

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Lipidische flüssigkristalline Phasen: Neue Konzepte zur Immobilisierung von Enzymen und Membranproteinen für biosensorische Anwendungen

Dieter Frense, Thomas Nacke, Heinrich Stöber, Dieter Beckmann

Institut für Bioprocess- und Analysenmesstechnik e.V., Rosenhof, D-37308 Heiligenstadt

Tel. 03606-671145

dieter.frense@iba-heiligenstadt.de www.iba-heiligenstadt.de

Registriernummer der Online-Anmeldung: 285

Poster

Eine elegante und erst in den letzten Jahren intensiv untersuchte Möglichkeit zur Immobilisierung von Biomolekülen ist die Verwendung lipidischer flüssigkristalliner Phasen. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass die Lipidmoleküle in einer membranähnlichen Anordnung vorliegen und in dieser frei beweglich sind. In der räumlichen Anordnung gibt es, ähnlich wie in einem Kristall, sich wiederholende Strukturen. Flüssigkristalle sind thermodynamisch stabil und wurden zuerst durch Luzatti et al. [1] beschrieben. Bekanntestes Beispiel ist synthetisch hergestelltes 1-*rac*-Monoolein. Diese Substanz bildet eine kubische bikontinuierliche lipidisch flüssigkristalline Phase mit definierten Eigenschaften [2] (Abb. 1).

Die Stabilisierung der Biomoleküle erfolgt durch Einlagerung in diese lipidisch flüssigkristallinen Strukturen. Sie bilden ein hoch-viskoses optisch transparentes stabiles Zweiphasensystem, bestehend aus dem immobilisierten Biomolekül und der wässrigen Lösung, in der die Analyten gelöst sind. Die Flüssigkristalle lassen sich vorteilhaft als dünne Schicht auf diverse Oberflächenmaterialien auftragen, z.B. auf optischen oder elektrischen Sensoren. [3, 4]. Bislang sind die Einsatzmöglichkeiten allerdings beschränkt, da nur wenige Systeme zur Verfügung stehen, die darüber hinaus für den technischen Einsatz zu kostenintensiv sind.

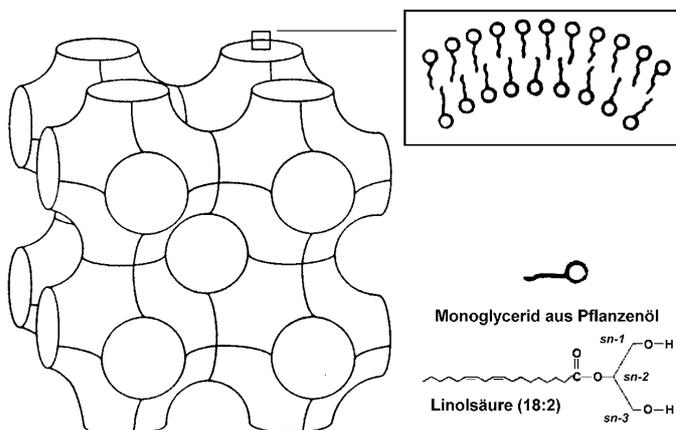


Abbildung 1: Mikrostruktur flüssigkristalliner Phasen (adaptiert nach [2]).

Wir berichten hier über eine neue innovative Möglichkeit, lipidische flüssigkristalline Phasen zu bilden und für Biosensoren einzusetzen. Die für die Immobilisierung verwendeten Monoglyceride werden durch alkalische Alkoholyse aus Pflanzenölen gewonnen. Sie stellen ein Gemisch von Monoglyceriden unterschiedlicher Kettenlänge dar, deren Zusammensetzung vom Pflanzenöl bestimmt wird. Durch die gezielte Zusammenstellung der Ausgangsmaterialien können die Matrixeigenschaften hinsichtlich der Wechselwirkung mit den Biomolekülen optimiert werden. Bislang wurden folgende Enzyme und Membranproteine als Modellsysteme für biosensorische Anwendungen untersucht [5]:

- Meerrettich-Peroxidase für die H_2O_2 Detektion.
- photosynthetische Reaktionszentren aus Purpurbakterien für die Herbizid-Detektion.
- Glucoseoxidase zum Nachweis von Glucose.
- Lactatoxidase zum Lactat-Nachweis.

Der Versuchsaufbau besteht aus einer Photodiode mit integriertem Verstärker als Signalempfänger (Abb. 2). Detektiert wird die Umsetzung des enzymatisch entstandenen Wasserstoffperoxids mit Luminal. Die lipidischen flüssigkristallinen Phasen mit dem immobilisierten Enzym wurden als dünne Schicht in der Durchflusszelle aufgetragen. Die Zuführung der Messlösung erfolgt über eine Schlauchpumpe. Mittels einer doppellumigen Sonde [6] erfolgt die Probenahme. Dadurch ist eine on-line Kalibrierung und Konditionierung des Biosensors möglich.

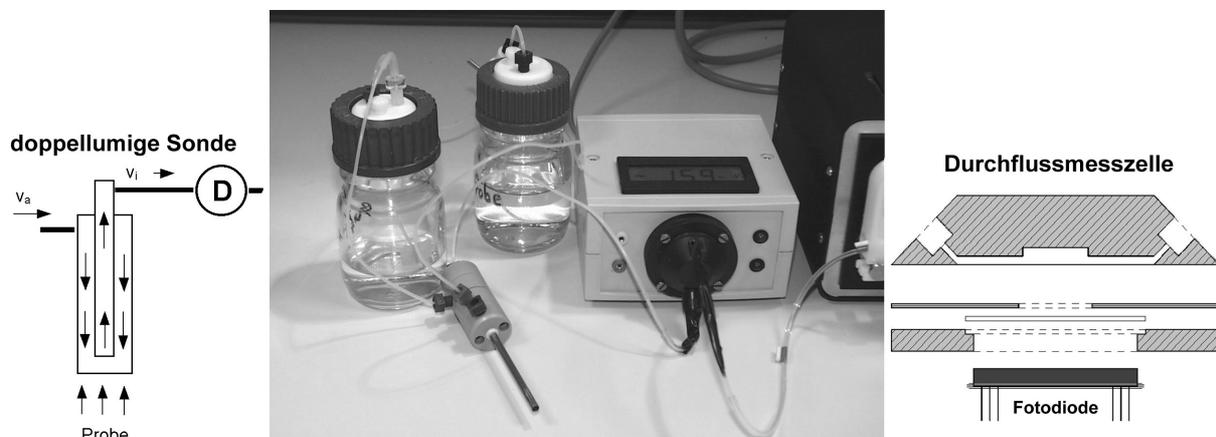


Abbildung 2: Versuchsaufbau zur Untersuchung der lipidischen flüssigkristallinen Immobilisate.

Die Immobilisierung in verschiedene lipidische Flüssigkristalle erhöhte die Langzeitstabilität, abhängig vom Enzym und vom verwendeten Monoglycerid. Weiterhin zeigte sich, dass die Aktivität und Stabilität höher waren als bei den zum Vergleich verwendeten synthetischen Monoglyceriden. Die Ausgangssubstanzen sind einfach und billig herstellbar. Sie stehen nahezu unbegrenzt zur Verfügung, da sie aus nachwachsenden Rohstoffen erhalten werden. Die hochviskosen optisch transparenten lipidischen Flüssigkristalle lassen sich in elektrochemischen und optischen Biosensoren einsetzen.

Literatur

[1] Luzatti, V., Mustacchi, H. and Skoulios, A. (1958) *Disc. Faraday Soc.* **25**, 43

- [2] Seddon, J. M. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* **1031**, 1
- [3] Landau, E. M., Luisi, P. L. (1993) *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 2102
- [4] Lindblom, G., Rilfors, L. (1989) *Biochim. Biophys. Acta* **998**, 221
- [5] Frense, D. (2000) DE 199 02 735
- [6] Stöber, H., Weckenbrock, E., Most, E., Beckmann, D., Spohn, U., Fuhrmann, B. (1998) *8. Heiligenstädter Koll.*, 69