

Entwicklung eines Verfahrens zur gerichteten Immobilisierung von Häm-Proteinen an leitfähigen Polymeren

16728 N

Wegen ihrer metabolischen Vielseitigkeit sind Häm-Proteine von großem Interesse für biokatalytische und sensorische Anwendungen. In diesem Projekt wurde die gerichtete Immobilisierung von Häm-Proteinen an leitfähigen Polymeren untersucht, um eine direkte elektrochemische Kommunikation zwischen Protein und Elektrode zu ermöglichen. Damit sollten einerseits verbesserte Biosensoren hergestellt und andererseits die wissenschaftliche Basis für neuartige biokatalytische Stoffsynthesen geschaffen werden.

Für die Immobilisierung von Häm *b* sind Amin-funktionalisierte Pyrrolmonomere nötig. Aus Hexamethylendiamin und 2,5-Dimethoxytetrahydrofuran lässt sich in einer organischen Synthese das Monomer 6-Pyrrol-1-yl-hexylamin herstellen. Als Alternative zur organischen Synthese wurde eine Zweifachkopplung mit Carbodiimid durchgeführt, die die Anbindung von Diaminen an Carbonsäure-derivatisierte Pyrrole erlaubt. Auf diese Weise konnten Polymergrundgerüste erzeugt werden, die die Anbindung von Häm *b* in unterschiedlichem Abstand zur Elektrode erlauben. Die Polymerisation der synthetisierten Monomere wurde mit einer elektrochemischen Quarzmikrowaage untersucht, die Masseänderungen an Elektrodenoberflächen im Nanogrammbereich detektieren kann. Es konnte ein Polymerisationsverfahren entwickelt werden, das eine Abscheidung der Polymere in reiner Form oder als Copolymer mit Pyrrol erlaubt. Die Abscheidungsmethode liefert hierbei reproduzierbare Beschichtungen und kontrollierbare Filmdicken. Dies ist eine Grundvoraussetzung für die Gestaltung von Biosensoren. Die Häm-Anbindung wurde ebenfalls mit der elektrochemischen Quarzmikrowaage überprüft. Mittels einer Carbodiimid-Kopplung konnte Häm spezifisch an die Amin-funktionalisierten Polymere angebonden werden. Die Häm-Anbindung wurde in Abhängigkeit des Funktionalisierungsgrads und der Polymermasse auf den Elektroden untersucht, um die optimale Polymerzusammensetzung zu erhalten. Als Modellprotein für die Rekonstitution diente die Meerrettichperoxidase. Ihr Häm befindet sich an der Proteinaußenseite und lässt sich leicht extrahieren bzw. rekonstituieren. Die Häm-Extraktion und Rekonstitution der Meerrettichperoxidase waren erfolgreich. Die Apoprotein-Rekonstitution an den Elektroden ließ sich über die Quarzmikrowaage sowie über einen photometrischen Assay nachweisen. Die Aktivität bzw. Menge an gebunden Protein aber ist hierbei sehr gering und in biosensorischen Studien war keine Aktivität der rekonstituierten Meerrettichperoxidase erkennbar, die sich eindeutig vom Polymerhintergrundstrom abhebt. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das Grundgerüst für die Immobilisierung von Hämproteinen an Polypyrrol erfolgreich geschaffen wurde. Die Eigenschaften des Häm-Polymer-Gerüsts in Bezug auf Bindeeffizienz, Elektronentransfer und Stabilität zeigten dagegen keine verbesserten Eigenschaften und die Rekonstitution der Meerrettichperoxidase führt im Vergleich mit herkömmlichen Systemen nicht zu einem verbesserten Biosensor.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema vom 10/10 bis 04/13 von **DECHEMA e.V., Karl-Winnacker-Institut** (Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt, Tel.: 069/7564-610) unter der Leitung von Dr. D. Holtmann (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. K. Wagemann) und dem **DECHEMA-Forschungsinstitut** (Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt, Tel.: 069/7564-610) unter der Leitung von Dr. D. Holtmann (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. M. Schütze)

[--> TIB](#)

Gefördert durch:



Das IGF-Vorhaben Nr. 16728 N der Forschungsvereinigung DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages