

УДК 577.15.049

**РЕАКЦИИ В СИСТЕМЕ БЕЛОК — ПОЛИМЕРНЫЙ НОСИТЕЛЬ,  
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ ФЕРМЕНТОВ***М. И. Штильман*

Обзор посвящен методам образования ковалентной связи между полимерным носителем и ферментами, используемыми при иммобилизации последних.

Библиография — 474 ссылки.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	2061
II. Реакции ацилирования	2062
III. Реакция азосочетания	2068
IV. Образование азометиновых производных	2069
V. Использование полиимидокарбонатов	2070
VI. Использование полимерных носителей, содержащих изоцианатные и изотиоцианатные группы	2071
VII. Использование полимеров с активным атомом галогена	2072
VIII. Прочие методы	2073

## I. ВВЕДЕНИЕ

Ферменты, фиксированные различными путями для придания им водонерастворимости, в последнее время привлекают к себе все более широкое внимание. Полученные таким образом препараты (иммобилизованные или стабилизированные ферменты) находят применение в химической технологии, медицине, аналитической химии.

За последние годы в зарубежной и отечественной литературе появилось большое число обзоров и ряд монографий, посвященных технике иммобилизации и особенностям использования таких искусственных катализаторов<sup>1-14</sup>. Специальный обзор посвящен кинетико-термодинамическим аспектам катализа иммобилизованными ферментами<sup>15</sup>. Вопросы иммобилизации ферментов освещены в фундаментальном труде коллектива авторов из Московского университета<sup>16</sup>. Без сомнения, наибольшее число работ, касающихся методов иммобилизации, посвящено методам образования ковалентной связи между ферментом и носителем, особенно — полимерным. Количество публикаций в этой области все время увеличивается. Тем не менее в обзорной литературе обширные сведения, касающиеся этой важной области реакций между белками и синтетическими или искусственными полимерами, по нашему мнению, освещены недостаточно.

Иммобилизация ферментов путем присоединения их ковалентной связью к полимерным носителям основана на взаимодействии реакционно-способных групп, входящих в макромолекулу полимерного носителя и белка. В принципе в реакцию могут вступать следующие функциональные группы, входящие в состав аминокислот белков<sup>4, 16, 17</sup>: карбоксильные (концевые, а также глутаминовой и аспарагиновой кислот), аминные (концевые, лизина, оксализина), фенольные (тирозина), имидазольные (гистидина), индольные (триптофана), сульфидрильные (цистеина), дисульфидные (цистина), гидроксильные (серина, оксипролина,

оксилизина, оксиглутаминовой кислоты), гуанидиновые (аргинина), метилмеркаптогруппы (метионина), фенильные (тирозина, фенилаланина), амидные (аспарагина, глутамина), и в некоторых случаях — пептидные группы. Во многих случаях трудно определить, с какой именно группой белка реагирует группа носителя. Так, например, ацилирующие группы носителя могут вступать во взаимодействие как с аминными, так и с окси- и меркаптогруппами фермента. Важнейшую роль при протекании таких реакций играет пространственное расположение реагирующих макромолекул.

При иммобилизации должен быть соблюден ряд условий. В частности, реакция должна протекать в условиях, исключающих денатурацию белка. Кроме того, функциональные группы носителя не должны реагировать с группами белка, ответственными за ферментативную активность<sup>5</sup>.

К сожалению, механизм реакций, применяемых для связывания ферментов с полимерными носителями, ясен не во всех случаях. Это обстоятельство существенно затрудняет классификацию известных процессов. Однако среди этих процессов встречаются как реакции замещения, так и реакции присоединения при алифатических и ароматических атомах углерода, а также при гетероатомах, протекающие в основном в соответствии с гетеролитическими механизмами. Радикальные процессы используются значительно реже.

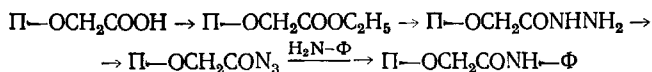
## II. РЕАКЦИИ АЦИЛИРОВАНИЯ

В реакции ацилирования под действием носителя могут вступать аминные, окси-, меркапто- и гуанидиновые группы ферментов. Хотя наиболее реакционноспособными из них являются аминогруппы, направление реакции существенно зависит от ряда факторов, в частности стерических, рН среды и т. п.<sup>4</sup>.

### 1. Ацилирование полимерными азидами

Одной из первых работ по ковалентному связыванию белков с синтетическими или искусственными полимерами была работа Михиля и Эверса, которые в 1949 г. для этой цели использовали активированную превращением в азид карбоксиметилцеллюлозу<sup>18</sup>. По сути дела этот способ являлся модификацией известного азидного метода синтеза пептидов, предложенного Курцисом в 1902 г.<sup>19</sup>.

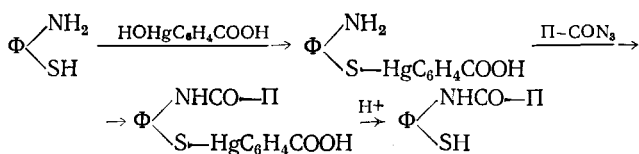
В данном случае схема химических превращений принимает следующий вид\*:



Стадия взаимодействия азида с функциональными группами белка протекает при 0—5° в течение 1—2 час в слабощелочной среде. В этих условиях азиды реагируют преимущественно с аминогруппами; однако они могут вступать также во взаимодействие с гидроксильной и меркаптогруппами. Так как последние часто участвуют в деятельности активного центра фермента, образования тиоэфиров в этих случаях стараются избежать. Для этого, например, меркаптогруппы временно защищают введением ртутьорганического остатка в результате реакции с *n*-окси-

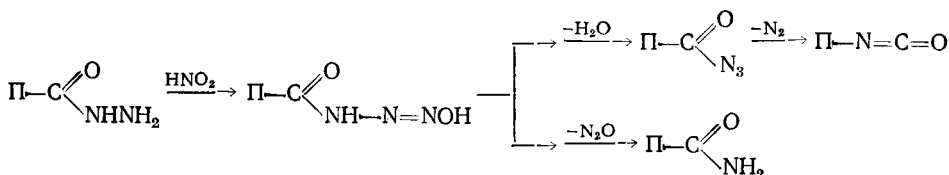
\* Здесь и далее П — остаток полимерной цепи носителя, Ф — остаток белковой цепи фермента.

меркурбензойной кислотой. После проведения реакции с носителем эта защитная группа может быть удалена в слабокислой среде ( $10^{-6}$  M HCl)<sup>4, 20, 21</sup>:



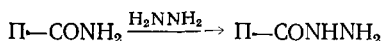
Азидный метод использовался достаточно широко<sup>20-32, 34-69</sup>; более или менее подробно он рассмотрен в ряде обзоров<sup>1-8, 16, 69</sup>.

В общем случае процесс иммобилизации существенно усложняется ввиду возможного протекания ряда побочных реакций с участием азидной группы и продуктов ее превращения. В частности, при взаимодействии  $\text{HNO}_2$  и гидразидов могут образовываться наряду с азидными неактивные амидные и активные изоцианатные группы:



Изоцианатные группы в свою очередь могут реагировать с различными группами белка (преимущественно аминными), но также могут после омыления до аминных групп давать мочевиновые группировки в самом носителе. Все это требует строгого соблюдения оптимальных условий реакции (определенные температура, pH и др.) (см.<sup>16</sup>, стр. 159). Определенные неудобства создает также невысокая стойкость азидных групп, не позволяющая сохранять активность носителей длительное время. В последнее время азидный метод применяется довольно редко.

В качестве карбоксилсодержащих полимеров чаще всего использовались карбоксиметилпроизводные полиуглеводов, например целлюлозы и декстрана<sup>33, 50, 60, 63, 69, 165</sup>. Используя азидный метод, можно в качестве носителей применять и полимеры, не содержащие карбоксильные группы. Так, авторы<sup>42</sup> вводили в полимер гидразидные группы обработкой гидразином сшитого полиакриламида:



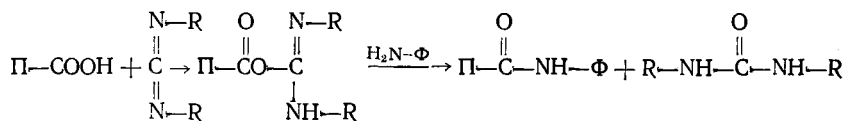
На полученном полигидразиде (фирменное название «Энзакрил АН») после превращения его в азид был иммобилизован ряд ферментов<sup>42, 53-59</sup>.

Описано также применение для связывания ферментов растворимого в боратном буфере азид полиакриловой кислоты<sup>44</sup>. Из других применявшихся носителей можно отметить гидразидное производное агарозы<sup>66</sup>, азид полиглутаминовой кислоты<sup>67</sup>, сополимер азид малеиновой кислоты с акриламидом и метилен-бис-ариламидом<sup>68</sup>, полимерный азид, полученные из привитого сополимера целлюлозы и метилакрилата<sup>60</sup>.

## 2. Ацилирование в присутствии карбодимидов

Из пептидного синтеза заимствован также карбодимидный метод, получивший достаточно широкое распространение. Низкомолекулярные карбодимиды могут использоваться в качестве сшивающих агентов

самостоятельно, без полимерного носителя; в то же время большое число работ посвящено активации карбодиимидами карбоксильных групп полимерного носителя с последующим присоединением молекулы белка



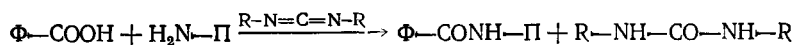
Иногда в этой реакции вместо наиболее часто используемого дидецилгексилкарбодиимида применяют водорастворимые карбодиимиды<sup>78, 87-90</sup>, например хлоридат 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида<sup>88, 95</sup>, хлоридат 1-циклогексил-3-(*n*-диэтиламиноциклогексил)карбодиимида, метил-*n*-толуолсульфонат-1-циклогексил-3-(2-морфолино-4-этил)карбодиимид<sup>90</sup> (см. также<sup>16</sup>, стр. 170).

В качестве карбоксилсодержащих полимеров наиболее широко используют карбоксиметилцеллюлозу<sup>63, 70, 72, 79, 82, 83</sup>, сополимер акриламида и акриловой кислоты<sup>77, 78, 83, 88, 90-92</sup>. Однако могут быть использованы другие полимеры, например карбоксиметилсефадекс<sup>82, 83</sup>, производные сефарозы<sup>87</sup>, полиамиды<sup>62</sup>, сополимер 2-оксиэтилакрилата и метакриловой кислоты<sup>86</sup>. В работе<sup>96</sup> при помощи карбодиимидов связали с карбоксилсодержащим носителем  $\alpha$ -амилазу. При этом в качестве носителей применяли полипропиленовую ткань, на которую была привита полиакриловая кислота, а также частично гидролизованную полиэтилентерефталатную пленку.

В качестве носителей применялись также незамещенная целлюлоза<sup>4</sup>, сополимеры *N*-винилпирролидона и ненасыщенных кислот<sup>93</sup>, СН-сефароза 4В и АН-сефароза 4В, содержащие группы  $-\text{OCONH}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$  и  $-\text{OCONH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2$  (см.<sup>16</sup>, стр. 172).

Авторы работы<sup>89</sup> применили для иммобилизации пепсина по этому методу частицы оксипалкилметакрилатных гелей (коммерческое название «Сферон»). Частицы геля активировали бромцианом, а затем к ним присоединяли гексаметилендиамин или аминокaproновую кислоту, в результате чего получали полимеры, содержащие карбоксильные и аминные группы. Иммобилизацию проводили в присутствии 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида.

Карбодиимидом можно активировать карбоксильные группы не только носителя, но в принципе и фермента:

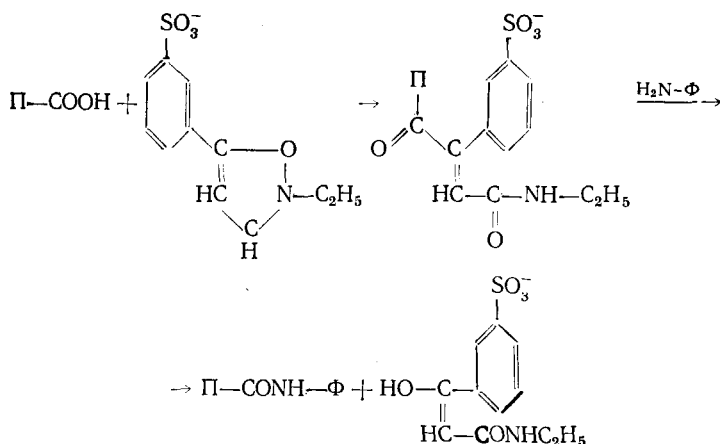


В этом случае активированный фермент присоединяется к аминоксодержащему полимеру, например аминоэтилцеллюлозе<sup>6</sup>. Карбоксилсодержащие ферменты связывали при помощи дидецилгексилкарбодиимида с продуктом взаимодействия сополимера этилена и малеинового ангидрида с гексаметилендиамином<sup>94</sup>.

### 3. Ацилирование в присутствии реактива Вудворта

В 1961 г. Вудворт с сотр.<sup>97</sup> описали применение в пептидном синтезе активированных эфиров, полученных на основе *N*-этил-5-фенилизоксазол-3'-сульфоната. Позднее эту реакцию применили<sup>98, 99</sup> для получения нерастворимых препаратов, обладающих ферментативной активностью;

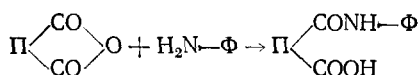
этот метод был использован также в ряде других работ<sup>41, 100, 101</sup>:



Реактивом Вудворта активировали карбоксилсодержащие полимеры — карбоксиметилцеллюлозу<sup>98</sup>, сополимер *L*-аланина и *L*-глутаминовой кислоты<sup>16, стр. 173</sup>. Преимущество этого процесса состоит в том, что он протекает достаточно быстро в мягких условиях<sup>4</sup>. Кроме того, в этом случае легко контролировать количество введенных активных групп носителя<sup>5</sup>. Этот метод может дополнять только что рассмотренный карбодимидный метод, поскольку при первом реакция протекает в щелочной среде, а при втором — в кислой<sup>4</sup>.

#### 4. Ацилирование полимерными ангидридами

Способность полимерных ангидридов взаимодействовать на холоду с белковыми молекулами ферментов (с образованием прежде всего амидных групп) впервые была использована, вероятно, в 1964 г.<sup>102, 103</sup>. Впоследствии этот метод получил широкое распространение<sup>21, 45, 100, 102-104, 106-145</sup>.



