

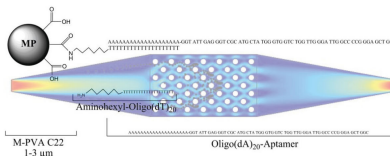


Steffen Wollny (Autor)

# Neuartige Funktionalisierung von magnetischen Mikropartikeln zur Prozessintensivierung

Steffen Wollny

## Neuartige Funktionalisierung von magnetischen Mikropartikeln zur Prozessintensivierung



 Cuvillier Verlag Göttingen  
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7138>

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>Kurzzusammenfassung</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>II</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>III</b>
<b>Formelzeichen</b> .....	<b>VI</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>VII</b>
<b>1. Einleitung und Zielsetzung</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Theoretische Grundlagen</b> .....	<b>4</b>
2.1 Magnetpartikel.....	4
2.1.1 Magnetische Kenngrößen.....	4
2.1.1.1 Magnetische Flussdichte.....	4
2.1.1.2 Magnetische Feldstärke und Permeabilität.....	4
2.1.1.3 Polarisierung und Suszeptibilität .....	5
2.1.1.4 Magnetisierung .....	6
2.1.2 Magnetische Partikel und ihre Eigenschaften.....	6
2.1.3 Anwendungsbereiche magnetischer Partikel .....	9
2.1.4 Hochgradienten Magnetseparation.....	10
2.1.5 Partikelgrößenverteilungen .....	12
2.2 Immobilisierung von Enzymen .....	17
2.2.1 Partikel mit Iminodiessigsäuregruppen (IDA) .....	20
2.2.2 Aminopartikel.....	21
2.2.3 Carboxylpartikel.....	22
2.3 Verwendete Modellproteine .....	23
2.3.1 GFP .....	23
2.3.2 Cytochrom P450.....	24
2.3.3 Laccase .....	30
2.3.4 Antikörper.....	31
2.4 Aptamere.....	33
2.4.1 Herstellung von Aptameren .....	35
2.4.2 Anwendung von Aptameren.....	36
2.4.3 Auswahl der verwendeten Aptamere.....	39
Bei der Partikelaktivierung von carboxylierten Partikeln, siehe Kapitel .....	41
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>44</b>
3.1 Magnetische Partikel.....	44
3.1.1 Partikelaktivierung und Funktionalisierung .....	44
3.2 Proteinherstellung.....	46
3.2.1 Kultivierung von <i>E. coli</i> -Bakterien .....	46



3.2.2 Zellaufschluss und Proteinaufreinigung.....	47
3.3 Durchbruchskurven.....	49
<b>4. Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>51</b>
4.1 Modellsysteme und Zielprotein .....	51
4.1.1 IDA-Partikel.....	52
4.1.2 Antikörper - Antigen.....	54
4.1.3 Kommerzielles Oligonukleotid-Partikel.....	56
4.1.4 Cytochrom P450 <sub>BMP</sub> Monooxygenase .....	56
4.2 Aptamerpartikel.....	61
4.2.1 Partikelgrößenverteilung M-PVA C22.....	62
4.2.2 Oberflächensaturierung der Partikel.....	66
4.2.3 Bindungsisothermen der Oligonukleotide .....	68
4.2.4 Optimierung der Oligonukleotidkapazität .....	70
4.2.5 Bindung und Elution von GFPmut2.....	73
4.2.6 Wiederverwendbarkeit und Langzeitstabilität der Aptamerpartikel.....	74
4.2.7 Unspezifische Bindung an Aptamerpartikel.....	76
4.2.8 Spezifität der Aptamerpartikel.....	79
4.2.9 Aptamerpartikeln mit M-PVA N12 .....	84
4.2.10 Vergleich der Modellsysteme mit den Aptamerpartikeln .....	85
4.3 Hochgradienten-Magnetseparation .....	89
4.3.1 Hochgradientenfilter HGF-10 .....	89
4.3.2 Entwicklung eines Miniatur-Magnetseparators.....	91
4.3.3 Aufnahme der Durchbruchskurven.....	95
4.3.4 Berechnung der Filterkonstanten.....	98
4.3.5 Einsatz des miniHGF für exemplarische biokatalytische Anwendungen .....	101
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>106</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>111</b>
<b>Anhang A Material .....</b>	<b>126</b>
Anhang A.1 Verwendete Chemikalien, Lösungen und Puffer .....	126
Anhang A.2 Enzyme und Oligonukleotide.....	128
Anhang A.3 Partikelsysteme.....	129
Anhang A.4 Verwendete Geräte .....	130
<b>Anhang B Analytische Methoden.....</b>	<b>131</b>
Anhang B.1 Bestimmung der Proteinkonzentration mit Bradford.....	131
Anhang B.2 Quantifizierung von GFPmut2 mittels Fluoreszenzspektroskopie .....	131
Anhang B.3 Bildgebende Fluoreszenz-Spektroskopie .....	133

Anhang B.4 Aktivitätsassay für Cytochrom P450 Monooxygenase.....	134
Anhang B.5 Aktivitätsassay für Laccase.....	135
Anhang B.6 SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese .....	136
Anhang B.7 IR Spektroskopie.....	137
Anhang B.8 HPLC Analytik von Oligonukleotiden.....	137
<b>Anhang C Proteinherstellung .....</b>	<b>140</b>
Anhang C.1 Wachstum <i>E. coli</i> mit GFPmut2.....	140
Anhang C.2 Aufschluss von <i>E. coli</i> -Zellen .....	141
<b>Anhang D Bindungsprotokolle.....</b>	<b>143</b>
Anhang D.1 Modellsystem Protein A – Antikörper – Antigen.....	143
Anhang D.2 IDA-Partikel .....	144
Anhang D.3 M-PVA N12 Aptamerpartikel.....	145
Anhang D.4 M-PVA C22 Aptamerpartikel .....	145
<b>Anhang E Ergebnisdaten .....</b>	<b>146</b>
Anhang E.1 Optimierung der Aptamerpartikel.....	146
Anhang E.2 Temperaturstabilität GFPmut2.....	147
<b>Anhang F Angaben zur Person .....</b>	<b>149</b>
Anhang F.1 Betreute Arbeiten.....	149
Anhang F.2 Veröffentlichungsliste .....	149
Anhang F.3 Lebenslauf.....	151
Schulische Ausbildung .....	151
Beruflicher Werdegang.....	151