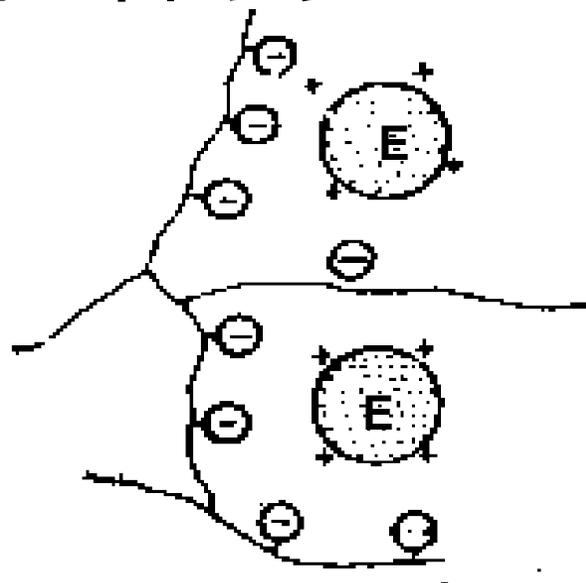
② 离子结合法

作用力：离子键

常用载体：DEAE-纤维素

DEAE-葡聚糖凝胶

CM-纤维素



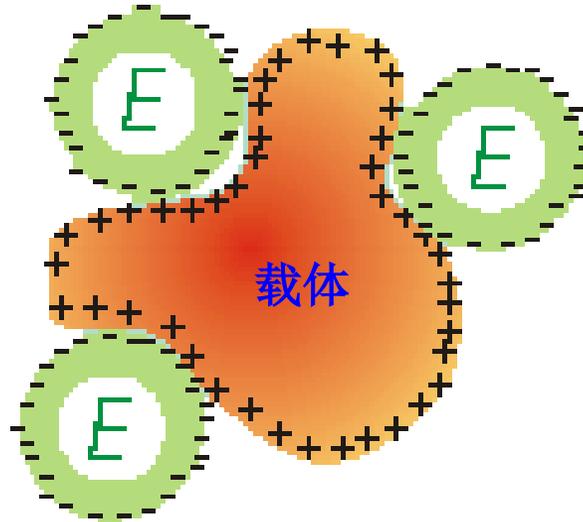


固定化酶的制备

物理吸附法和离子结合法

优点：条件温和，操作简便，酶活力损失少。

缺点：结合力弱，易解吸附。





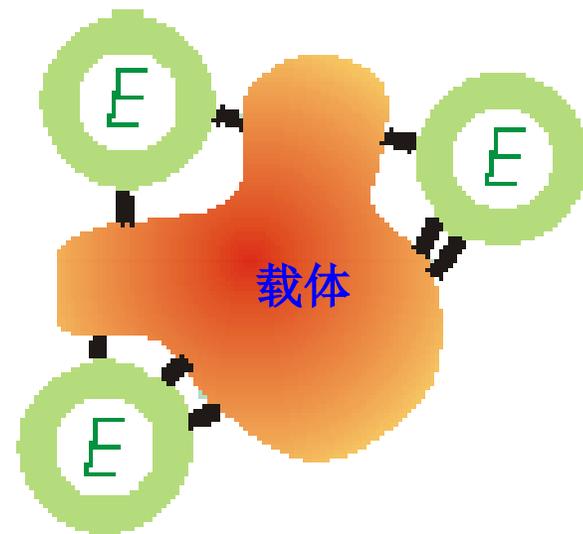
固定化酶的制备

③ 共价结合法

借助共价键将酶的活性必需侧链基团和载体的功能基团进行偶联。

优点：结合牢固，不受环境影响。

缺点：操作复杂，条件苛刻，反应强烈，活性低。

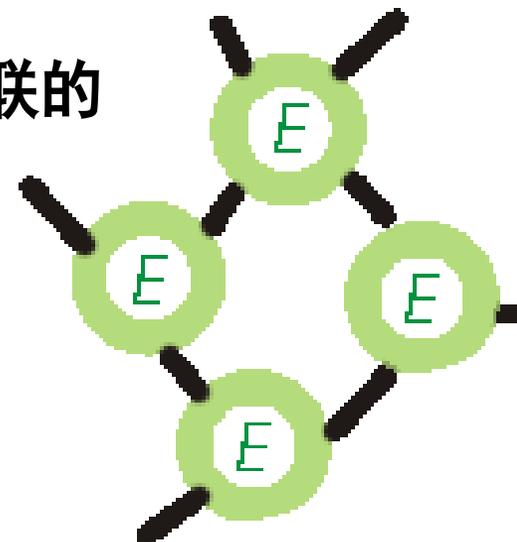