Преимущественно применялись сополимеры малеинового ангидрида (например,<sup>46, 102, 103, 132, 134, 139</sup>). Однако имеются работы по применению сополимеров ангидрида метакриловой кислоты<sup>125, 130</sup>, а также ангидридов итаконовой и цитраконовой кислот<sup>133</sup>, гомополимера ангидрида метакриловой кислоты<sup>208</sup>. В качестве сомономеров с малеиновым ангидридом использовали этилен<sup>102, 103, 139</sup>, а также дивиниловый эфир бутандиола<sup>45, 134</sup>, этилвиниловый эфир и дивиниловый эфир<sup>133, 134</sup>, винилметилвый эфир<sup>136, 144</sup>, алкилендиакрилаты<sup>138</sup>.

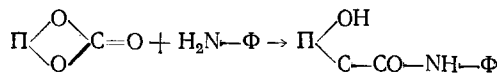
Кремер с сотр. получили и использовали для иммобилизации ферментов сополимер, содержащий 32 мол. % ангидрида метакриловой кислоты, 67 мол. % акриламида и 0,5—1,0 мол. % метилен-*бис*-акриламида<sup>125, 130, 143</sup>. Для иммобилизации использовали также гомополимер малеинового ангидрида<sup>142</sup>, ряд других ангидридсодержащих полимеров<sup>145</sup>. В частности, ангидридные группы, предназначенные для реакции с белковой молекулой, получали нагреванием до 180° сополимера малеиновой кислоты, акриламида и метилен-*бис*-акриламида<sup>68</sup>.

Описано фиксирование на аминоксодержащих носителях растворимых продуктов взаимодействия ферментов с сополимером этилена и малеинового ангидрида<sup>137, 140</sup>. Исследовано влияние на активность фермента

количества ангидридных групп в молекулах носителя<sup>144</sup>. Сополимеры ангидридов ненасыщенных карбоновых кислот могут быть использованы как в виде гранул, так и в виде пленок или покрытий<sup>132, 136</sup>.

### 5. Ацилирование циклическими карбонатами полимерных спиртов

Этот метод предложен Кеннеди с сотр.<sup>146-154</sup> и заключается во взаимодействии ферментов с полимерами (главным образом, полисахаридами), содержащими *транс*-3,4-циклические карбонатные группы, которые вводят в полимер реакцией полимерного спирта с этилхлорформиа-том. Реакция с белком протекает по следующей схеме<sup>154</sup> при  $\sim 4^\circ$  в лимоннокислом буферном растворе рН 5,4:

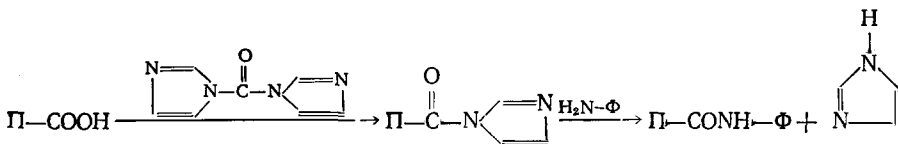


Позднее появились работы, в которых для подобных реакций использованы другие полимерные спирты<sup>155</sup> и, в частности, полиаллиловый спирт<sup>153</sup>.

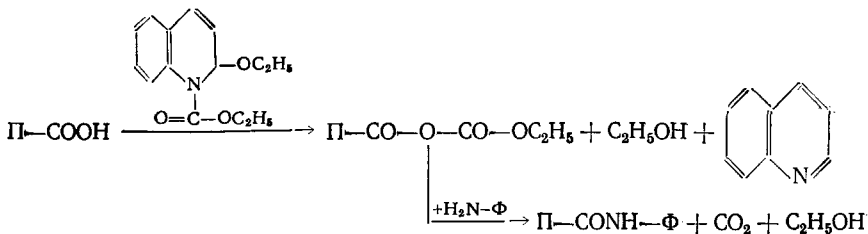
### 6. Прочие методы ацилирования

В последние годы разработан ряд других методов иммобилизации с использованием реакций ацилирования, преимущественно с образованием амидных групп за счет аминогрупп белковой молекулы.

Так, авторы работ<sup>156-158</sup> применили в качестве носителя сополимер стирола и 4-винилбензойной кислоты, проводя реакцию с ферментами в присутствии карбонилдиимдазола в диметилформамиде:



Эти же авторы предложили проводить реакцию носителя (сополимера 4-метакрилоксибензойной кислоты и дивинилбензола) с аминогруппами ферментов, вводя в реакцию в качестве активатора N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолина<sup>159, 160</sup>. Реакция, очевидно, протекает через стадию образования смешанного ангидрида:

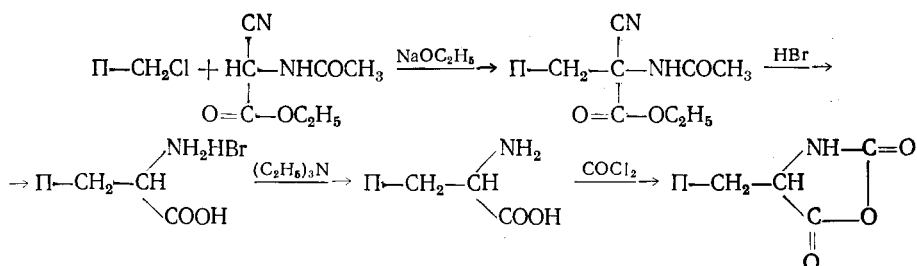


Эта реакция применена также в<sup>161</sup>, причем в качестве носителя использованы карбоксиметилцеллюлоза и карбоксиметилдекстран (сефадекс)<sup>161</sup>.

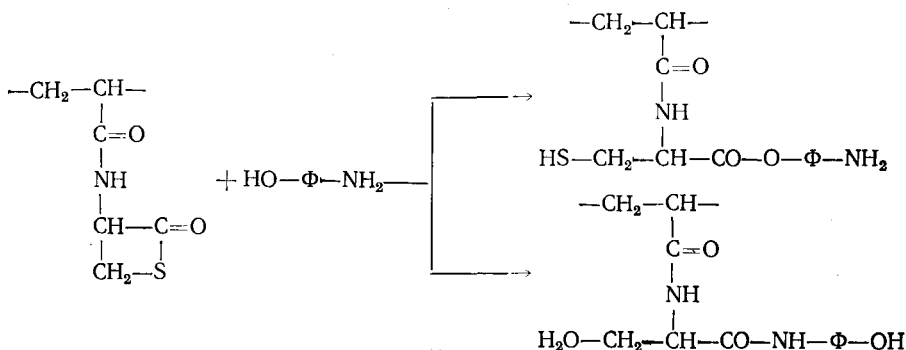
Описаны полимерные ацилирующие носители, содержащие хлорангидридные группы<sup>162, 164-166</sup>.

Полимерный циклический N-карбоксиангидрид, содержащий 2,5-диокса-4-оксахинолиндионовую группу, использован для связывания:

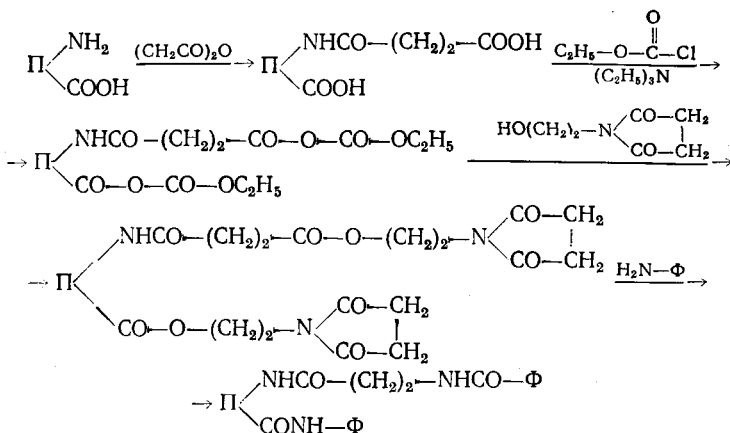
ряда ферментов при 0° в течение 20—72 час<sup>167</sup>. Этот полимер получен из хлорметилированного сополимера полистирола по следующей схеме:



Ацилирующими полимерными соединениями могут быть производные полиакриламида или его сополимеров, содержащие тиолактонные группировки, выпускаемые под фирменным названием «Энзакрил поли-тиолактон»<sup>168, 169</sup>. Этот полимер может реагировать как с аминными, так и с оксигруппами ферментов:



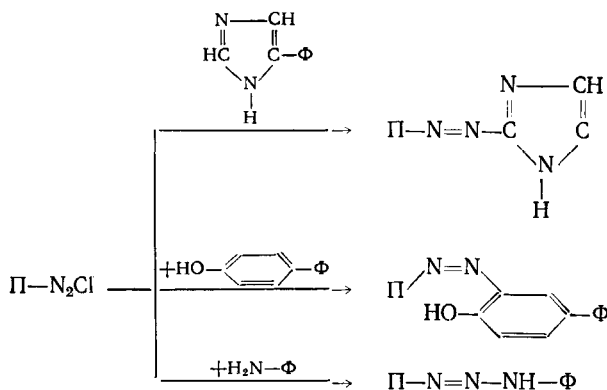
Описано применение для иммобилизации ферментов полимерных носителей, содержащих активированные эфирные группы, например сополимера акриламида и *n*-нитрофенилакрилата<sup>170</sup>; замещенной целлюлозы (П—ОСН<sub>2</sub>СН<sub>2</sub>НСО(СН<sub>2</sub>)<sub>2</sub>СООС<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>СН<sub>3</sub>) (см.<sup>16</sup>, стр. 167); полистирола, содержащего группу —СО(СН<sub>2</sub>)<sub>2</sub>—СО—О—С<sub>6</sub>Н<sub>4</sub>NO<sub>2</sub><sup>171</sup>; частично гидролизованного полиамида, в который активированную сложнэфирную группу со спиртовым остатком *N*-оксиэтилсукцинимидом вводили следующим путем<sup>172</sup>:



### III. РЕАКЦИЯ АЗОСОЧЕТАНИЯ

Реакция азосочетания давно привлекала внимание исследователей, работающих в области иммобилизации ферментов, мягкими условиями протекания и легкостью введения в носитель диазотирующихся ароматических аминогрупп<sup>173</sup>. Позднее эта реакция была использована во многих работах<sup>26, 34, 38, 42, 70, 102, 104, 109, 112, 163, 169, 174-202, 204-207, 209, 211-243</sup>.

В реакции азосочетания могут участвовать, например, следующие функциональные группы белка:

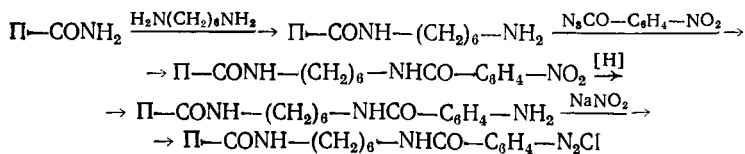


Кроме этого, с диазосоединениями могут реагировать гуанидиновая и меркаптогруппа. При этом во многих случаях в реакцию с одной группой белка могут вступать две диазогруппы<sup>4</sup>.

Наиболее часто использовались носители: *n*-аминобензилцеллюлоза (например,<sup>26, 173, 174, 187, 188, 235</sup>), *n*-аминостирол (например,<sup>174-176, 199, 214, 218</sup>), сополипептиды на основе *n*-аминофенилаланина (например,<sup>107, 177, 178, 184, 201, 223</sup>). В качестве диазотирующегося носителя предложено также применять продукт взаимодействия диальдегидкрахмала и 4,4'-диаминодифенилметана<sup>139, 192</sup>. Вступая в реакцию с альдегидными группами диальдегидкрахмала, диамин образует пространственную сетку. Из других носителей отметим: полимер глутарового альдегида и *m*-фенилендиамина<sup>233</sup>; восстановленные привитые сополимеры *n*-нитрофенилакрилата и поливинилхлорида, полипропилена, полиэтилена, сополимера стирола и пропилена<sup>236</sup>; *n*-аминобензамидогексилсефарозу<sup>237-240</sup>; антрацилаты полиуглеводов<sup>221, 226, 227</sup>; ароматические аминопроизводные полиакриламида<sup>169, 209, 210, 219, 220, 225</sup>; продукты взаимодействия частично гидролизованного полиамида, ароматических диаминов, динитрилов и альдегидов<sup>234</sup>; ароматические аминопроизводные шерсти, шелка, хитина, фенольных смол<sup>241</sup>; поливинил-(3-амино)бензаль<sup>242</sup>.

Для получения диазотирующихся носителей эпоксидную смолу на основе дифенилолпропана и эпихлоргидрина обрабатывали *n*-нитрофенилсульфонилоизоцианатом с последующим восстановлением нитрогруппы<sup>243</sup>.

Многостадийный способ получения диазопроизводных акриламида был предложен в<sup>42</sup>:

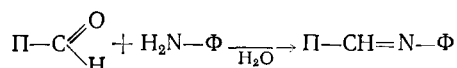




Для сшивки ферментов и полимерных носителей использовались диазотированные ароматические диамины (2,2'-бензидиндисульфокислота, *m*-фенилендиамин)<sup>107, 197, 205, 211, 224, 228, 232</sup>. Для увеличения количества сочетающихся групп, входящих в белок, последний обрабатывали *N*-карбоксиянгидридом *L*-тирозина<sup>183</sup>. Реакция азосочетания была использована для связывания на поверхности носителя не только ферментов, но и других типов белков, например антител<sup>244</sup>.

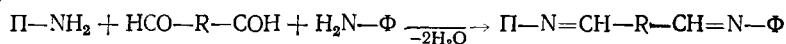
#### IV. ОБРАЗОВАНИЕ АЗОМЕТИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

Альдегиды взаимодействуют с аминогруппами белков в мягких условиях с образованием оснований Шиффа:

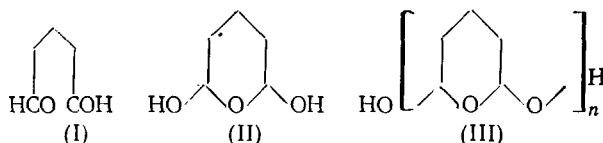


Особенности этой реакции подробно рассмотрены в обзоре<sup>105</sup>. В последние годы эта реакция была положена в основу одного из наиболее интенсивно разрабатываемых путей иммобилизации ферментов<sup>21, 88, 94, 171, 245, 247-253, 255-298</sup>.

Можно выделить два направления работ в этой области — использование полимеров, содержащих альдегидные группы (как это показано на приведенной схеме), и использование низкомолекулярных альдегидов (главным образом, глутарового) для связывания ферментов с аминосодержащими носителями:



Применяемый для иммобилизации глутаровый альдегид фактически является достаточно сложной смесью соединений. В частности, в его водных растворах наряду с собственно альдегидом (I) содержатся также низкомолекулярный циклический ацеталь (II) и его олигомеры (III). Указывается (см.<sup>16</sup>, стр. 208), что в смеси содержатся также производные глутарового альдегида, содержащие в  $\alpha$ -положении к альдегидной группе двойную связь, способную взаимодействовать с аминогруппой с присоединением<sup>105</sup>



Из полимерных аминосодержащих носителей в сочетании с глутаровым альдегидом чаще всего используют аминоэтилцеллюлозу<sup>21, 245-247, 250, 257, 277, 290, 287</sup>. Из других аминосодержащих полимеров можно отметить аминополистирол<sup>21, 171</sup>; частично гидролизованные полиамиды<sup>248, 259-262, 288, 289</sup>; стиролдивинилбензолные сополимеры, модифицированные диаминами<sup>297</sup>; сополимер малеинового ангидрида и этилена, обработанный гексаметилендиамином<sup>94</sup>; продукты взаимодействия полиметилметакрилата и 3-аминопропилтриэтоксисилана<sup>292</sup>; полимеры, содержащие в боковой цепи остатки лизина, присоединенные к внутренней поверхности нейлоновой трубки, активированной диметилсульфатом<sup>293</sup>. Для иммобилизации с использованием глутарового альдегида применяют также фенолформальдегидные смолы<sup>241, 265-267, 275</sup>, желатину<sup>291</sup>, полиакриламида<sup>88, 253</sup> и некоторые другие полимеры<sup>271, 278</sup>.

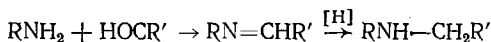
Значительное число работ последних лет посвящено получению полимеров, содержащих альдегидные группы в боковых цепях, и применению их в качестве носителей для иммобилизации ферментов. Для этих

целей применяли ряд производных акролеина — аддукт полиакролеина и бисульфита натрия<sup>269, 279, 283</sup>, сополимер акролеина и стирола<sup>263</sup>, сополимер акролеина и акриловой кислоты<sup>274</sup>. В реакцию с ферментами вводили также продукты частичного окисления полисахаридов, сопровождающегося раскрытием цикла, в частности, диальдегидцеллюлозу<sup>258, 264, 270, 276</sup>, диальдегидэпидекс<sup>210, 429</sup>, диальдегиддекстран<sup>280</sup>, этоксикарбонилцеллюлозу<sup>249</sup>, продукты гидролиза полимерных ацеталей<sup>255, 256, 282, 294</sup>, окисленные фенолформальдегидные смолы<sup>256, 244</sup>, полимерные производные пиридоксальфосфата<sup>239, 240, 295</sup>, полистирол, формилированный 1,1-дихлорметилловым эфиром<sup>171</sup>, сополимеры ненасыщенных альдегидов и винилпирролидона<sup>93</sup>, продукт реакции полиакролеина<sup>254</sup>.

Заслуживает внимания полимер метакрилоилванилина (поли-4-формил-2-метоксифенилметакрилат) и его сополимеры с аллиловым спиртом (*p* молей аллилового спирта на 1 моль альдегида), имеющие фирменные названия соответственно «Ванакрил» и «Ванакрил-р»<sup>272, 273, 276, 298</sup>. Имобилизованные на таких носителях препараты ферментов при хранении в водной среде снижают свою активность. Это, возможно, связано с переходом части фермента в раствор в результате гидролиза сложной эфирной группы при остатках метакриловой кислоты<sup>272, 284</sup>.

Следует упомянуть также работу<sup>286</sup>, в которой предложен метод иммобилизации глюкозооксидазы на полиаминостироле после предварительного окисления (до 60% углеводных остатков) этого фермента с образованием альдегидных групп.

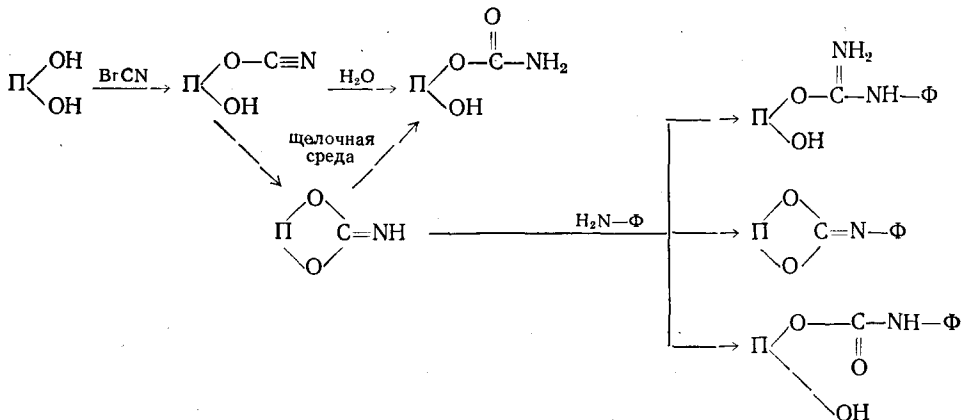
Нужно отметить, что азометиновые группы недостаточно устойчивы в кислых средах. Для повышения устойчивости системы полимер — белок азометиновые группы предложено восстанавливать боргидридом натрия<sup>105, 280, 296</sup>:



## V. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИИМИДОКАРБОНАТОВ

Для иммобилизации ферментов широко применяют реакцию аминогрупп белков с полиимидокарбонатами. Эти соединения обычно получают при взаимодействии полимерных спиртов с галогенидами (главным образом, с бромистым цианом)<sup>41, 63, 77, 80, 219, 247, 299-370</sup>. Этот метод был предложен в работах<sup>299, 300</sup>; он привлекает быстротой проведения реакции, относительно высокой устойчивостью активированного носителя, его высокой реакционной способностью по отношению к аминогруппам фермента.

Реакция протекает по следующей схеме<sup>5, 335</sup>:



Полиимидокарбонат, образующийся в качестве основного продукта при активировании полиатомного спирта, может в щелочной среде давать неактивный незамещенный карбамат. Карбамат может образовываться также из промежуточного цианата под действием воды.

Реакция имидокарбонатов с аминогруппами белков может протекать по нескольким направлениям. При этом могут получаться изомочевины, N-замещенные карбаматы (уретаны). Весьма вероятно также образование межцепного иминокарбоната, который также может вступать во взаимодействие с аминогруппами фермента (см.<sup>16</sup>, стр. 176).

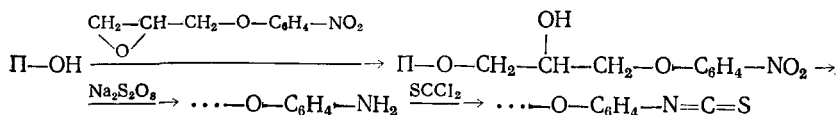
В подавляющем большинстве работ в качестве полиатомных спиртов используют полисахариды: агарозу (сефарозу)<sup>77, 307, 308, 316, 317, 321–323, 330, 339–343, 347–353, 88, 238–240, 290, 294, 296, 354–367</sup>, декстран (сефадекс)<sup>302, 315–318, 320–323, 328, 331, 338, 344, 345, 347, 367–369</sup>, реже — крахмал<sup>317</sup>, целлюлозу<sup>41, 306, 344, 346</sup>. Из других природных полимеров применялась альгиновая кислота<sup>370</sup>; в этом случае система полимер — фермент растворима при pH > 4, но выделяется из раствора при pH < 3. Значительно реже применяют для этих целей синтетические полимеры. В частности, описано активирование бромистым цианом сополимера акриламида и оксиэтилметакрилата<sup>88, 90</sup>. Очень редко для активирования полимеров вместо бромистого циана используют SiCN<sup>371</sup>. Указывается, что входящие в боковые полимерные цепи имидокарбонатные группы могут быть получены при взаимодействии полисахаридов с органическими цианатами (см.<sup>16</sup>, стр. 80 и 181).

Кроме ферментов, бромциановым методом присоединяют к носителям также антитела<sup>372</sup>, коферменты<sup>373</sup>.

#### VI. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ НОСИТЕЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ИЗОЦИАНАТНЫЕ И ИЗОТИОЦИАНАТНЫЕ ГРУППЫ

Полимеры, содержащие эти высокорекреакционноспособные группы, несмотря на их относительно высокую реакционную способность к гидролизу с успехом использовали для иммобилизации ферментов<sup>56, 166, 209, 242, 204, 374–387</sup>. Хотя в принципе с изоцианатными группами могут взаимодействовать многие группы, входящие в состав белковой молекулы (карбокисильные — с образованием амидов, гидроксильные и фенольные — с образованием уретанов, амидные — с образованием ацилмочевин и т. д.), при умеренных температурах, при которых происходит взаимодействие с белком, наиболее реакционноспособной является аминогруппа, дающая с изоцианатами и изотиоцианатами мочевинные и тиомочевинные группы.

Для иммобилизации применялись как искусственные, так и синтетические полимерные носители. В частности, была предложена следующая схема получения полисахаридов, содержащих изотиоцианатные группы<sup>246, 378</sup>:



Из синтетических полимеров, использовавшихся для иммобилизации, можно отметить сополимеры метакриловой кислоты, *n*-аминостирола и 3,5-стиролдиизоцианата<sup>380</sup>; сополимеры метакриловой и акриловой кислот и 3-стиролдиизоцианата<sup>379</sup>; привитые сополимеры полипропилена и *n*-нитростирола, в которых полученные восстановлением аминогруппы были обработаны тиофосгеном<sup>204, 385</sup>.

Для иммобилизации применялись также синтетические полимеры, содержащие концевые изоцианатные группы в основных или боковых

цепях, такие как полимочевины на основе гексаметилендиизоцианата и толуилендиизоцианата или гексаметилендиамина и триэтилендиамина<sup>166</sup>, простые полиэфиры с концевыми изоцианатными группами<sup>381</sup>, полиуретаны на основе полипропиленгликоля и толуилендиизоцианата<sup>386, 387</sup>, продукты обработки полиаллилового спирта 4-изотиоцианатофенилизоцианатом<sup>242</sup>.

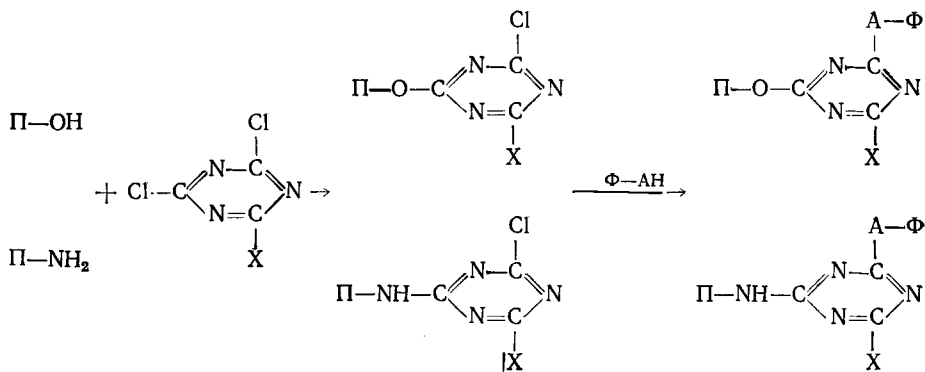
Предложено также сначала обрабатывать фермент (трипсин) толуилендиизоцианатом, а затем сшивать полученный полиизоцианат полипропиленгликолем<sup>387</sup>.

## VII. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРОВ С АКТИВНЫМ АТОМОМ ГАЛОГЕНА

### 1. Полимеры, содержащие хлортриазинозные группы

В последние годы в связи с широким распространением носителей, содержащих альдегидные и имидокарбонатные группы, несколько снизился интерес к полимерам, содержащим активный атом хлора, входящий в триазинозную группу. Однако работы, в которых для иммобилизации ферментов использованы полимеры, содержащие эти группы, появляются до сих пор<sup>63, 163, 195, 206, 388-412</sup>.

По этому методу активированный носитель образуется при реакции полимера, содержащего группу с активным атомом водорода (окси-, аминогруппу) с цианурхлоридом или монозамещенным дихлортриазинном. Оставшиеся незамещенными атомы (атом) хлора образует хлористый водород при реакции с белковой молекулой:



Здесь X=Cl или R, А — остаток окси-, amino-, гуанидино-, фенольной, SH-группы молекулы фермента.

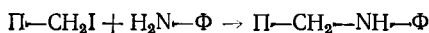
Из полимеров, содержащих активные атомы, наиболее широко применялись полисахариды (например, в<sup>392, 398, 410</sup>) или их аминоэтилпроизводные (например, в<sup>290, 308, 399</sup>). Однако использовались и синтетические полимеры, такие как фенолформальдегидные смолы<sup>409</sup>, аминированный полистирол<sup>171</sup>. Кроме цианурхлорида для активирования этих полимеров применяли 2-амино-4,6-дихлор-S-триазин<sup>63, 290</sup>, 2-карбоксиметиламино-4,6-дихлор-S-триазин<sup>63</sup>, продионовые красители<sup>308</sup>.

Водорастворимые производные протеаз получены с использованием декстрана, модифицированного цианурхлоридом<sup>93</sup>. При помощи цианурхлорида аргиназа и уреазы были присоединены к различным сторонам целлюлозной мембраны<sup>412</sup>. Описана модификация ферментов низкомолекулярными дихлортриазиновыми красителями с последующим взаимодействием с аминоэтилцеллюлозой<sup>407</sup>.

## 2. Полимеры, содержащие активный атом галогена при алифатических и ароматических атомах углерода

Публикации о таких носителях появились в последние 5—6 лет. Так, предложено использовать полимеры 4-иод-*n*-бутилметакрилата; для получения таких полимеров использовали обмен галогена при реакции мономерного и полимерного 4-хлор-*n*-бутилметакрилата с иодистым натрием<sup>413–419</sup>.

Взаимодействие таких носителей с ферментами протекает преимущественно по следующей схеме:



Очевидно, в реакцию могут вступать и другие алкилирующиеся в этих условиях группы.

Аналогично реагируют с ферментами сополимеры метакриловой кислоты и 3-фтор-4,6-динитроанилида метакриловой кислоты, а также сополимеры этих мономеров с дивинилбензолом<sup>374–376, 420–424</sup>; и полимеры и сополимеры фторстиролов и их производных<sup>376, 423</sup>.

Из других полимеров, содержащих активный атом галогена при алифатических или ароматических атомах углерода и применяющихся для иммобилизации ферментов, отметим бром- и иодацетилцеллюлозу<sup>43, 425, 426</sup>, бромацетамидогексилсефарозу<sup>238–240, 296</sup>, продукты ацилирования поливинилового спирта бромангидридом или ангидридом бромуксусной кислоты<sup>427</sup>, производные полиакриламида, содержащие остатки иодуксусной кислоты<sup>428</sup>, 3-хлор-2-окси-*n*-пропилэпидекс<sup>429</sup>.

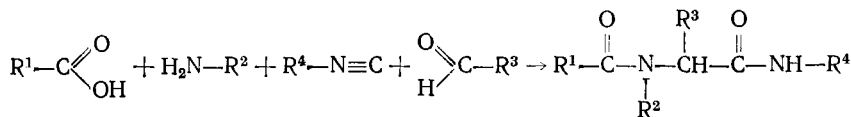
## 3. Полимеры, содержащие активированные атомы галогена, входящие в неорганические группы

Иногда используют полимерные носители, содержащие активированные атомы галогена, входящие в неорганические группы, главным образом в остатки неорганических кислот, в том числе кислот переходных металлов. В частности, предложено активировать синтетические полимеры и полисахариды перед взаимодействием с ферментами тионилхлоридом или сульфурилхлоридом<sup>371, 430, 431</sup>. В качестве активирующих средств использовали также ряд галогенидов переходных металлов ( $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{VCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{ZrCl}_4$ ). Этими соединениями обрабатывали как синтетические (полиамиды)<sup>432</sup>, так и природные (целлюлоза<sup>432–434</sup>, хитин<sup>435</sup>) полимеры.

## VIII. ПРОЧИЕ МЕТОДЫ

### 1. Использование метода Уги

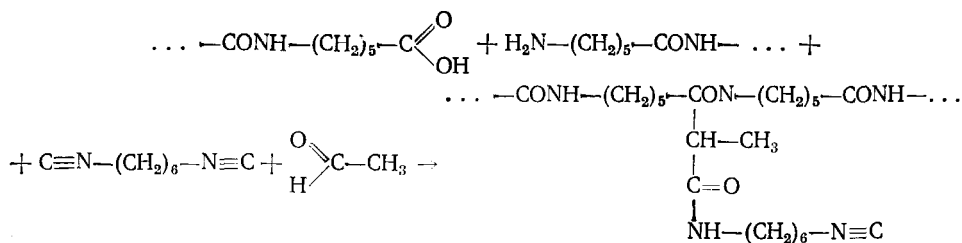
Как показал Уги<sup>436</sup>, альдегиды (кетоны), изонитрилы, карбоксильные и аминные группы способны вступать во взаимодействие:



Эта реакция была использована для связывания с полимерными носителями ряда ферментов<sup>437–443</sup>. Например, сефароза была окислена с получением полимера, содержащего альдегидные группы. Этот полимер в присутствии 3-(диметиламино)пропилизонитрила при pH 6,5 в течение 6 час связывает химотрипсин<sup>438, 439</sup>.

Аналогичным образом могут вступать в эту реакцию карбоксиметилсефадекс, аминоэтилированный полиакриламид<sup>438</sup>; полиамин, полученный при взаимодействии диаминодифенилметана с сефарозой, активированной бромистым цианом<sup>437</sup>. Взаимодействие этого полимера с пепсином проводили в присутствии фенилизонитрила и ацетальдегида.

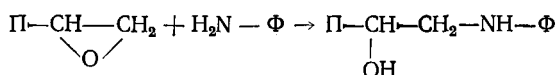
Другой путь иммобилизации заключается в том, что сначала получается носитель, содержащий в достаточном количестве карбоксильные и аминные группы. Для этих целей использовали частично гидролизованный поликапроамид. Проведение реакции такого полимера с гексаметилендиизонитрилом и ацетальдегидом дает полиамид, содержащий в боковой цепи изонитрильные группы<sup>442, 443</sup>:



Наконец, в результате реакции этого носителя с трипсином в присутствии ацетальдегида происходит фиксирование фермента.

## 2. Реакция ферментов с полимерами, содержащими эпоксидные группы

В последнее время стали появляться работы, описывающие иммобилизацию ферментов на полимерных носителях, содержащих эпоксидные группы<sup>444-449</sup>:

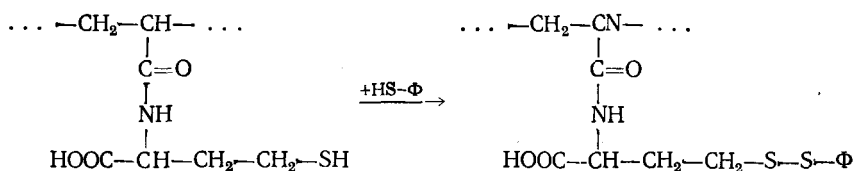


Так, для этих целей были применены сополимеры эпоксидсодержащих мономеров (глицидилметакрилат, глицидилакрилат, простые непредельные глицидиловые эфиры) с другими мономерами, например акрилонитрилом и метакрилонитрилом<sup>445, 446</sup>. При этом активность иммобилизованного фермента была выше, если носитель предварительно активировали амином<sup>444</sup>.

Уреаза была иммобилизована на привитом сополимере карбоксиметилцеллюлозы и глицидилметакрилата<sup>447-449</sup>. На способности аминогруппы белков реагировать с эпоксисоединениями основан метод иммобилизации пероксидазы, заключающийся в сополимеризации с акриламидом фермента, предварительно обработанного глицидилметакрилатом<sup>450</sup>.

## 3. Реакция тиол-дисульфидного обмена

Упомянутый ранее «Энзакрилполитиолактон» может быть связан с меркаптогруппами ферментов при введении его в реакцию в виде меркаптокислоты<sup>469</sup>:

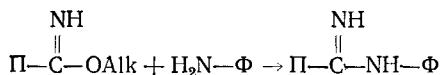


Для увеличения содержания в исходном ферменте меркаптогрупп его предварительно можно обработать N-галогенацетилцистеинтиолактоном<sup>451</sup> (см. также<sup>18</sup>, стр. 200).

Карлссон с сотр.<sup>452</sup> предложили другой способ иммобилизации ферментов (амилазы и химотрипсина) с помощью реакции тиол-дисульфидного обмена. Метод включает два этапа. На первом этапе проводили модификацию NH<sub>2</sub>-групп ферментов при помощи 3-меркаптопропилимидаата, в результате чего в белок вводится меркаптогруппа. На втором этапе фермент с введенной меркаптогруппой связывали с дисульфидным производным агарозы, полученным действием 2,2-дипиридилсульфида на меркаптопропиловый эфир агарозы.

#### 4. Реакции с полимерными имидоэфирами

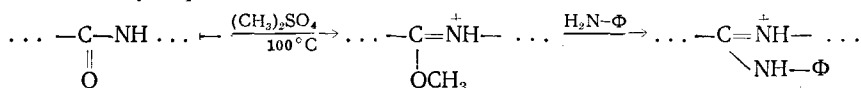
Полимеры, содержащие имидоэфирные группы, могут вступать во взаимодействие с аминокруппами белков:



Так, Заборский вводил имидоэфирные группы в полиакрилонитрильный порошок, обрабатывая последний хлористым водородом в среде метанола; этот полимер использовался как носитель<sup>453, 454</sup>. Этот полимер применяли и позднее<sup>456</sup>.

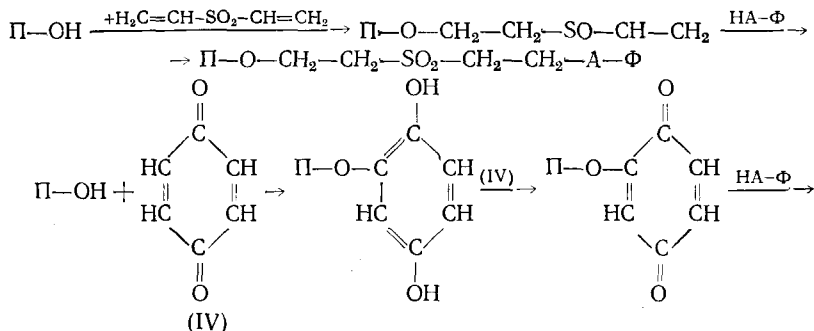
Имидоэфиры применяли и как сшивающие агенты. В частности, ряд работ посвящен взаимодействию ферментов и аминоксодержащих полимеров (аминэтилцеллюлозы<sup>455</sup>, продуктов реакции полиамидов, активированных диметилсульфатом, с лизином<sup>293</sup>) в присутствии диэтиладипимидата.

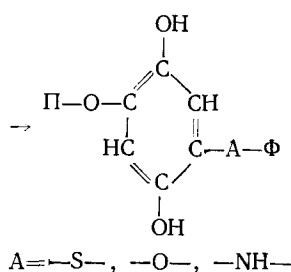
Предложен еще один способ иммобилизации (глюкозооксидазы) с использованием полимерных имидоэфиров — на полиамиде, обработанном диметилсульфатом<sup>293</sup>:



#### 5. Использование носителей с активированной двойной связью

Гидроксилсодержащие полимеры могут быть активированы дивинилсульфоном (см.<sup>460</sup>, стр. 34) или хиноном (см.<sup>460</sup>, стр. 35, и<sup>461</sup>). Такие носители могут взаимодействовать с amino-, гидроксильными или тиольными группами ферментов. Эти процессы могут быть представлены следующими схемами:





## 6. Радикальные реакции

Радикальные процессы также играют определенную роль в иммобилизации ферментов. В первую очередь это относится к известным процессам включения фермента в гель при полимеризации ненасыщенных мономеров (например, акриламида или его смесей с матилен-*бис*-акриламидом и т. п.), которая часто сопровождается возникновением ковалентной связи между молекулами фермента и гелеобразующего полимера за счет реакции передачи цепи с последующей прививкой (см.<sup>16</sup>, стр. 144). Известны также случаи радикальных реакций в других системах: например, химотрипсин иммобилизуют с использованием свободных радикалов, образующихся в водном растворе в результате  $\gamma$ -облучения (<sup>60</sup>Co)<sup>457</sup>. К радикальным процессам следует отнести случаи сополимеризации непредельных производных ферментов<sup>458, 459</sup>.

\* \* \*

Как показывает данный обзор, в настоящее время разработан ряд процессов, позволяющих связывать ковалентной связью ферменты и полимерные носители, и весьма широко используются возможности введения в последние различных функциональных групп. Естественно, с ходом развития этой области иммобилизации ферментов ряд методов утратил или постепенно утрачивает свое значение, уступая место более эффективным (это можно видеть из анализа цитируемой литературы). При этом полимерные носители использовались в различных формах — в виде гранул, покрытий, волокон, трубок, мембран, гелей.

Сейчас накоплены данные, в какой-то мере позволяющие прогнозировать эффективность применения того или иного носителя. Так, Порат сформулировал круг свойств, которыми должен обладать «идеальный носитель»: полная нерастворимость в воде; высокая химическая и биологическая стойкость, высокая механическая прочность; высокая реакционная способность по отношению к ферменту и легкость придания ее носителю; форма, удобная для применения; наконец, высокая гидрофильность носителя, позволяющая работать с ним в водных средах (см.<sup>16</sup>, стр. 68). Определенное внимание в некоторых работах уделено другим свойствам носителей, в частности, полярности (ионные и электрические эффекты<sup>15, 462</sup>).

Однако систематического изучения влияния природы носителя, в частности, его химического строения, структуры, молекулярно-вещного распределения (для растворимых форм) как на особенности его связывания с белком, так и на эффективность получаемых биокатализаторов до сих пор не проведено. В подавляющем большинстве цитированных в данном обзоре работ этим вопросам уделялось весьма скромное внимание. По тем данным, которые приводятся во многих из них, невозможно сделать выводы о количественном содержании в носителе ответственных за реакцию с белком функциональных групп, степени их пре-



вращения в процессе связывания с ферментом, влияния условий получения системы полимер — фермент на ее каталитическую активность.

В качестве примера подобной публикации можно привести работу Баума<sup>171</sup>, сравнившего активность иммобилизованных амилоглюкозидазы и папаина, полученных с применением полистирола, содержащего различные функциональные группы, при этом было установлено, что носители, содержащие различные группы (альдегидные, хлортриазинные, активированные эфирные) дают препараты с различной активностью. Однако, в<sup>171</sup>, не указывается, например, сколько таких групп содержалось в каждом из исходных носителей; не указывается также, что представлял собой носитель, в частности, был ли это линейный гомополимер или пространственный носитель, полученный с применением сшивающего агента. Между тем, на наш взгляд, все эти моменты играют существенную роль в процессе получения эффективных биокатализаторов. В этом плане можно сослаться на известный факт существования экстремальной зависимости между содержанием в исходном носителе (сополимере этилена и малеинового ангидрида) функциональных групп и активностью иммобилизованного на этом носителе фермента<sup>141</sup>.

Не исследованы подробно и некоторые уже известные факты влияния химического строения носителя на свойства иммобилизованных ферментов, такие как предпочтительность расположения активных групп на концах боковых ответвлений, а не на главной полимерной цепи<sup>293</sup>, отрицательное влияние обогащения таких ответвлений ароматическими группами (см.<sup>16</sup>, стр. 188), отрицательное влияние наличия в месте связывания носителя и фермента гидролитически лабильных групп<sup>454, 455</sup>, а также наличия групп, способствующих такому гидролизу (см.<sup>16</sup>, стр. 166).

Все это указывает на то, что глубокое и систематическое изучение влияния свойств носителя на свойства получаемых систем может выявить значительные резервы как в повышении активности получаемых препаратов, так и в увеличении эффективности их работы. Вероятно, исследования в этой области следует развивать в следующих направлениях: 1) изучение влияния химического строения и физических свойств носителя на особенности протекания реакции полимер — фермент; 2) изучение влияния химического строения и физических свойств носителя на свойства получаемого иммобилизованного фермента.

Нам кажется, что особое внимание следует уделить следующим особенностям химического строения полимерного носителя: содержанию функциональных групп и степени их реализации в процессе реакции с белком, строению окружающих групп и участков полимерной цепи, прилегающих к месту связи носитель — фермент, строению и содержанию групп, ответственных за гидрофильность и полярность носителя.

В связи с этим следует отметить работы Березина с сотр., в которых предложен метод, использующий носитель «комплементарный» поверхности ферментной глобулы, и заключающийся в сополимеризации гидрофильного мономера (метакрилат натрия), сшивающего агента (метилен-бис-метакрилат) с ферментом (химотрипсин), модифицированным аналогом мономера (хлорангидридом метакриловой кислоты). Таким путем было достигнуто повышение на 40° порога термостабильности фермента по сравнению с нативным образцом<sup>458, 459</sup>.

Весьма возможно, что определенные данные об особенностях реакции носителя и фермента могут дать кинетические исследования образования иммобилизованного фермента.

