

研究快报

用磁性微球载体固定化酶的研究

宋存先, 姜耀虹, 史瑞文, 韩平, 王彭延

(中国医学科学院生物医学工程所, 天津 300192)

关键词 固定化酶, 磁性微球

含铁磁体的高分子微球, 其表面可化学偶联酶、抗体、抗原等生物活性物质, 从而增加生物物质的稳定性和存活期, 同时可用外部磁场快速简便地分离反应物, 因此磁性微球载体已逐渐应用于细胞、蛋白质的分离^[1]、亲和层析和放射免疫等生化技术领域^[2]。许多酶反应是临床检验的必要手段, 随着检测仪器的自动化, 需要相应的快速自动分离手段。本文用含 Fe_3O_4 的交联聚乙烯醇 (PVA) 微球为载体, 固定化过氧化物酶, 以期临床检验提供需要快速分离的固定化酶制剂。

我们用戊二醛为交联剂, 使含有 Fe_3O_4 的聚乙烯醇微液滴在酸催化下交联固化, 得到 20—100 μm 直径的交联 PVA 磁性微球。调节 PVA 的浓度和 Fe_3O_4 的比例, 可得到粒度均匀和表面光滑的微球。研究了磁性微球在磁场中沉降作用, 当 Fe_3O_4 含量达到 15% 左右时, 大于 30 μm 直径的微球可迅速沉降并与上清液分离。为了在温和条件下固定化酶, 对上述微球表面进行如下化学修饰: 首先与丁二酸酐反应引入羧基, 酸交换当量可达 3.2 mmol/g 微球。然后再与 N-羟基丁二酰亚胺反应使羧

得到高反应活性的固定化酶载体。

过氧化物酶 (POD) 的固定化在极温和的条件下完成: 用 $\text{pH} = 6.5$ 的中性缓冲液为介质, 酶和活性微球在室温下混和 48 小时, 反应基本上定量进行, 即所有的活性酯基均被酶取代, 酶分子中的一 NH_2 基与微球表面的羧基形成稳定的酰胺键。固定化 POD 的微球充分洗涤至洗涤液中无可检出的游离酶后, 用愈创木酚法^[3]测定微球上过氧化物酶的活性, 表明固定化酶的量与所用微球的活性酯含量成正比, 酶的固定量不受缓冲液中酶的浓度变化的影响。本研究用活性酯作为固定化酶的中间体, 不仅反应条件温和, 酶不易失活, 而且酶用量少, 活性回收率高, 这对于一些比较昂贵或不易获得的酶, 在临床应用中可大大降低成本。用磁性活化微球对其它酶的固定化以及临床检测应用的研究正在进行中。

参考文献

1. Molday R S et al. *Nature*, 1977; 28(4):437
2. Hersh L S, Yaverb m S. *Clinica Chimica Acta*, 1975; 63:69
- 3 朱展才. 生物化学与生物物理进展, 1985; 6: 80

基转化为活性酯基 $\left(\text{---COON} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{array} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---} \end{array} \right)$, 从而

[本文于 1991 年 2 月 11 日收到]