固定化酶的制备

(2) 交联法

用双功能或多功能试剂将酶与酶或者细胞与细胞交联的固定方法。

反应激烈，酶活低，结合牢固。
常用戊二醛。



此法与共价结合法利用的均是共价键；

不同之处：交联法不使用载体。

固定化酶的制备

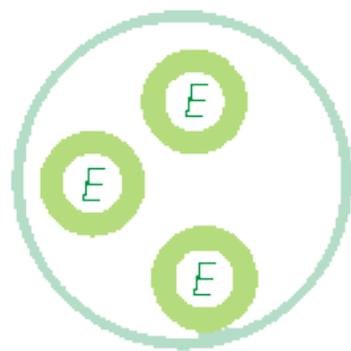
(3) 包埋法

将酶用物理的方法包埋在各种载体（高聚物）内。分为：

- ① **网格型**：将酶包埋在高分子凝胶细微网格中。
- ② **微囊型**：将酶包埋在高分子半透膜中。



聚丙烯酰胺、淀粉、明胶等



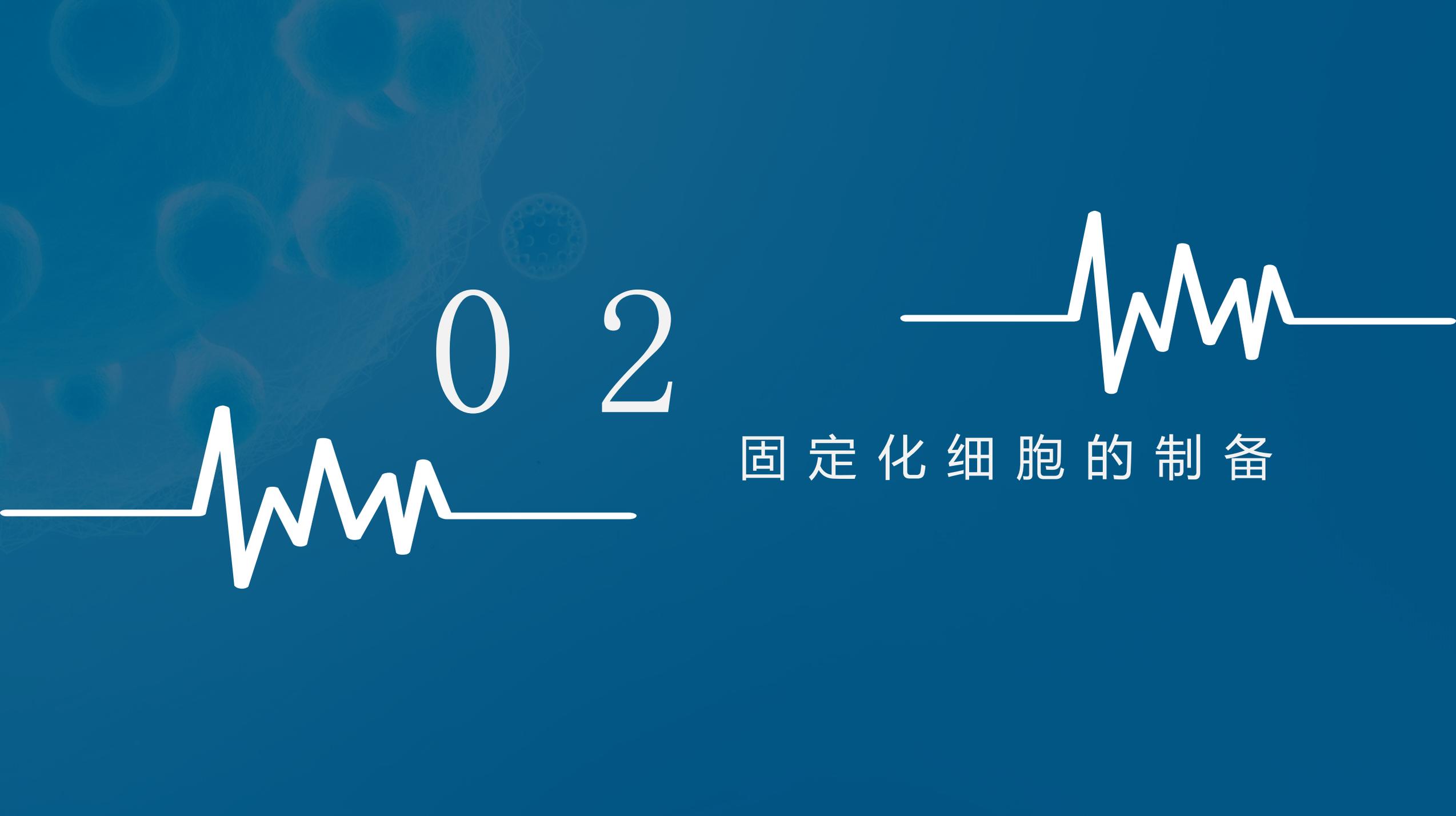
半透膜



固定化酶的制备

(4) 选择性热变性法

此法专用于细胞固定化，是将细胞在适当温度下处理使细胞膜蛋白变性但不使酶变性而使酶固定于细胞内的方法。



02



固定化细胞的制备



固定化细胞的制备

1. 固定化细胞的定义

将细胞限制或定位于特定空间位置的方法称为细胞固定化技术。

被限制或定位于特定空间位置的细胞称为固定化细胞。



固定化细胞的制备

2. 固定化细胞的特点

有细胞特性

生物催化剂功能，

固相催化剂特点。



固定化细胞的制备

优点：

- ①无须进行酶的分离纯化
- ②保持酶的原始状态，固定化过程中酶的回收率高
- ③比固定化酶稳定性高
- ④细胞内酶辅助因子可再生
- ⑤细胞本身含多酶体系，可催化一系列反应
- ⑥抗污染能力强



固定化细胞的制备

缺点：

- ①利用的仅是胞内酶，而细胞内多种酶的存在，
会形成不需要的副产物
- ②细胞膜、细胞壁和载体都存在着扩散限制作用
- ③载体形成的孔隙大小影响分子底物的通透性。

3. 固定化细胞的制备技术

固定化酶的延伸，适用于胞内酶。

(1) 载体结合法

是将细胞悬液直接与水不溶性的载体相结合的固定化方法。载体主要有：阴离子交换树脂、阴离子交换纤维素等。

优点：简单，不影响细胞的生长及酶活性。

缺点：吸附容量小，结合强度低。

(2) 包埋法

将细胞定位于凝胶网格内的技术。

优点：操作简单，细胞容量大，活性好。

缺点：阻力大，不适合大分子底物。

03

固定化方法与载体的选择依据



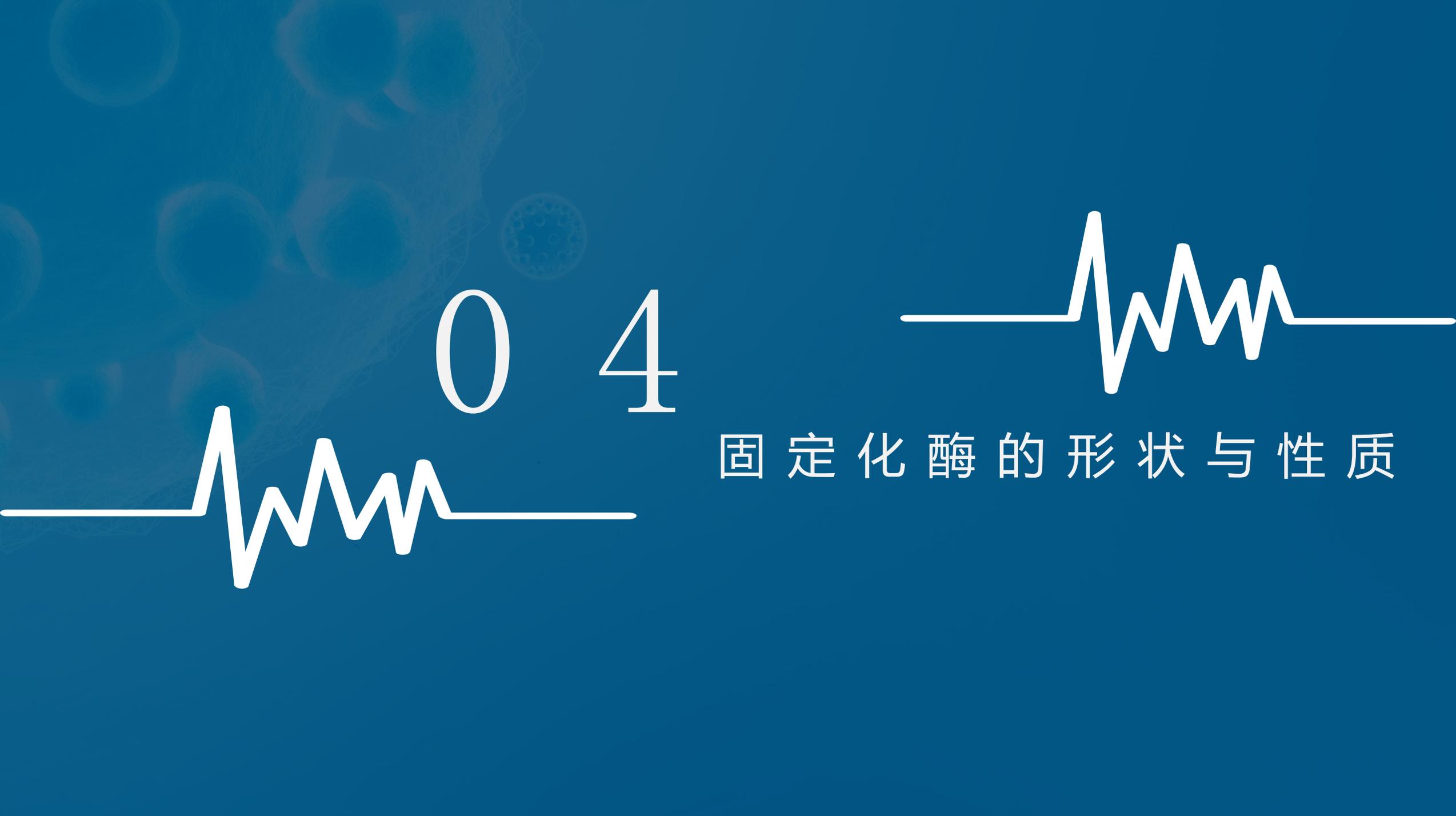
固定化方法与载体的选择依据

1. 固定化方法的选择

- (1) 固定化酶应用的安全性
- (2) 固定化酶在操作中的稳定性
- (3) 固定化的成本

2. 载体的选择

- (1) 廉价：最好选择工业化生产中已大量应用的廉价材料
- (2) 底物性质：若底物分子大量，则不能用包埋型载体。



04



固定化酶的形状与性质



固定化酶的形状与性质

1. 固定化酶的形状

根据反应器，制成不同的固定化酶形状

(1) 颗粒状固定化酶

(2) 纤维状固定化酶

(3) 膜状固定化酶

(4) 管状固定化酶



固定化酶的形状与性质

2. 固定化酶的性质

(1) 酶活力的变化 活力降低

(2) 酶稳定性的变化 稳定性增加

① 操作稳定性 半衰期 > 1 月，就具有了工业应用价值。

② 贮藏稳定性 长好

③ 热稳定性 对热高好。

④ 对蛋白酶的稳定性 一般提高



固定化酶的形状与性质

(3)酶学特性的变化

- ①底物专一性 专一性降低
- ②最适pH 有所改变，大小不定。
- ③最适温度 温度升高
- ④米氏常数 一般变大或稍有变化
- ⑤最大反应速度 变小

3、固定化细胞的形状与性质

1.固定化细胞的形状

随固定技术而定，形状各异，通常为颗粒。

2.固定化细胞的性质

适于小分子底物，应采用适当措施来提高细胞膜的通透性，以提高酶的活力和转化效率。

{ pH变化无规律；
最适温度不变；
稳定性更高。