Самого пристального внимания заслуживает исследование конфигурационных изменений в ферменте, происходящих в процессе его реак-

ции с носителем. Важность этого момента была продемонстрирована Мартинеком с сотр., показавшими, что активность фермента (химотрипсина) может существенно меняться с изменением степени растяжения нити из нейлона, вискозы или человеческого волоса, к которой он был прикреплен ковалентной связью<sup>285, 288</sup>.

За время подготовки данного обзора к печати в литературе появилось значительное число публикаций в данной области, из которых следует отметить работы<sup>463-474</sup>.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Кестнер, Успехи химии, 43, 1480 (1974).
2. E. Katchalski, J. Silman, R. Goldman, Adv. Enzymol., 34, 445 (1971).
3. J. Turkova, Chem. Listy, 68, 489 (1974).
4. H. D. Brown, F. K. Hasselberger, in Chemistry of the Cell Interface, ed. H. D. Brown, Acad. Press, N. Y., 1971, part B; p. 185.
5. В. И. Суровцев, Успехи соврем. биологии, 77, 117 (1974).
6. E. Katchalski, in Structure—Function Relationships of Proteolytic Enzymes, ed. P. Desnuelle, H. Neurath, M. Ottesen, Acad. Press, N. Y., 1970, p. 198.
7. R. Goldman, L. Goldstain, E. Katchalski, in Biochemical Aspects of Reactions on Solid Supports, ed. G. R. Stark, Acad. Press, N. Y., 1971, p. 1.
8. L. Goldstein, in Fermentation Advances, Papers Int. Ferment Symp., ed. D. Perlman, Acad. Press, N. Y.—London, 1969, p. 391.
9. J. Cryszkiewicz, Folia Biologica, 19, 119 (1971).
10. A. S. Lindsey, J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem., 3, 1 (1969).
11. S. I. Gutcho, Immobilized Enzymes, Noyes Date Corp., Park Ridge, N. Y. (1974); C. A., 82, 166725 (1975).
12. T. M. S. Chang, in Enzymology, v. 1, McGill Univ., N. Y., 1975, p. 245; C. A., 83, 136745 (1975).
13. O. Zaborsky, Immobilized Enzymes, Cleveland, Ohio (1973); C. A., 80, 11919 (1974).
14. Insolubilized Enzymes, ed. M. Salmons, C. Saronio, S. Gazzatini, Rawen Press, N. Y., 1974.
15. И. В. Березин, А. М. Клибанов, К. Мартинек, Успехи химии, 44, 17 (1975).
16. Сб. Иммуобилизованные ферменты, ред. И. В. Березин, В. К. Антонов, К. Мартинек, Изд. МГУ, М., 1976.
17. Р. Витфильд, В. Весли, в кн. Химические реакции полимеров, «Мир», М., 1967, стр. 326.
18. F. Micheel, J. Evers, Macromol. Chem., 3, 200 (1949).
19. T. Curtius, Ber., 35, 3226 (1902).
20. H. D. Brown, S. K. Chattopadhyay, A. Patel, Biochem. Biophys. Res. Commun., 25, 304 (1966).
21. H. D. Brown, W. S. Mathews, S. K. Chattopadhyay, A. Patel, S. N. Pennington, Biochim. Biophys. Acta, 279, 356 (1972).
22. H. D. Brown, S. K. Chattopadhyay, S. N. Pennington, J. Cell. Biol., 31, 17a (1966).
23. H. D. Brown, A. Patel, Enzymologia, 32, 205 (1967).
24. H. D. Brown, A. Patel, S. K. Chattopadhyay, S. N. Pennington, Там же, 35, 215 (1968).
25. A. B. Patel, S. N. Pennington, H. D. Brown, Biochim. Biophys. Acta, 178, 626 (1969).
26. M. A. Mitz, L. J. Summaria, Nature, 189, 576 (1961).
27. C. J. Epstein, C. B. Anjinsen, J. Biol. Chem., 237, 2175 (1962).
28. G. Manecke, S. Singer, Makromol. Chem., 39, 13 (1960).
29. G. Manecke, H.-J. Forster, Там же, 91, 136 (1966).
30. M. D. Lilli, C. Money, W. Hornby, E. M. Crook, Biochem. J., 95, 45 (1965).
31. M. D. Lilli, W. Hornby, E. M. Crook, Там же, 100, 718 (1966).
32. W. E. Hornby, M. D. Lilli, E. M. Crook, Там же, 98, 420 (1966).
33. H. D. Orth, W. Bruemmer, M. Klockow, N. Hennrich, Пат. ФРГ 2247163; C. A., 81, 101301 (1974).
34. W. E. Hornby, M. D. Lilli, E. M. Crook, Biochem. J., 107, 669 (1968).
35. M. D. Lilli, A. K. Sharp, Chem. Eng., 215, CE12 (1968).
36. T. Takami, Siekagaku, 40, 749 (1968); C. A., 70, 74662 (1969).
37. R. Whittam, B. A. Edwards, K. P. Wheeler, Biochem. J., 107, 2, 3p (1968).
38. K. P. Wheeler, B. A. Edwards, R. Whittam, Biochim. Biophys. Acta, 178, 626 (1969).
39. C. W. Wharton, E. M. Crook, K. Bocklehurst, Europ. J. Biochem., 6, 565 (1968).
40. C. W. Wharton, E. M. Crook, K. Bocklehurst, Там же, 6, 572 (1968).
41. F. Hasselberger, H. D. Brown, S. K. Chattopadhyay, A. Mather, R. O. Stasiw, A. B. Patel, S. N. Pennington, Cancer Res., 30, 2736 (1970).

42. J. K. Inman, H. M. Dinitzis, *Biochemistry*, **8**, 4074 (1969).
43. M. Wellman-Bednowska, A. Szweczek, *Arch. Immunol. Theor. Exp.*, **21**, 625 (1973).
44. N. Miwd, K. Ohtomo, Яп. пат. 7595478 (1975); С. А., **83**, 174786 (1975).
45. W. Brummer, N. Hennrich, M. Klockow, H. Lang, H. D. Orth, *Eur. J. Biochem.*, **256**, 129 (1972).
46. Д. Г. Звягинцев, Л. Я. Великанов, II Всес. биохимический съезд, Ташкент, 1969, Тема 2—2—5, стр. 18; цит. по<sup>1</sup>.
47. J. A. Hourigan, G. J. Melrose, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **10**, 761 (1972).
48. A. B. Patel, F. Hasselberger, C. Ghiren, H. Brown, *Biophys. J.*, **10**, 150A (1970).
49. R. A. Zingaro, M. Uziel, *Biochim. Biophys. Acta*, **213**, 371 (1970).
50. Пат. ФРГ 2059165 (1971); С. А., **75**, 95019 (1971).
51. P. Liu-Oshroff, R. T. Guillory, *Biochem. J.*, **127**, 419 (1972).
52. H. Maeda, H. Suzuki, *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **44**, 547 (1970); цит. по<sup>1</sup>.
53. G. G. Guilbault, G. T. Lubrono, *Anal. Chem. Acta*, **60**, 254 (1972); цит. по<sup>1</sup>.
54. F. B. Erlanger, M. F. Isambert, A. M. Michelson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **40**, 70 (1970).
55. S. A. Barker, P. J. Somers, R. Epton, *Carbohydr. Res.*, **14**, 323 (1970).
56. H. Fritz, M. Gebhardt, R. Meister, H. Schult, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **351**, 1119 (1970).
57. Y. Ohno, M. A. Stahmann, *Macromolecules*, **4**, 350 (1971).
58. Y. Ohno, M. F. Stazman, Яп. пат. 7006875 (1970); С. А., **73**, 10965 (1970).
59. С. К. Василенко, А. Г. Беньяминава, Л. Д. Детиненко, Г. А. Ким, Д. Г. Кнорре, *Биохимия*, **37**, 527 (1972).
60. H. D. Brown, Пат. ФРГ 2036180 (1971); С. А., **75**, 3921 (1971).
61. Англ. пат. 1174854 (1969); С. А., **72**, 101121 (1970).
62. W. E. Hornby, H. H. Filippusson, *Biochim. Biophys. Acta*, **220**, 343 (1970).
63. R. O. Stasiw, A. B. Patel, F. X. Hasselberger, H. D. Brown, *Biophys. Soc. Abst.*, **14**, 1490 (1970); цит. по<sup>1</sup>.
64. Франц. пат. 2235133 (1975); С. А., **83**, 74687 (1975).
65. H. Lang, N. Hennrich, H. D. Orth, W. Brummer, H. Klockow, *Chem. Z.*, **96**, 595 (1972).
66. L. J. Loeffler, J. V. Piere, *Biochim. Biophys. Acta*, **317**, 20 (1973).
67. Яп. пат. 74109579 (1974); С. А., **82**, 108224 (1975).
68. D. Jaworek, см.<sup>14</sup>, p. 65.
69. E. Brown, F. Minier, *Macromol. Chem.*, **176**, 25 (1975).
70. N. Weliky, H. H. Weetall, *Immunochemistry*, **2**, 293 (1965).
71. H. H. Weetall, N. Weliky, *Anal. Biochem.*, **14**, 160 (1966).
72. H. H. Weetall, N. Weliky, *Nature*, **204**, 896 (1964).
73. D. G. Hoave, D. E. Koshland, *J. Biol. Chem.*, **242**, 2447 (1967).
74. N. Weliky, F. S. Brown, E. C. Dale, *Arch. Biochem. Biophys.*, **131**, 1 (1969).
75. P. K. Nakane, G. B. Pierce, *J. Cell. Biol.*, **33**, 307 (1967).
76. J. P. Riehm, H. A. Scheraga, *Biochemistry*, **5**, 99 (1966).
77. K. Mosbach, B. O. Mattiasson, *Acta Chem. Scand.*, **24**, 2093 (1970).
78. K. Mosbach, R. Mosbach, Там же, **20**, 2807 (1966).
79. Англ. пат. 1122181 (1968); цит. по<sup>1</sup>.
80. B. Focher, P. Cremonesi, *Annales de Chimie*, **63**, 643 (1973).
81. T. E. Banks, B. K. Blossey, J. A. Shafer, *J. Biol. Chem.*, **244**, 6323 (1969).
82. S. Shaltiet, R. Mizzah, Y. Stupp, M. Sela, *Eur. J. Biochem.*, **14**, 509 (1970).
83. Y. Mezzasoma, C. Turano, *Bolletino della Societa Haliana di Biologia Sperimentale*, **47**, 407 (1971).
84. H. Nilsson, R. Mosbach, K. Mosbach, *Biochem. Biophys. Acta*, **268**, 253 (1972).
85. J. V. Miller, P. Cuatrecasas, E. B. Thompson, Там же, **276**, 407 (1972).
86. T. P. Mate, T. A. Horbett, A. S. Hoffman, B. D. Patner, in *Enzyme Engineering*, v. 2, ed. E. K. Pye, L. B. Wingard, Plenum, N. Y., 1974, p. 137; С. А., **83**, 55274 (1975).
87. H. D. Shell, M. A. Matteescu, *Acta Biol. Med.*, **34**, 959 (1975); С. А., **83**, 143668 (1975).
88. A. C. Johansson, K. Mosbach, *Biochim. Biophys. Acta*, **370**, 339 (1974); РЖБхим., **1975**, 12Ф280.
89. O. Valentova, J. Turkova, R. Lapka, J. Lima, Y. Cuopek, *Biochim. Biophys. Acta*, **403**, 192 (1975); РЖБхим., **1976**, 5Ф428.
90. K. Mosbach, *Acta Chem. Scand.*, **24**, 2084 (1970).
91. K. Martensson, *Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 567 (1974); РЖБхим., **1975**, 2Ф204.
92. T. Barth, K. Lose, I. Puškhik, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **38**, 2011 (1973).
93. Б. В. Москвичев, О. А. Миргородская и др., Симпозиум по физиологически активным и другим полимерам медицинского назначения, Л., Тезисы докл., М., 1975, стр. 33.
94. L. Goldstein, *Biochim. Biophys. Acta*, **327**, 132 (1973).
95. H. D. Schell, M. A. Mateescu, *Stud. si cerc. biochim.*, **17**, 307 (1974); РЖБхим., **1975**, 6Ф228.

96. В. П. Торчилин, Биорг. химия, 1, 991 (1975); РЖБхим., 1975, 23Ф238.
97. R. B. Woodward, R. A. Olofson, H. Mayer, J. Am. Chem. Soc., 83, 1010 (1961).
98. R. P. Patel, D. V. Lopicke, S. R. Brown, S. Price, Biopolymers, 5, 577 (1967).
99. R. Patel, S. Price, Там же, 5, 583 (1967).
100. A. B. Patel, S. S. Pennington, H. D. Brown, Biochem. Biophys. Acta, 178, 626 (1969).
101. T. Wagner, C. J. Hsu, G. Kelleher, Biochem. J., 108, 892 (1968).
102. Y. Levin, M. Pecht, L. Goldstein, E. Katchalski, Biochemistry, 3, 1905 (1964).
103. L. Goldstein, Y. Levin, M. Pecht, E. Katchalski, Там же, 3, 1914 (1964).
104. B. Adexander, R. Rimon, E. Katchalski, Federat. Proceed., 24, 804 (1965); цит. по 4.
105. R. E. Ferney, G. Blankenhorn, H. Dixon, in Advances in Proteinchemistry, N. Y., Acad. Press., v. 29, 1975, p. 135.
106. R. Rimon, B. Alexander, E. Katchalski, Biochemistry, 5, 792 (1966).
107. H. Silman, M. Albu-Weisenberg, E. Katchalski, Biopolymers, 4, 411 (1966).
108. C. Cohen, H. Slayter, L. Goldstein, B. Kucua, C. Hall, J. Mol. Biol., 22, 385 (1966).
109. A. Engel, B. Alexander, Federat. Proceed., 24, 512 (1965); цит. по 4.
110. E. B. Ong, Y. Tsang, G. E. Perlmann, J. Biol. Chem., 241, 5661 (1966).
111. S. Lowey, L. Goldstein, S. Luck, Biochem. Z., 345, 248 (1966).
112. E. Katchalski, Proc. VII Int. Congr. Biochem., Tokyo, 1967, v. 3, 1. 1968, p. 147; цит. по 4.
113. H. Fritz, K. Hochstrasser, E. Werle, E. Brey, B. M. Gebhardt, Z. anal. Chem., 243, 452 (1968).
114. H. Fritz, H. Schult, M. Neudecker, E. Werle, Angew. Chem., 78, 775 (1966).
115. H. Fritz, H. Schult, M. Neudecker, E. Werle, Там же, 5, 775 (1966).
116. H. Fritz, H. Schult, M. Hutzl, M. Wiedermann, E. Werle, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 348, 308 (1967).
117. H. Fritz, B. Brey, A. Schmal, E. Werle, Там же, 350, 617 (1969).
118. B. S. Kirkwood, E. G. Jaworski, Пат. США 3616229 (1971); С. А., 72, 128995 (1970).
119. E. Katchalski, L. Goldstein, U. Levin, Пат. США 3650901 (1972); С. А., 72, 128997 (1970).
120. Пат. ФРГ 1948273 (1970); С. А., 73, 10963 (1970).
121. G. Manecke, H. J. Forster, Пат. ФРГ 1282579 (1968); С. А., 70, 74670 (1969).
122. Англ. пат. 1274869 (1972); С. А., 74, 99808x (1971).
123. Пат. ФРГ 1917057 (1969); С. А., 72, 41772 (1970).
124. R. A. Zingaro, M. Uziel, Biochim. Biophys. Acta, 213, 371 (1970).
125. A. Conte, K. Lehmann, Hoppe-Seyler's Z., Physiol. Chem., 352, 533 (1971).
126. L. Goldstein, A. Lifshitz, M. Sokolovsky, J. Biochem., 2, 448 (1971).
127. L. Goldstein, Anal. Biochem., 50, 40 (1972).
128. W. Brummer, N. Hennrich, Europ. J. Biochem., 25, 129 (1972).  
89 (1974); РЖБхим., 1975, 14Ф263.
129. Пат. ФРГ 2062818 (1972); С. А., 77, 102648 (1972).
130. D. M. Krömer, K. Lehman, H. Plainer, B. Spsössler, J. Pol. Sci., Polym. Symp., 47, 89 (1974); РЖБхим., 1975, 14Ф263.
131. C. Alsen, U. Bertz, F. Ohnesorge, Biochim. Biophys. Acta, 377, 297 (1975).
132. Пат. ФРГ 2016729 (1970); С. А., 74, 94808 (1971).
133. Франц. пат. 2219172 (1974); С. А., 83, 3710 (1975).
134. Англ. пат. 1306472 (1973); С. А., 79, 19708 (1973).
135. D. Jaworek, W. Gruber, H. Berymeyer, Пат. ФРГ 1935711 (1974); С. А., 81, 60081 (1974).
136. C. Horvath, Biochim. Biophys. Acta, 358, 164 (1974); РЖБхим., 1975, 4Ф222.
137. Л. Я. Бессмертная, В. К. Антонов, Химия протеолитических ферментов, Тезисы Всесоюз. симпозиума, Вильнюс, 1973, стр. 43.
138. F. Hueper, F. Rauebusch, G. Schmidt-Kastner, B. Voemer, H. Bartl, Пат. ФРГ 2215539 (1973); С. А., 80, 79662 (1974).
139. L. Goldstein, Methods Enzymol., 19, 935 (1970).
140. Пат. США 3715278 (1973); РЖБхим., 1973, 24Ф1921.
141. L. Goldstein, Anal. Biochem., 50, № 1, 40 (1972).
142. H. G. Gassen, R. Nolte, Biochem. Biophys. Res. Commun., 44, 1410 (1971).
143. D. M. Kramer, K. Lehmann, H. Plainer, W. Reisner, B. G. Sprossler, J. Pol. Sci., Polym. Symp., 47, 77 (1974); РЖБхим., 1975, 14Ф259.
144. Y. Ohno, High. Polym. Japan, 24, № 4, 255 (1975); РЖБхим., 1975, 18Ф269.
145. В. М. Беликов, А. К. Овчаров, Л. С. Слободяникова, В. К. Латов, М. О. Рожанский, Авт. свид. СССР, № 425936 (1975); РЖБхим., 1976, 15X532.
146. J. Kennedy, см. 14, p. 29.
147. S. Barker, H. Cho Tan, S. Doss, J. Kennedy, Carbohydr. Res., 17, 471 (1971).
148. J. Kennedy, H. Cho Tan, Там же, 29, 246 (1973).
149. S. Barker, S. Doss, C. Gray, J. Kennedy, M. Sacey, T. H. Yeo, Там же, 20, 1 (1971).
150. J. Kennedy, A. Zamir, Там же, 29, 497 (1973).
151. J. Kennedy, Cho Tan, Там же, 29, 246 (1973).

152. S. Barker, J. Kennedy, A. Rosevear, J. Chem. Soc., C, 1971, 2726.
153. J. Kennedy, S. Barker, A. Rosevear, J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1972, 2568.
154. J. Kennedy, A. Rosevear, J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1974, 757.
155. H. Wexter, Пат. ФРГ 2407340 (1974); С. А., 82, 53478 (1975).
156. G. J. Bartling, H. D. Brown, S. K. Chattopadhyay, Biotechnol. Bioeng., 16, 361 (1974).
157. G. J. Bartling, H. D. Brown, S. K. Chattopadhyay, Nature, 244, 342 (1973).
158. H. D. Brown, G. J. Bartling, S. K. Chattopadhyay, см. <sup>86</sup>, p. 83; РЖБхим., 1976, 4Ф425.
159. G. J. Bartling, S. K. Chattopadhyay, H. D. Brown, J. Vincent, Biotechnol. Bioeng., 16, 1425 (1974).
160. G. J. Bartling, S. K. Chattopadhyay, C. W. Barker, H. D. Brown, Canad. J. Biochem., 53, 868 (1975); РЖБхим., 1976, 6Ф348.
161. P. V. Sundaram, Biophys. Res. Commun., 61, 717 (1970); РЖБхим., 1975, 14Ф260.
162. E. Brown, F. Minier, C. R. Helv. Scand. Acad. Sci., C, 279, 795 (1974).
163. Б. П. Суринов, Канд. дисс., Ленингр. химико-фарм. ин-т, Л., 1965.
164. Франц. пат. 2005645 (1969); С. А., 72, 41772Н (1970).
165. В. И. Суровцев, Канд. дисс., Ин-т природн. соед. АН СССР, М., 1965.
166. I. Chibata, T. Tosa, T. Mori, Пат. ФРГ 2252888 (1973); С. А., 80, 11923 (1974).
167. M. H. Keyes, F. E. Semersky, Пат. США 3860486 (1975); С. А., 82, 10822 (1975).
168. D. H. Calam, H. J. Thomas, Biochim. Biophys. Acta, 276, 328 (1972).
169. R. Epton, H. Thomas, An Introduction in Water-Insoluble Enzymes, Koch-Light Lab., England, 1971; цит. по A. Szewczuk, Wiad. Chem., 27, 289 (1973).
170. N. Dattagupta, H. Buenemann, J. Pol. Sci., 11, 189 (1973).
171. G. Baum, Biotechnol. Bioeng., 17, 253 (1975).
172. H. Faulstich, A. Schafer, M. Wechauf-Blöching, FEBS Letters, 48, 226 (1974); РЖБхим., 1975, 11Ф344.
173. D. H. Campbell, E. Leuscher, L. S. Lerman, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 37, 575 (1951); цит. по <sup>6</sup>.
174. Z. Pechan, Chem. Lide, 1971, № 2, 3; С. А., 75, 45122 (1971).
175. N. Grubhofer, L. Z. Scheith, Z. Physiol. Chem., 297, 108 (1954).
176. H. Brandenberger, Rev. Ferment. Ind. Aliment, 11, 273 (1956).
177. J. Cebra, D. Givol, J. Silman, E. Katchalski, J. Biol. Chem., 236, 1720 (1961).
178. J. Cebra, D. Givol, E. Katchalski, Там же, 237, 751 (1962).
179. J. Cebra, J. Immunol., 92, 977 (1964).
180. H. Jaquet, J. Cebra, Biochem., 4, 954 (1965).
181. I. H. Silman, D. Wellner, E. Katchalski, Isr. J. Chem., 1, 65 (1963).
182. A. N. Glazer, A. Bar-Eli, E. Katchalski, J. Biol. Chem., 237, 1832 (1962).
183. A. Bar-Eli, E. Katchalski, Nature, 188, 856 (1960).
184. A. Bar-Eli, E. Katchalski, J. Biol. Chem., 238, 1690 (1963).
185. N. Grubhofer, L. Zschleith, Naturwiss., 40, 508 (1953).
186. L. N. Kent, J. H. R. Slade, Biochem. J., 77, 12 (1960).
187. M. A. Mitz, R. J. Schleuter, J. Am. Chem. Soc., 81, 4024 (1959).
188. A. H. Sehon, Pure Appl. Chem., 4, 483 (1962).
189. A. H. Sehon, International Symp. on Immunological Methods of Biological Standardization, Royamont, 1965, Basel — N. Y., 1967, p. 51, цит. по <sup>6</sup>.
190. I. H. Silman, J. Cebra, D. Givol, J. Biol. Chem., 237, 1962 (1962).
191. A. Rimon, M. Gutman, S. Rimon, Biochim. Biophys. Acta, 73, 301 (1963).
192. L. Goldstein, M. Pecht, S. Blumberg, D. Atlas, Y. Levin, Biochem., 9, 2322 (1970).
193. M. Gutman, A. Rimon, Canad. J. Biochem., 42, 1339 (1964).
194. S. Rimon, Y. Stupp, A. Rimon, Там же, 44, 415 (1966).
195. Б. П. Суринов, С. Е. Манойлов, Биохимия, 31, 387 (1966).
196. P. Cresswell, A. R. Sanderson, Biochem. J., 43, 40 (1969); цит. по <sup>4</sup>.
197. R. Goldman, H. Silman, S. Caplan, O. Kedem, E. Katchalski, Science, 150, 758 (1965).
198. R. Goldman, O. Kedem, S. Caplan, E. Katchalski, Biochem., 7, 486 (1968).
199. T. Fukushi, T. Toshiro, J. Biochem. (Japan), 64, 283 (1968).
200. Q. Z. Hussain, T. F. Newcomb, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 115, 301 (1964).
201. E. Riesel, E. Katchalski, J. Biol. Chem., 239, 1521 (1964).
202. H. D. Brown, A. Patel, S. K. Chattopadhyay, Amer. J. Botany, 55, 729 (1968).
203. W. Ledingham, W. E. Hornby, FEBS Letters, 6, 118 (1969).
204. M. J. Liddy, J. L. Garnett, R. S. Kenyon, J. Polym. Sci., Polym. Symp., 49, 109 (1975); РЖХим., 1975, 20С266.
205. E. Katchalski, Symmetry and Functions of Biological Systems at the Macromolecular Level, Proc. XI Nobel Symp., ed. A. Engström, Stockholm, 1969, p. 283, цит. по <sup>1</sup>.
206. S. Avrameas, T. Ternynck, Immunochemistry, 6, 53 (1969).
207. S. A. Barker, P. J. Somers, Carbohydr. Res., 9, 257 (1969).
208. Пат. ФРГ 1695662 (1974); РЖХим., 1975, 23О281.
209. S. A. Barker, P. J. Somers, R. Epton, J. McLaren, Carbohydr. Res., 14, 287 (1970).

210. Ch. Fleming, A. Gabert, P. Roth, H. Wand, *Acta Biol. Med. Ger.*, 31, 449 (1973); РЖБхим., 1974, 8Ф213.
211. E. Selegny, S. Avramear, G. Brown, D. Thomas, *Compt. rend.*, C, 266, 1968 (1968).
212. L. A. Sluyterman, J. Wijdenes, *Biochem. Biophys. Acta*, 200, 593 (1970).
213. J. R. Roozen, W. Pilnik, *Lebensmit.-Wiss. Technol.*, 4, 3, 93 (1971).
214. W. E. Hornby, H. Filippusson, A. McDonald, *FEBS Letters*, 9, 8 (1970).
215. H. Filippusson, W. E. Hornby, *Biochem. J.*, 120, 221 (1970).
216. A. M. Engel, B. Alexander, *J. Biol. Chem.*, 246, 1213 (1971).
217. P. Cresswell, A. R. Sanderson, *Biochem. J.*, 119, 447 (1970).
218. J. A. Hourigan, G. J. H. Melrose, *J. Macromol. Sci. Chem.*, 6, 761 (1972).
219. D. H. Calam, H. J. Thomas, *Biochem. Biophys. Acta*, 276, 328 (1972).
220. A. Lucacchini, G. Ronca, N. Montali, C. A. Rossi, *Int. J. Prot. Res.*, 4, 57 (1972).
221. C. L. Mehlretter, F. B. Weakly, *Biotechnol. Bioeng.*, 14, 281 (1972).
222. W. G. Owen, R. H. Wagner, *Am. J. Physiol.*, 220, 1941 (1971).
223. H. Mashovec, T. Borth, B. Lirovsky, J. Bychlik, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 38, 943 (1973); C. A., 79, 2015 (1973).
224. C. J. Gray, C. M. Livingstone, C. M. Jones, S. A. Barker, *Biochim. Biophys. Acta*, 341, 457 (1974).
225. B. W. Weinrich, J. H. Johnson, B. S. Wildy, D. C. Boyce, Пат. США 3597220 (1971); C. A., 75, 12850 (1971).
226. Пат. США 3647630 (1972); C. A., 75, 2047496 (1971).
227. Пат. США 3745088 (1973); C. A., 80, 11922 (1974).
228. Пат. ФРГ 1915970 (1969); C. A., 72, 63566 (1970).
229. Пат. ФРГ 1917761 (1970); *Ausz. Off.*, 1970, 330.
230. Пат. ФРГ 2062246 (1971); C. A., 75, 105550 (1970).
231. S. A. Barker, P. J. Alan, R. Epton, A. N. Emery, Пат. ФРГ 2012089 (1970); C. A., 74, 9896 (1971).
232. Пат. ФРГ 2336423 (1974); C. A., 81, 35060 (1974).
233. Пат. ФРГ 2407840 (1974); C. A., 82, 58847 (1975).
234. M. Sokolovski, A. Freeman, L. Goldstein, Пат. ФРГ 2427948 (1975); C. A., 83, 3708 (1975).
235. Пат. ФРГ 2440250 (1975); C. A., 83, 3715 (1975).
236. J. Garnett, R. Kenyon, M. Ziddy, Пат. ФРГ 2501840 (1975); C. A., 83, 128222 (1975).
237. S. Fukui, S. Ikeda, Яп. пат. 7542086 (1973); C. A., 83, 128220 (1975).
238. S. Fukui, S. Ikeda, *Proc. Biochem.*, 10, № 5, 3 (1975); РЖБхим., 1976, 3Ф431.
239. S. Fukui, S. Ikeda, *Kagaku toseibutsu*, 13, № 3, 145 (1975); РЖБхим., 1975, 18Ф271.
240. S. Fukui, S. Ikeda, M. Fujimura, H. Yamada, H. Kumagai, *Eur. J. Biochem.*, 51, № 1, 155 (1975); РЖБхим., 1975, 13Ф274.
241. M. Masri, V. Randall, W. Stanley, *Am. Chem. Soc., Polym. Prepr.*, 16, № 2, 70 (1975).
242. G. Manecke, *Chimia*, 28, 467 (1974); C. A., 82, 27625 (1975).
243. W. H. Daly, J. G. Dillon, *Am. Chem. Soc., Polym. Prepr.*, 14, № 2, 1295 (1973); РЖБхим., 1974, 4Ф131.
244. А. Е. Гурвич, *Биохимия*, 22, 977 (1957).
245. A. F. Habeeb, *Arch. Biochem. Biophys.*, 119, 264 (1967).
246. S. A. Barker, P. J. Somers, R. Epton, *Carbohydr. Res.*, 8, 491 (1968).
247. M. L. Green, G. Crutchfield, *Biochem. J.*, 115, 183 (1969).
248. S. A. Barker, P. J. Somers, *Carbohydr. Res.*, 9, 257 (1969).
249. S. A. Barker, J. F. Kennedy, C. J. Gray, Пат. ФРГ 2062246 (1971); C. A., 75, 105550 (1971).
250. С. К. Glassmeyer, Ph. D. Thesis, Univ. Cincinnati, 1971, цит. по 1.
251. С. К. Glassmeyer, J. D. Ogle, *Biochem.*, 10, 786 (1971).
252. E. B. Kearney, J. I. Salach, W. H. Walker, R. Sand, T. P. Singer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 42, 490 (1971).
253. T. Ternyck, S. Avrameas, Там же, 45, 1574 (1971).
254. Пат. ГДР 104088 (1974); РЖХим., 1975, 4С329.
255. R. Epton, J. V. McLaren, T. H. Thomas, *Biochem. J.*, 123, 21p (1971).
256. R. Epton, J. V. McLaren, T. H. Thomas, *Carbohydr. Res.*, 22, 301 (1972).
257. A. P. Ryle, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 4, 123 (1972).
258. Пат. ФРГ 2215160 (1972); C. A., 77, 161553 (1972).
259. D. Inham, W. E. Hornby, *Biochem. J.*, 129, 225 (1972).
260. H. Filippusson, W. E. Hornby, A. McDonald, *FEBS Letters*, 20, 291 (1972).
261. J. P. Allison, L. Davidson, A. Hartman-Gutierrez, G. B. Kitto, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 47, 66 (1972).
262. W. J. Mandy, J. P. Allison, G. B. Kitto, *Federat. Proceed.*, 31, 496 (1972).
263. Пат. ФРГ 2104810 (1971); C. A., 76, 11590 (1972).
264. C. Flemming, A. Gabert, *Acta Biol. Med. Ger.*, 30, 177 (1973).
265. W. L. Stanley, R. Palter, *Biotechnol. Bioeng.*, 15, 597 (1973).

