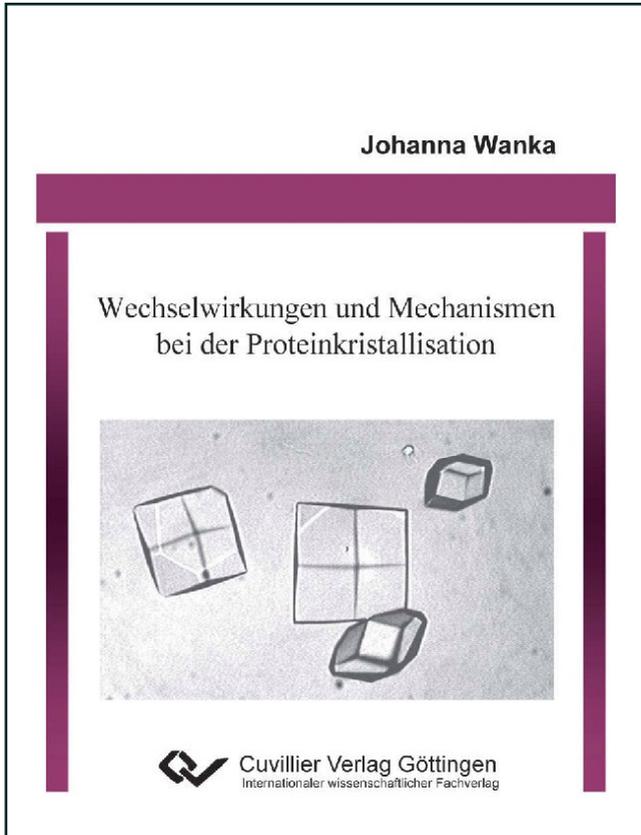




Johanna Wanka (Autor)  
**Wechselwirkungen und Mechanismen bei der  
Proteinkristallisation**



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/684>

Copyright:  
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany  
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# Inhaltsverzeichnis

