

характеристик полимеров, гибкости и подвижности макромолекул, второго вириального коэффициента и т. д.—везде, где используют разбавленные растворы. Понятие сопредельных отрезков сформулировано на основе вязкостного критерия границы разбавленных растворов и потому также применимо к любому случаю исследования разбавленных растворов.

Как видим, достоинства критерия вязкостной границы разбавленных растворов заключаются в удобстве и быстроте классификации раствора с точки зрения его концентрации, в максимально быстрым отыскании подходящей концентрации в одноточечных методах определения молекулярных характеристик. Фактом, важным для более глубокого понимания свойств разбавленных растворов полимеров, является обнаруженная зависимость положения вязкостной границы от термодинамического взаимодействия полимер — растворитель и формы макромолекул.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Будгов В. П., Консетов В. В. Тепломассоперенос в полимеризационных процессах.* Л.: Химия, 1983, с. 29, 97, 99.
2. *Иржак В. И., Розенберг Б. А., Ениколопян Н. С. Сетчатые полимеры.* М.: Наука, 1979, с. 172.
3. *Ibrahim F. W., Elias H.-G. Makromolek. Chem.*, 1964, B. 76, S. 1.
4. *Шатенштейн А. И., Вырский Ю. П., Правикова Н. А., Алиханов П. П., Жданова К. И., Изюмников А. Л. Практическое руководство по определению молекулярных весов и МВР полимеров.* М.: Химия, 1964, с. 12.
5. *Цзян Жэнь-юань. Определение молекулярных весов полимеров.* М.: Изд-во иностр. лит., 1962, с. 53.
6. *Porter R., Johnson J. Chem. Revs.*, 1966, v. 66, № 1, p. 1.
7. *Huggins M. L. J. Amer. Chem. Soc.*, 1942, v. 64, № 11, p. 2716.
8. *Schulz G. V., Blaschke F. J. Prakt. Chem.*, 1941, B. 158, № 2, S. 130.
9. *Martin A. F. Amer. Chem. Soc. Meeting. Memphis*, 1942, v. 23, p. 4.
10. *Kraemer E. O. Ind. Engng. Chem.*, 1938, v. 30, № 10, p. 1200.
11. *Hoffmann M. Makromolek. Chem.*, 1957, B. 24, № 3, S. 222.
12. *Bohdanecký M. Collect. Czechosl. Chem. Commun.*, 1970, v. 35, № 7, p. 1972.
13. *Bohdanecký M., Šolc K., Kratochvíl P., Kolinský M., Ryska M., Lim D. J. Polymer Sci. A-2*, 1967, v. 5, № 2, p. 343.
14. *Bischoff J., Desreux V. Bull. soc. chim. Belg.*, 1952, v. 61, № 1, p. 10.

Поступила в редакцию  
19.I.1984

УДК 541.64:547.458.81

#### СИНТЕЗ БИОСПЕЦИФИЧЕСКИХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ АЛЬБУМИНА НА ОСНОВЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

*Платэ Н. А., Ужинова Л. Д., Клявиньш М. К.,  
Зицманис А. Х.*

Классические методы очистки бычьего сывороточного альбумина (БСА) трудоемки и малоэффективны. Поэтому для очистки БСА обычно используют метод биоспецифической хроматографии [1—4]. В применяемых хроматографических материалах в качестве матрицы сорбента в основном применяют сепарозу [1, 3, 4], а в качестве биоспецифических лигандов — остатки карбоновых кислот [2], желчных кислот [3] и других веществ, обладающих средством к БСА [1, 4]. Общим недостатком всех этих сорбентов является то, что они достаточно дороги, и пока нет простых промышленных методов их получения. С целью дальнейшего развития био-

специфической хроматографии в данной работе исследованы возможности получения альбуминспецифических сорбентов на основе целлюлозы — дешевого и доступного материала. Лигандами служили цетильные и стеароильные группы, обладающие специфическим средством по отношению к БСА. Осуществлена также проверка возможностей применения этих сорбентов для очистки альбумина.

В работе использовали волокнистую и порошковую целлюлозу, цетилбромид, хлорангидрид стеариновой кислоты, альбумин марки Б («Реахим», СССР), акриламид, NN-метилен-бис-акриламид, персульфат аммония, Амидовый Черный 10 В

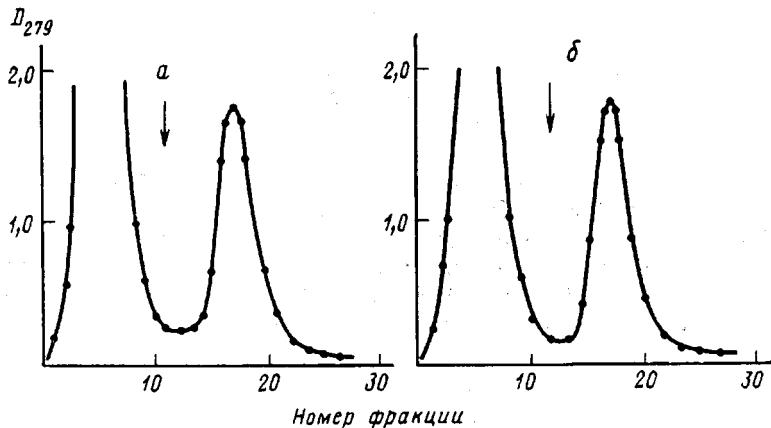


Рис. 1

Рис. 1. Биоспецифические хроматограммы БСА на стеароилцеллюлозе (*a*) и на цетилцеллюлозе (*b*). Стрелка указывает на введение элюирующего агента