266. A. Olson, W. Stanley, J. Ogr. Food Chem., 21, 440 (1973).  
267. A. Olson, W. Stanley, Пат. США 3767531 (1973); С. А., 80, 79663 (1974).  
268. Франц. пат. 2150959 (1973); С. А., 79, 123102 (1973).  
269. Пат. США 3847743 (1974); С. А., 82, 69844 (1975).  
270. C. Fleming, A. Gabert, P. Roth, Acta Biol. Med. Ger., 32, 127 (1974).  
271. Пат. ФРГ 2336829 (1974); С. А., 80, 117119 (1974).  
272. E. Brown, R. Joyean, Makromol. Chem., 175, 1961 (1974).  
273. E. Brown, A. Racois, Tetrahedron, 30, 675 (1974).  
274. Пат. ФРГ 2423059 (1975); С. А., 83, 189856 (1975).  
275. W. L. Stanley, A. Olson, J. Food Chem., 39, 660 (1974).  
276. E. Brown, A. Racois, Tetrahedron Letters, 1972, 5077.  
277. D. L. Regan, P. Dunnell, M. D. Lilly, Biotechnol. Bioeng., 16, 333 (1974).  
278. Пат. ФРГ 2429398 (1975); С. А., 83, 3709 (1975).  
279. Голл. пат. 7310856 (1975); С. А., 83, 74685 (1975).  
280. G. P. Royer, F. A. Liberatore, G. M. Green, Biochem. Biophys. Res. Commun, 64, 478 (1975); РЖБхим., 1975, 21Ф151.  
281. E. Van-Leemputten, M. Horisberger, Biotechnol. Bioeng., 16, 997 (1974); РЖБхим., 1975, 7Ф217.  
282. E. Van-Leemputten, M. Horisberger, Пат. ФРГ 2229298 (1973); С. А., 78, 81510 (1973).  
283. Пат. США 3730841 (1973); С. А., 79, 32601 (1973).  
284. E. Brown, R. Joyean, Polymer, 15, 546 (1974); РЖБхим., 1975, 5Ф215.  
285. A. M. Klibanov, G. P. Samokhin, K. Martinek, I. V. Berezin, Biochim. Biophys. Acta, 438, 1 (1976).  
286. O. R. Zaborsky, J. Ogletree, Biochem. Biophys. Res. Commun, 61, 210 (1974); РЖБхим., 1975, 9Ф225.  
287. H. Ueba, S. Nagai, S. Shoji, T. Funakoshi, Y. Kubota, J. Biochem, 76, 191 (1974); РЖБхим., 1975, 4Ф225.  
288. А. М. Клибанов, Г. П. Самохин, К. Мартинек, И. В. Березин, ДАН СССР, 218, 715 (1974).  
289. D. Narinesingh, T. T. Ngo, K. J. Laidler, Canad. J. Biochem., 53, 1061 (1975); РЖБхим., 1975, 11Ф486.  
290. K. Das, P. Dunnill, M. D. Lilly, Biotechnol. Biophys. Acta, 397, 277 (1975); РЖБхим., 1976, 4Ф422.  
291. B. Solomon, Y. Levin, Biotechnol. Bioeng., 16, 1393 (1974); РЖБхим., 1975, 14Ф266.  
292. L. S. Hersh, см<sup>86</sup>, p. 425; РЖБхим., 1976, 3Ф439.  
293. J. Campbell, W. E. Hornby, D. L. Morris, Biochim. Biophys. Acta, 384, 307 (1975).  
294. O. V. Kazakova, V. N. Orekhovich, Int. J. Peptide Protein Res., 7, № 1, 23 (1975); РЖБхим., 1975, 14Ф264.  
295. S. Fukui, S. Ikeda, Process Biochem., 10, № 5, 3 (1975).  
296. S. Fukui, S. Ikeda, M. Fujimura, H. Yamada, H. Kumagai, Europ. J. Appl. Microbiol., 1, № 1, 25 (1975); РЖБхим., 1975, 18Ф273.  
297. В. П. Торчилин, Ж. М. Литвак, Г. Н. Есина, С. Б. Макарова, Г. В. Грязнов, Биоорг. химия, 1, 1231 (1975).  
298. E. Brown, A. Racois, Bull. soc. chim. France, 1971, 4357.  
299. R. Axen, J. Porath, S. Ernback, Nature, 214, 1302 (1967).  
300. J. Porath, R. Axen, S. Ernback, Там же, 215, 141 (1967).  
301. R. Axen, E. Heilbronn, A. Winter, Biochim. Biophys. Acta, 191, 478 (1969).  
302. R. Bohnsack, W. Augustin, E. Hoffman, Experimentia, 25, 348 (1969).  
303. R. Axen, J. Porath, Acta Chem. Scand., 25, 2711 (1971).  
304. C. B. Anfinsen, Pure Appl. Chem., 17, 461 (1968).  
305. J. Kato, C. B. Anfinsen, J. Biol. Chem., 244, 5849 (1969).  
306. C. Hoffman, E. Harris, S. Chodroff, S. Michelson, J. Pothrock, E. Peterson, W. Kenter, Biochem. Biophys. Res. Commun, 41, 710 (1970).  
307. R. Axen, S. Ernback, Europ. J. Biochem., 18, 350 (1971).  
308. S. Grossman, M. Trop, A. Pinsky, P. Budowsky, Isr. J. Chem., 8, 151 (1970).  
309. T. Seki, T. A. Jensesen, Y. Levin, E. G. Erdos, Nature, 225, 864 (1970).  
310. D. Givol, Y. Weinstein, M. Gorecki, M. Wilchek, Biochem. Biophys. Res. Commun, 38, 825 (1970).  
311. G. S. Omenn, D. A. Ontjes, C. B. Anfinsen, Nature, 225, 189 (1970).  
312. M. Wilchek, FEBS Letters, 7, 161 (1970).  
313. W. Chan, Biochem. Biophys. Res. Commun, 41, 1198 (1970).  
314. J. Denburg, M. De Luca, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., 67, 1057 (1970).  
315. G. J. Beccley, Biochem. J., 117, 70p (1970).  
316. R. Axen, P. Myrin, J. Janson, Biopolymers, 9, 401 (1970).  
317. Яп. пат. 7372314 (1973); С. А., 80, 34746 (1974).  
318. B. Mattiasson, K. Mosbach, Biochim. Biophys. Acta, 235, 253 (1971).  
319. R. Axen, J. Carlsson, J. C. Janson, J. Porath, Enzymologia, 41, 359 (1971).

320. J. C. Lee, *Biochim. Biophys. Acta*, 235, 435 (1971).
321. D. Gabel, P. Vrethblad, R. Axen, J. Porath, Там же, 214, 561 (1970).
322. R. Axen, S. Ernback, *Europ. J. Biochem.*, 18, 351 (1971).
323. P. Vrethblad, R. Axen, *FEBS Letters*, 18, 254 (1971).
324. K. K. Stewart, R. F. Doherty, Там же, 16, 226 (1971).
325. M. Bustin, A. Conway-Jacobs, *J. Biol. Chem.*, 246, 615 (1971).
326. S. Litvak, L. Tarrago-Litvak, D. Carre, F. Chapeville, *Europ. J. Biochem.*, 24, 249 (1971).
327. L. Sundberg, T. Kristiansen, *FEBS Letters*, 22, 175 (1972).
328. D. Gabel, *Biochem. J.*, 127, 13p (1972).
329. K. Feldman, H. Zeisel, E. Helmrigh, *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S.*, 69, 2278 (1972).
330. S. Gestrelus, B. Mattiasson, K. Mosbach, *Biochim. Biophys. Acta*, 278, 339 (1972).
331. G. J. Bacley, E. McCairns, Там же, 271, 204 (1972).
332. T. H. Gawronski, F. Wold, *Biochem.*, 11, 449 (1972).
333. J. Lasch, M. Iwig, H. Hanson, *Europ. J. Biochem.*, 27, 431 (1972).
334. J. Chauvet, R. Acher, *FEBS Letters*, 23, 317 (1972).
335. J. Porath, *Kem. Tidskr.*, 84, 40 (1972); *C. A.*, 76, 12316 (1972).
336. R. Koelsh, *Enzymologia*, 42, 257 (1972).
337. M. Wilchek, *Biochem. J.*, 127, 7p (1972).
338. S. Grossman, M. Trop. P. Budowski, M. Perl, A. Pinsky, Там же, 127, 909 (1972).
339. G. S. David, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 48, 464 (1972).
340. O. R. Zaborsky, J. Ogletree, *Biochim. Biophys. Acta*, 289, 68 (1972).
341. A. E. Chung, *Arch. Biochem. Biophys.*, 152, 125 (1972).
342. A. E. Chung, L. E. Middleditch, Там же, 152, 539 (1972).
343. K. Driscoll, M. Izu, R. Korus, *Am. Chem. Soc., Polym. Prepr.*, 13, 844 (1972).
344. L. Weeks, Пат. США 3741871 (1973); *C. A.*, 79, 143885 (1973).
345. M. Hanushewsky, Пат. ФРГ 2423831 (1974); *C. A.*, 82, 151413 (1975).
346. V. R. Strinivasan, M. W. Bumm, *Biotechn. Bioeng.*, 16, 1413 (1974).
347. T. Horigoma, H. Kasai, T. Okuyama, *J. Biochem. (Japan)*, 75, 299 (1974); *C. A.*, 80, 105391 (1974).
348. I. Chibata, T. Tosa, T. Sato, R. Sano, K. Yamamoto, I. Matuo, *Methods in Enzymology*, ed W. B. Jakoby, v. 34, 1974, p. 405; *C. A.*, 83, 3682 (1975).
349. Chi Yu Lee, D. Lappi, B. Wermuth, I. Everse, N. Kaplan, *Arch. Biochem. Biophys.*, 163, 561 (1974).
350. T. Toraga, K. Ohashi, S. Fukui, *Biochem.*, 14, 4255 (1975).
351. S. Froehner, K. Eriksson, *Acta Chem. Scand.*, 29B, 691 (1975).
352. S. Fukui, H. Yamada, S. Ikeda, M. Fujimura, *Яп. пат.* 75105883 (1975); *C. A.*, 83, 189855 (1975).
353. Е. В. Нелева, В. В. Мосолов, *Прикл. биохим. микробиол.*, 11, 427 (1975).
354. D. A. Fell, C. J. B. White, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 67, 1013 (1976); *РЖБхим.*, 1976, 11Ф489.
355. D. Portetelle, Ph. Thonart, *Lebensmitt. Wiss. Technol.*, 8, 274 (1975); *РЖБхим.*, 1976, 12Ф523.
356. T. Toraga, K. Ohashi, S. Fukui, *Biochem.*, 14, 4255 (1975); *РЖБхим.*, 1976, 5Ф422.
357. S. F. D'Souza, G. B. Nadkarni, *Proc. Symp. Biol. Approach Probl. Med., Ind. and Agr., Bombay*, 1974, p. 188; *РЖБхим.*, 1976, 6Ф388.
358. A. S. Levi, *Arch. Biochem. Biophys.*, 168, 115 (1975).
359. M. Sugiura, A. Ito, *Chem. Pharm. Bull.*, 23, 3223 (1975); *РЖБхим.*, 1976, 14Ф425.
360. K. Ohgi, T. Hishimura, M. Irie, Там же, 22, 2739 (1974); *РЖБхим.*, 1975, 13Ф276.
361. S. Ikeda, S. Fukui, *Europ. J. Biochem.*, 46, 551 (1974); *РЖБхим.*, 1975, 3Ф177.
362. Н. К. Наградова, Т. В. Чередникова, А. Т. Мевх, *Биохимия*, 39, 1113 (1974).
363. F. Houdenhoven, P. J. G. M. de Wit, J. Visser, *Carbohydr. Res.*, 34, 235 (1974).
364. Е. А. Плаксина, В. А. Склянкина, А. Т. Мевх, С. М. Аваева, *Биоорг. химия*, 1, 558 (1975).
365. H. D. Schell, I. Cornoin, M. A. Mateescu, *Rev. roum. biochim.* 11, 199 (1974).
366. C. C. Q. Chin, F. Wold, *Anal. Biochem.*, 61, 379 (1974).
367. T. Tosa, R. Sano, I. Chibata, *Arg. Biol. Chem.*, 38, 1529 (1974).
368. E. Ginns, M. Guarnieri, *Exp. Cell. Res.*, 97, 42 (1976).
369. O. R. Zaborsky, см.<sup>86</sup>, p. 161; *РЖБхим.*, 1976, 5Ф426.
370. M. Charles, R. W. Coughlin, F. X. Hasselberger, *Biotechnol. Bioeng.*, 16, 1553 (1974).
371. Франц. пат. 2133370 (1972); *C. A.*, 79, 2025 (1973).
372. G. D. Viaduti, P. J. Carmody, M. C. Rattari, *Prep. Biochem.*, 5, 147 (1975).
373. I. Chibata, T. Tosa, Y. Matuo, см.<sup>86</sup>, p. 229; *РЖБхим.*, 1976, 3Ф432.
374. G. Manecke, *Pure Appl. Chem.*, 4, 507 (1962).
375. G. Manecke, G. Guenzel, H. Forster, *J. Polym. Sci.*, 30C, 607 (1970).
376. G. Manecke, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 3, 185 (1972).
377. R. Axen, J. Porath, *Acta Chem. Scand.*, 18, 195 (1964).
378. R. Axen, J. Porath, *Nature*, 210, 387 (1966).



