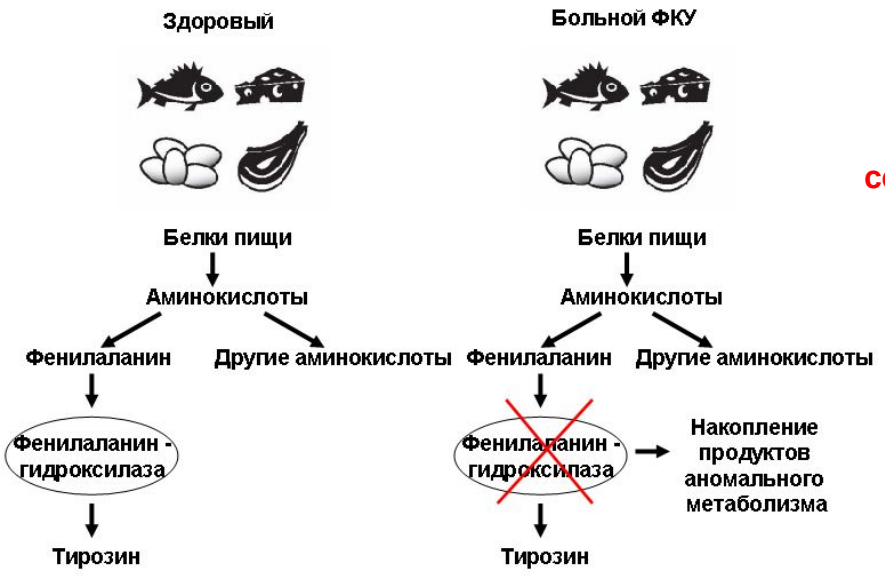
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Кемеровский технологический институт пищевой промышленности»

Разработка и подготовка промышленного освоения технологии ферментного препарата L-фенилаланин-аммоний-лиазы

Государственный контракт №02.740.11.5133



Способы решения проблемы

Адсорбция фенилаланина на селективном сорбенте

ГК №02.512.11.2086

Получение и использование препарата L-фенилаланин-аммоний-лиазы методом генной инженерии с высокой активностью

ГК №02.740.11.5133

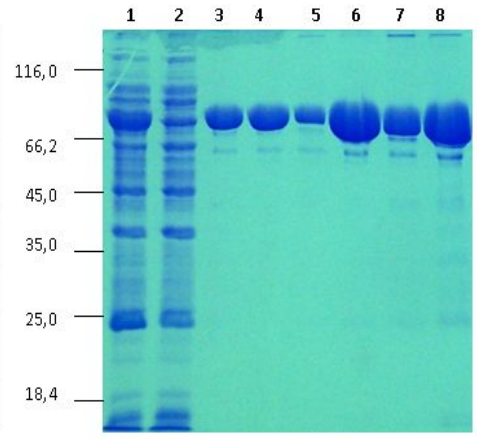
Использование коммерческого препарата L-фенилаланин-аммоний-лиазы фирмы Sigma (активность 0,8-2,0 ед/мг)

Грант президента РФ
МД-572.2007.4

Результаты очистки рекомбинантной PAL по оптимизированной схеме

Стадия очистки	Экстракт	Осаждение сульфатом аммония (25-50%)	Ni-NTA-сефароза	Гидрофобная хроматография	Гидрофобная хроматография, "хвост"
Удельная активность, Е/мг	0.276	0.822	2.217	3.316	2.228
Активность, Е/мл	2.57	16.60	11.64	12.80	4.10
Белок, мг/мл	9.30	20.20	5.25	3.90	1.80
Объем, мл	110.0	16.5	20.0	13.7	10.5
Суммарная активность, Е	282.7	273.9	232.8	175.4	43.1
Суммарный белок, мг	1023.0	333.0	105.0	52.9	19.3
Выход, %	100	97	85	58	14

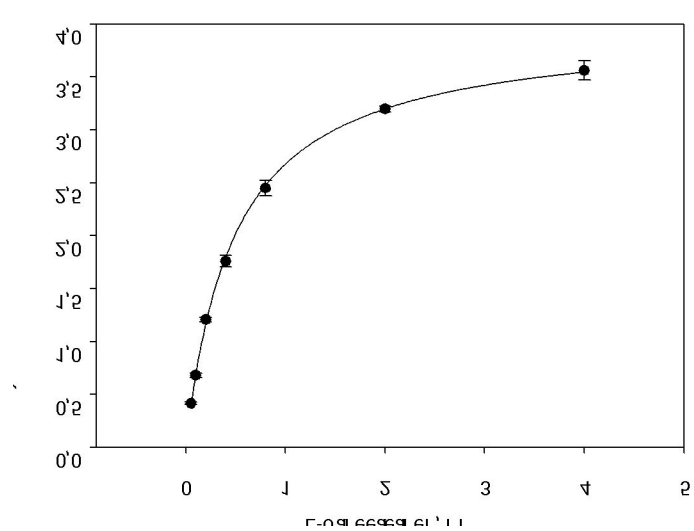
Электрофоретический анализ очистки PAL



1 – препарат перед нанесением на металлохелат после дробного высаливания $(NH_4)_2SO_4$ (25% и 50% насыщения), нанесено 9,5 мкг белка;
2 – проскок после металлохелата;
3 и 8 – препарат после металлохелата (2,85 и 11,4 мкг белка, соответственно);
4 и 6 – объединенные фракции первого пика после фенил-сефарозы (3 и 9 мкг белка, соответственно);
5 и 7 – объединенные фракции второго пика после фенил-сефарозы (1,3 и 4 мкг белка, соответственно). Слева указаны маркеры молекулярных весов в кДа.

Зависимость активности PAL от концентрации L-фенилаланина в реакционной смеси

Концентрация L-фенилаланина, мМ	Специфическая активность PAL, мкмоль·мин$^{-1}$·мг$^{-1}$ белка		
0.05	0.3961	0.4304	0.4266
0.10	0.6361	0.7161	0.6894
0.20	1.1732	1.2532	1.1922
0.40	1.7141	1.8664	1.6950
0.80	2.3312	2.5826	2.4416
2.00	3.1730	3.1692	3.2491
4.00	3.5896	3.7033	3.3911



Кривая насыщения субстратом PAL, очищенной по оптимизированной схеме

Руководитель: Аветисян Гаянэ Альбертовна
Швеция, Стокгольм, Каролинский институт

Научный консультант: Просеков Александр Юрьевич
Россия, Кемерово, Кемеровский технологический институт пищевой промышленности