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Einleitung</b>  | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>Grundlagen</b>  | <b>5</b>  |
| 2.1      | Proteine . . . . .   | 5         |
| 2.2      | Wechselwirkungen . . . . .   | 5         |
| 2.2.1    | Intramolekulare Wechselwirkungen . . . . .                               | 5         |
| 2.2.2    | Intermolekulare Wechselwirkungen . . . . .                               | 6         |
| 2.2.3    | Berechnung thermodynamischer Parameter . . . . .                         | 11        |
| 2.3      | Messung der Wechselwirkungskoeffizienten mit Lichtstreuung . . . . .     | 15        |
| 2.3.1    | Allgemeines zur Lichtstreuung . . . . .                                  | 15        |
| 2.3.2    | Statische Lichtstreuung . . . . .  | 16        |
| 2.3.3    | Dynamische Lichtstreuung . . . . .                                       | 20        |
| 2.4      | Kristallisation . . . . .  | 22        |
| 2.4.1    | Begriffsdefinition . . . . .   | 22        |
| 2.4.2    | Allgemeines zur Proteinkristallisation . . . . .                         | 22        |
| 2.4.3    | Phasendiagramm und Übersättigung . . . . .                               | 23        |
| 2.4.4    | Keimbildung . . . . .  | 29        |
| 2.4.5    | Kristallwachstum . . . . .   | 36        |
| 2.4.6    | Aggregation und Agglomeration . . . . .                                  | 39        |
| <b>3</b> | <b>Material und Methoden</b>   | <b>43</b> |
| 3.1      | Stoffsysteme . . . . .   | 43        |
| 3.2      | Bestimmung der Wechselwirkungskoeffizienten $B_{22}$ und $k_D$ . . . . . | 45        |
| 3.2.1    | Statische Lichtstreuung . . . . .  | 45        |
| 3.2.2    | Dynamische Lichtstreuung . . . . .                                       | 47        |
| 3.2.3    | Experimente . . . . .  | 48        |
| 3.3      | Kristallisation . . . . .  | 48        |
| 3.3.1    | Allgemeines . . . . .  | 48        |
| 3.3.2    | Kristallisation in Mikrotiterplatten . . . . .                           | 49        |
| 3.3.3    | Kristallisation in Eppendorf-Reaktionsgefäßen . . . . .                  | 50        |
| 3.3.4    | Kristallisationskinetiken . . . . .                                      | 50        |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 3.4      | Analytik und Produktanalyse . . . . .   | 51        |
| 3.4.1    | Bestimmung des Brechungsindexinkrements . . . . .   | 51        |
| 3.4.2    | Bestimmung der Grenzflächenenergie . . . . .  | 52        |
| 3.4.3    | Bestimmung des $\zeta$ -Potentials . . . . .  | 53        |
| 3.4.4    | Bestimmung der Proteinkonzentration und der Löslichkeit . . . . .                                     | 54        |
| 3.4.5    | Bestimmung der Trübungskurve . . . . .  | 55        |
| 3.4.6    | Bestimmung der Partikelgröße, der Partikelgrößenverteilung, der<br>Form und der Morphologie . . . . . | 56        |
| 3.4.7    | Bestimmung der Proteinaktivität bzw. Konformationsänderung . . . . .                                  | 57        |
| <b>4</b> | <b>Wechselwirkungen und Wechselwirkungskoeffizienten</b>  | <b>59</b> |
| 4.1      | Experimentelle Untersuchung der Wechselwirkungen . . . . .  | 59        |
| 4.1.1    | Messung des 2. osmotischen Virialkoeffizienten $B_{22}$ . . . . .                                     | 59        |
| 4.1.2    | Messung des Diffusionswechselwirkungskoeffizienten $k_D$ . . . . .                                    | 67        |
| 4.2      | Berechnung der Wechselwirkungen . . . . .   | 71        |
| 4.2.1    | $\zeta$ -Potential und Ladung . . . . .   | 71        |
| 4.2.2    | Oberflächenenergie und Hamakerkonstante . . . . .   | 71        |
| 4.2.3    | Potentiale . . . . .  | 79        |
| 4.2.4    | W-Faktor . . . . .  | 81        |
| 4.2.5    | Der 2. osmotische Virialkoeffizient $B_{22}$ . . . . .  | 82        |
| 4.2.6    | Der Diffusionswechselwirkungskoeffizient $k_D$ . . . . .  | 86        |
| 4.3      | Kristallisationsgebiet von $B_{22}$ und $k_D$ . . . . .   | 87        |
| <b>5</b> | <b>Kristallisationsexperimente</b>  | <b>91</b> |
| 5.1      | Phasendiagramm . . . . .  | 91        |
| 5.1.1    | Löslichkeit . . . . .   | 91        |
| 5.1.2    | Trübungskurve . . . . .   | 92        |
| 5.2      | Kristallisation mit homogener Keimbildung . . . . .   | 94        |
| 5.2.1    | Kristallisation in Mikrotiterplatten . . . . .  | 94        |
| 5.2.2    | Kristallisationskinetiken . . . . .   | 102       |
| 5.2.3    | Partikeleigenschaften . . . . .   | 107       |
| 5.3      | Seeding . . . . .   | 110       |
| 5.3.1    | Sekundäre Keimbildung mit proteineigenen Seedpartikel . . . . .                                       | 110       |
| 5.3.2    | Heterogene Keimbildung mit proteinfremden Materialien . . . . .                                       | 118       |

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| <b>6</b> | <b>Simulation der Proteinkristallisation</b>                | <b>125</b> |
| 6.1      | Allgemeines . . . . .                                       | 125        |
| 6.2      | Mechanismen und Modelle . . . . .                           | 126        |
| 6.2.1    | Keimbildung . . . . .                                       | 126        |
| 6.2.2    | Wachstum . . . . .  | 130        |
| 6.2.3    | Aggregation . . . . .                                       | 132        |
| 6.3      | Vergleich Simulation und Experiment . . . . .               | 134        |
| 6.3.1    | Kristallisation ohne Seeding . . . . .                      | 135        |
| 6.3.2    | Kristallisation mit Seeding von Proteinkristallen . . . . . | 137        |
| 6.4      | Parameterstudie . . . . .                                   | 142        |
| 6.4.1    | Einfluss der Übersättigung . . . . .                        | 142        |
| 6.4.2    | Einfluss von Seeding . . . . .                              | 145        |
| <b>7</b> | <b>Zusammenfassung</b>                                      | <b>153</b> |
| <b>8</b> | <b>Symbolverzeichnis</b>                                    | <b>157</b> |