379. G. Manecke, G. Guenzel, Naturwiss., 54, 531 (1967).  
380. G. Manecke, S. Singer, Makromol. Chem., 36, 119 (1959).  
381. Пат. США 3672955 (1972); С. А., 77, 99669 (1972).  
382. H. H. Weetal, L. S. Hersh, Biochem. Biophys. Acta, 206, 54 (1970).  
383. H. H. Weetal, Chem. Z., 97, 611 (1973).  
384. A. N. Emery, J. S. Hough, Chem. Eng., 258, 71 (1972).  
385. J. F. Garnett, R. S. Kenyon, M. J. Liddy, Chem. Commun., 1974, 735; РЖБхим., 1975, 6Ф224.  
386. Т. Э. Лупатова, Л. Н. Чуприна, Г. А. Пхакадзе, В. А. Миронов, Укр. биохим. ж., 47, 532 (1975); РЖБхим., 1975, 23Ф240.  
387. Г. А. Пхакадзе, Л. Н. Чуприна, Т. Э. Лупатова, В. А. Миронов, Симп. по физиологически активным и другим полимерам медицинского назначения, Л., 1975, Тезисы докл., М., 1975; стр. 40.  
388. R. Wilson, G. Kay, M. Lilly, Biochem. J., 108, 845 (1968).  
389. R. Wilson, G. Kay, M. Lilly, Там же, 109, 137 (1968).  
390. R. Wilson, M. Lilly, Biotechnol. Bioeng., 11, 349 (1969).  
391. G. Kay, E. Groom, Nature, 216, 514 (1967).  
392. G. Kay, M. Lilly, Biochim. Biophys. Acta, 198, 276 (1970).  
393. H. H. Weetal, Science, 166, 615 (1969).  
394. A. B. Patel, S. N. Pennington, H. B. Brown, Proc. Cell. Biol. Biophys., Midwest, SB-2, 10 (1969); цит. по 4.  
395. A. V. Sharp, G. Kay, M. D. Lilly, Biotechnol. Bioeng., 11, 363 (1969).  
396. K. Wheeler, B. Edwards, R. Wittam, Biochem. Biophys. Acta, 178, 626 (1969).  
397. D. A. Self, G. Kay, M. Lilly, P. Dunnill, Biotechnol. Bioeng., 11, 337 (1969).  
398. P. Monsan, G. Durand, FEBS Letters, 16, 39 (1971).  
399. J. R. Wykes, P. Dunnill, M. Lilly, Biochem. Biophys. Acta, 250, 522 (1971).  
400. S. O'Neill, J. Wykes, P. Dunnill, M. Lilly, Biotechnol. Bioeng., 13, 319 (1971).  
401. S. O'Neill, P. Dunnill, M. Lilly, Там же, 13, 337 (1971).  
402. W. H. Stimson, A. Serafini-Fracassini, FEBS Letters, 17, 318 (1971).  
403. Д. Л. Яглом, М. С. Шульман, А. Д. Вирник, Микробиол. пром., 3, 1 (1971).  
404. R. O. Stasiw, H. E. Brown, F. X. Hasselberger, Canad. J. Biochem., 48, 1314 (1970).  
405. R. O. Stasiw, A. B. Patel, H. D. Brown, Biotechnol. Bioeng., 14, 629 (1972).  
406. D. Warburton, K. Balasingham, P. Dunnill, M. D. Lilly, Biochim. Biophys. Acta, 284, 278 (1972).  
407. В. Янусаускайте, Л. В. Козлов, В. К. Антонова, Химия протеолитических ферментов, Всесоюз. симп., Вильнюс, 1973, стр. 44; С. А., 83, 3667 (1975).  
408. Д. Г. Кнорре, Н. В. Меламед, В. К. Старостина, Т. Н. Шибина, Биохимия, 38, 121 (1973).  
409. H. Samejima, K. Kimura, см. <sup>86</sup>, р. 131; С. А., 83, 55273 (1975).  
410. N. L. Smith, H. M. Lenhoff, Anal. Biochem., 61, 392 (1974); РЖБхим., 1975, 9Ф226.  
411. К. Akagane, Яп. пат. 7569287 (1975); С. А., 83, 130032 (1975).  
412. К. Akagane, G. G. Allan, J. Japan. Soc. Colour Mater., 46, 617 (1973); РЖБхим., 1973, 5Ф214.  
413. E. Brown, A. Racois, Bull. Soc. Chem. France, 12, 4351 (1971).  
414. E. Brown, A. Racois, Там же, 12, 4357 (1971).  
415. E. Brown, A. Racois, Там же, 12, 5357 (1971).  
416. E. Brown, A. Racois, H. Gueniffey, Там же, 12, 4341 (1971).  
417. E. Brown, A. Racois, R. Joyean, A. Boutle, J. Rioual, Compt. rend., 273C, 668 (1971).  
418. E. Brown, A. Racois, H. Gueniffey, Tetrahedron Letters, 1970, 2139.  
419. E. Brown, A. Racois, Tetrahedron Letters, 1971, 1047.  
420. G. Manecke, S. Singer, Makromol. chem., 39, 13 (1960).  
421. G. Manecke, Англ. пат. 912897 (1962); С. А., 58, 1413 (1963).  
422. G. Manecke, G. Guenzel, Makromol. chem., 51, 199 (1962).  
423. G. Manecke, H. Forster, Там же, 91, 136 (1966).  
424. E. Brown, F. Minier, Там же, 176, 2523 (1975).  
425. Пат. США 3278392 (1966); С. А., 64, 18360 (1966).  
426. T. Sato, T. Mori, T. Tosa, J. Chibata, Arch. Biochem. Biophys., 147, 788 (1971).  
427. S. Koynagi, H. Ogou, T. Hitagaku, A. Yamamoto, H. Yamasaki, Яп. пат. 7326977 (1973); С. А., 79, 16941 (1973).  
428. И. А. Черкасов, Н. А. Кравченко, Тезисы I Всесоюз. симп. по иммобилизованным ферментам, Таллин, 1974, стр. 49.  
429. Ch. Fleming, A. Gabert, P. Roth, Acta Biol. Med. Ger., 31, 365 (1973); РЖБхим., 1974, 8Ф284.  
430. G. Durand, P. Monsan, Пат. ФРГ 2439923 (1975); С. А., 82, 151415 (1975).  
431. P. Monsan, G. Durand, Compt. rend., C273, 33 (1971).  
432. A. N. Emery, J. S. Hough, J. M. Novais, J. P. Lyons, Chem. Eng., 258, 71 (1972).  
433. S. A. Barker, A. N. Emery, J. M. Novais, J. P. Lyons, Process Biochem., 6, 11 (1971).  
434. C. A. Kent, A. N. Emery, J. Appl. Chem. Biotechnol., 24, 663 (1974).  
435. J. F. Kennedy, C. E. Doyle, Carbohydr. Res., 28, 89 (1973).

436. *J. Ugi*, *Angew. Chem.*, **74**, 9 (1962).  
 437. *P. Cresswell, A. R. Sauderson*, *Biochem. J.*, **119**, 447 (1970).  
 438. *R. Axen, P. Vrethblad, J. O. Porath*, Пат. ФРГ 2061009 (1971); *C. A.*, **75**, 95017 (1971).  
 439. *P. Vrethblad, R. Axen*, *FEBS Letters*, **18**, 254 (1971).  
 440. *R. Axen, P. Vrethblad, J. Porath*, *Acta Chem. Scand.*, **25**, 1129 (1971).  
 441. *P. Vrethblad, R. Axen*, Там же, **27**, 2769 (1973).  
 442. *L. Goldstein, A. Freeman, M. Sokolovsky*, *Biochem. J.*, **143**, 497 (1974); РЖБхим., 1975, 11Ф335.  
 443. *L. Goldstein, A. Freeman, M. Sokolovsky*, см<sup>86</sup>, p. 97; *C. A.*, **83**, 55269 (1975).  
 444. *J. S. Matthews*, Пат. США 3821084 (1974); *C. A.*, **81**, 101304 (1974).  
 445. *J. S. Matthews*, Пат. США 3844892 (1974); *C. A.*, **82**, 82328 (1975).  
 446. *J. S. Matthews*, Пат. США 3841970 (1974); *C. A.*, **82**, 40150 (1975).  
 447. *Р. И. Фесенко, Ю. В. Артемова, А. Д. Вирник, З. А. Роговин, В. А. Яковлев*, Вопросы мед. химии, **21**, 82 (1975); *C. A.*, **82**, 151379 (1975).  
 448. *А. Д. Вирник, Р. И. Фесенко, Ю. В. Артемова, З. А. Роговин, В. А. Яковлев*, Тезисы I Всесоюзн. симп. по иммобилизованным ферментам, Таллин, 1974, стр. 85.  
 449. *P. Faher, P. Cremonesi, L. D'Angiuro, G. Vecchio, G. Mazzola*, *Cellul. Chem. Technol.*, **9**, 135 (1975); РЖБхим., 1976, 1Ф465.  
 450. *P. Cremonesi, G. Mazzola, B. Focher, G. Vecchio*, *Angew. makromol. Chem.*, **48**, 17 (1975); РЖБхим., 1976, 8Ф436.  
 451. *R. Epton, T. Thomas*, *Aldrichim. Acta*, **4**, 61 (1971).  
 452. *J. Carlsson, R. Axen, T. Unge*, *Europ. J. Biochem.*, **59**, 567 (1975); РЖБхим., 1976, 11Ф488.  
 453. *O. Zaborsky*, Пат. США 3830689 (1974); *C. A.*, **82**, 27956 (1975).  
 454. *O. Zaborsky*, *Immobilized. Enzymes Food Microb. Processes*, ed. *A. C. Olson, C. L. Cooney*, Plenum, N. Y., 1974, p. 187, *C. A.*, **82**, 151401 (1975).  
 455. *J. Campbell, W. E. Hornby, D. L. Morris*, *Biochim. Biophys. Acta*, **403**, 79 (1975); *C. A.*, **83**, 174770 (1975).  
 456. *P. A. Biondi, M. Pace, O. Brenna, P. G. Pietta*, *Europ. J. Biochem.*, **61**, 171 (1976); РЖБхим., 1976, 11Ф482.  
 457. *V. Kasche*, *Radiat. Environ. Biophys.*, **11**, 189 (1974); РЖБхим., 1975, 6Ф227.  
 458. *K. Martinek, A. M. Klibanov, V. S. Goldmacher, I. V. Berezin*, *Biochim. Biophys. Acta*, **485**, 1 (1977).  
 459. *К. Мартинек, В. С. Гольдмахер, А. М. Клибанов, В. П. Торчилин, В. Н. Смирнов, Е. И. Чазов, И. В. Березин*, ДАН СССР, **228**, 1468 (1976).  
 460. *Methods in Enzymologia*, v. 44, ed. *K. Mosbach*, Acad. Press, N. Y., 1976.  
 461. *Н. И. Тарасова, Г. И. Лавренова, Г. Н. Руденская, В. М. Степанов*, Химия природн. соед., **2**, 292 (1977).  
 462. *J.-M. Engasser, C. Horvath*, *Biochem. J.*, **145**, 431 (1975); РЖБхим., 1975, 17Ф305.  
 463. *A. M. Filbert, W. P. Pitcher*, *Process Biochem.*, **14**, № 10, 13 (1975).  
 464. *В. Д. Семичевский, Н. И. Даниляк*, Молекулярная биология. Респ. межвед. сборник, 1976, вып. 14, стр. 31; РЖБхим., 1977, 9Ф378.  
 465. *Л. А. Нахапетян*, Микробиологическая промышлен. Научно-техн. реф. сб., 1976, вып. 5, стр. 10; РЖБхим., 1977, 5Х523.  
 466. *K. Mosbach*, *FEBS Letters*, **62**, Suppl., E80—E95 (1976).  
 467. *G. Manecke*, *Am. Chem. Soc. Polym. Prepr.*, **18**, 1, 535 (1977).  
 468. *C. J. Suckling*, *Chem. Soc. Rev.*, **6**, 2, 215 (1977).  
 469. *M. Ringpfeil*, *Sitzungsber. Akad. Wiss. DDR*, **8**, 19 (1976).  
 470. *J. Katal*, *J. Polym. Sci., Polym. Symp.*, 1978, № 62, 260.  
 471. *К. Мартинек, В. П. Торчилин*, Итоги науки и техн. ВИНТИ АН СССР. Сер. Биол. химия. 1978, вып. 12, стр. 17—18.  
 472. *L. Goldstein, G. Manecke*, *Appl. Biochem. and Bioeng.* v: 1 N. Y., 1976, p. 23—25, 110—126; РЖБхим., 1977, 23Ф460.  
 473. *Е. А. Козлов, О. П. Петрий*, *Вопр. мед. химии*, **24**, 723 (1978).  
 474. *А. А. Недоспасов, Р. М. Хомутов*, *Изв. АН СССР, сер. хим.*, 1976, 1136.

Московский химико-технологический институт им. Д. И. Менделеева