Рис. 2. Электрофореграммы (схема) БСА в поликариламидном геле: *a* — исходный препарат, *б* — очищенный на стеароилцеллюлозе, *в* — очищенный на цетилцеллюлозе

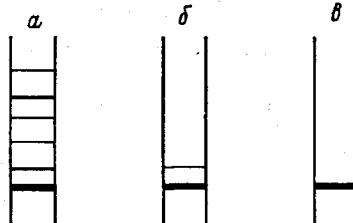


Рис. 2

(«Reanal», Венгрия). Белок в образцах определяли спектрофотометрически по поглощению при 279 нм на спектрофотометре Рве Unicam SP8-100 (Англия). Исследование степени очистки альбумина проводили методом гель-электрофореза в поликариламидном геле, состоящем из концентрирующей (4,75%-ный гель) и разделяющей частей (7,5%-ный гель). На гель наносили 150 мкг исследуемого образца. Диаметр столбика геля 5 мм, сила тока 2–5 мА. Для окраски столбиков геля использовали 1%-ный раствор Амидового Черного в 7%-ной уксусной кислоте. Электрофорез проводили на приборе фирмы «Reanal» (Венгрия).

Синтез цетилового эфира целлюлозы. 25,0 г натриялкоголята целлюлозы, полученного по методике [5], суспендировали в 400 мл сухого ДМФА, прибавляли 15,26 г (0,1 моля) цетилбромида и перемешивали при 100° в течение 7 ч. Затем полученную цетилцеллюлозу отфильтровывали, промывали ДМФА, водой, ацетоном и сушили 24 ч на воздухе и 6 ч при 40°. Получили 25,2 г цетилцеллюлозы.

Синтез стеароилового эфира целлюлозы. 50,0 г порошковой целлюлозы суспендировали в 100 мл сухого ДМФА, прибавляли 100 мл сухого пиридина и 65,8 г (0,2 моля) хлорангидрида стеариновой кислоты и перемешивали при 20° в течение 8 ч. Затем полученную стеароилцеллюлозу отфильтровывали, промывали этанолом, смесью этанол: хлороформ (1 : 1 по объему), этанолом и сушили 24 ч на воздухе и 4 ч при 60°. Получили 51,0 г стеароилцеллюлозы с содержанием стеароильных групп 0,48 ммоль/г (определение по стандартной методике).

Очистка БСА. Для проведения очистки готовили раствор неочищенного альбумина (1 мг/мл) в 0,025 м. фосфатном буфере (рН 7,4). Раствор альбумина (30 мл)

наносили на колонку ( $1 \times 10$  см), заполненную биоспецифическим сорбентом и предварительно уравновешенную 0,025 м. фосфатным буфером. Промывали колонку буфером и контролировали адсорбцию белка на сорбенте, определяя концентрацию белка во фракциях и электрофоретическую гомогенность отдельных фракций. Связанный белок элюировали 50%-ным спиртовым раствором глицинового буфера (рН 2,0) со скоростью 0,75 мл/мин, собирая фракции по 5 мл на коллекторе фракций (LKB, Швеция).

Полученные результаты очистки БСА на целлюлозных сорбентах показаны на рис. 1. Продажный препарат альбумина марки Б сильно загрязнен, и не связывающиеся сорбентом примеси выходят из колонки при промывании ее фосфатным буфером (рН 7,4). Сорбированный альбумин элюируется смесью этанола и глицинового буфера (рН 2,0) и проявляется в виде четкого пика на хроматограмме. Необходимо отметить, что полученные целлюлозные сорбенты имеют высокие сорбционные емкости: цетилцеллюлоза — 32 мг альбумина на 1 г сорбента, а стеароилцеллюлоза — 25 мг альбумина на 1 г сорбента.

Проверка электрофоретической чистоты полученного белка показывает (рис. 2), что применение целлюлозных носителей позволяет получить электрофоретически чистый альбумин. Следует отметить, что цетилцеллюлоза как сорбент значительно лучше стеароилцеллюлозы.

Таким образом, использование целлюлозных сорбентов позволяет осуществить достаточно эффективную очистку БСА. Эти сорбенты являются перспективными в гидрофобной хроматографии белков.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Peters T., Taniuchi H., Anfinsen C. B. J. Biol. Chem., 1973, v. 248, p. 2447.
2. Платэ Н. А., Матросович М. Н. Докл. АН СССР, 1976, т. 229, с. 496.
3. Pattinson N., Collins D., Cambet B. J. Chromatogr., 1980, v. 187, № 2, p. 409.
4. Hansson H., Kagedal L. J. Chromatogr., 1981, v. 215, p. 333.
5. Клявиньш М. К., Прикулис А. А. Изв. АН ЛатвССР. Сер. хим., 1982, № 3, с. 341.

Московский государственный университет  
им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию  
23.I.1984

Всесоюзный научно-исследовательский  
институт прикладной биохимии

УДК 541.64:543.544:542.954

#### ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОЛИКОНДЕНСАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ МЕТОДОМ ГЕЛЬ-ПРОНИКАЮЩЕЙ И АДСОРБИОННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

*Гурьянова В. В., Алкаева О. Ф., Ерош О. В.,  
Прудкова Т. Н., Павлов А. В.*

С точки зрения протекания процесса линейной поликонденсации в целом и характера ММР конечного полимера существенной является стадия образования олигомерных продуктов в результате взаимодействия мономеров друг с другом и последующих реакций, приводящих к получению смеси *n*-меров. Состав продуктов начальной стадии поликонденсации определяется в основном реакцией способностью мономеров и олигомеров, оценить которую можно, исследуя элементарные реакции процесса. Однако такие исследования, как правило, сопряжены с рядом эксперимен-