Intelligente Gele: Ein neuer Weg zur reversiblen Immobilisierung von Enzymen

Christian Fänger*, Dr. G. Deerberg, H. Wack; Fraunhofer-Institut für Umwelt-, Sicherheits- und Energietechnik UMSICHT, Osterfelder Straße 3, 46047 Oberhausen, *Tel.: +49-208-8598-1139, Fax: -1290, Internet: www.umsicht.fhg.de, e-mail: christian.faenger@umsicht.fhg.de

Prof. Dr. M. Ulbricht; Universität Duisburg-Essen

W. Eberhard, Prof. Dr. J. Büchs, S. Steinsiek, Dr. M. Schuhmacher-Ansorge; RWTH Aachen

Einleitung

Hydrophile Gele werden seit langem für die Immobilisierung von Enzymen, z. B. in Bioreaktoren, eingesetzt. Bisher erfolgte die Verknüpfung von Gel und Enzymen jedoch irreversibel, so dass nach Deaktivierung der Enzyme das Gel mitentsorgt werden musste. Aufgrund der hohen Gelmasse bezogen auf die Enzymmasse, ist diese Entsorgung deshalb mit erheblichen Mehrkosten verbunden.

Ansatz

Das bei Funktionsgelen thermoinduzierbare Auf- und Entquellen soll zum Ein- und Ausbringen der Enzyme genutzt werden.

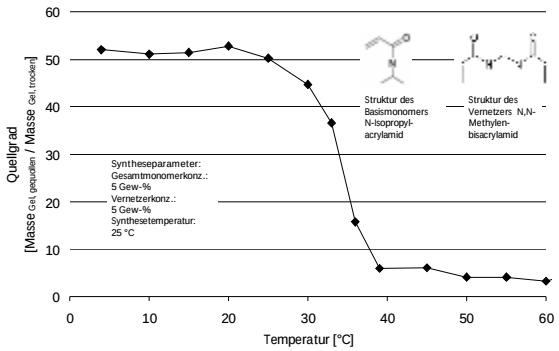

Bild 1:
Quellgrad eines »intelligenten« Hydrogels auf Basis von N-Isopropylacrylamid (NIPAm) in Abhängigkeit der Temperatur

Die Versuche zur Be- und Entladung wurden mit einer farbigen Referenzsubstanz (Dextran-FITC-Konjugat, M_W 70.000 g/mol) durchgeführt.

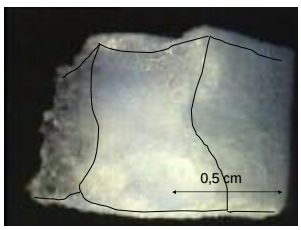

Bild 2:
Querschnitt des präparierten Gels nach Aufquellen in Referenzsubstanzlösung

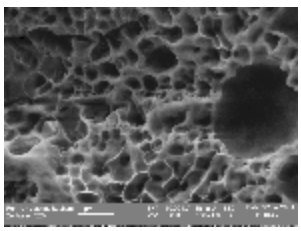

Bild 3:
REM-Aufnahme des gefriergetrockneten Polymergels

Die Referenzsubstanz drang nicht bis in das Gelinnere vor. Den Grund hierfür zeigt Bild 3. Bei dem nicht porogenen Gel lag ein geschlossenes Porensystem mit relativ dicken Wänden vor. Hierdurch wurde die Diffusion der Referenzsubstanz von der Geloberfläche in das Innere behindert.

Modifizierter Ansatz

Die Gelsynthese erfolgte unter Anwesenheit von Porogenen, z.B. Polyethylenglycol (PEG). Die Gele zeigen eine offenporige Struktur (Bild 5) mit dünnen Wänden. Die Diffusion der Referenzsubstanz in das Gelinnere wird nicht behindert.

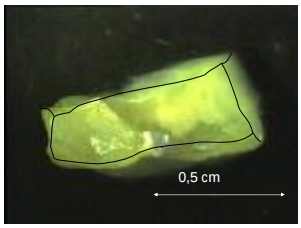

Bild 4:
Querschnitt des präparierten porogenen Gels nach Aufquellen in Referenzsubstanzlösung (Zusammensetzung wie Bild 1 & 2, aber + PEG400, 40 Gew-%)

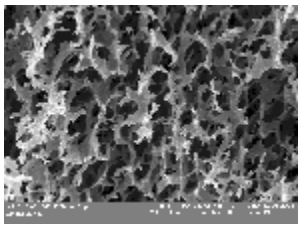

Bild 5:
REM-Aufnahme des gefriergetrockneten porogenen Gels

Quantitative Untersuchung der Be- und Entladung

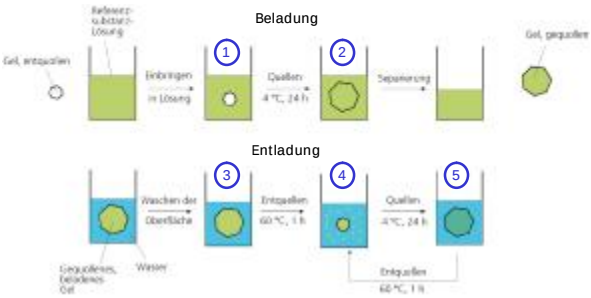

Bild 6:
Versuchsprogramm zur quantitativen Untersuchung der Be- und Entladung der Gele mit markierter Referenzsubstanz (Dextran-FITC-Konjugat), nach jedem Entladungsschritt erfolgt ein Wasserwechsel

Die Bestimmung der Gelbeladung mit der Referenzsubstanz (RFS) erfolgte durch Messung der Konzentration der äußeren Lösung (UV-Absorption) und anschließende Bilanzierung.

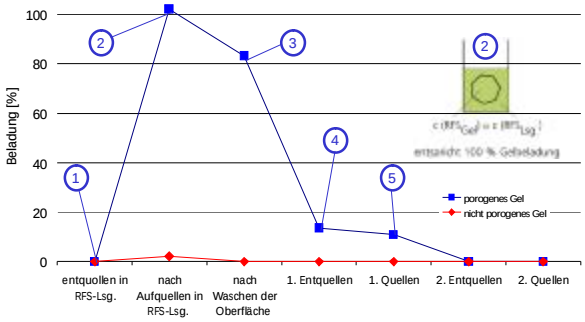

Bild 7:
Repräsentative Ergebnisse der Be- und Entladung der Gele mit Referenzsubstanz (nicht porogenes Gel wie Bild 2, porogenes Gel wie Bild 4)

Diskussion und Schlussfolgerung

Die Be- und Entladung von »intelligenten« Hydrogelen mit Makromolekülen (auch Enzymen) ist durch Änderung der Temperatur möglich. Diese Gele müssen jedoch mit Porogenen modifiziert werden, um eine offene Porenstruktur zu erzeugen. Diese Öffnung der Porenstruktur geschieht vorwiegend durch eine Phasenseparation während der Synthese. Die Porogene setzen die Löslichkeit der während der Polymerisation entstehenden Oligomere herab. Somit kommt es zu einer Trennung von Oligomer- und Wasserphase. Die weitere Polymerisation erfolgt um die ausgefallenen Oligomere herum.

Die porogen Gele werden für den Einsatz als Enzymträger in Bioreaktoren optimiert.

Nach deren Deaktivierung können die Enzyme durch Erhöhung der Temperatur entfernt und durch Aufquellen wieder neu beladen werden. Auf diese Weise wird es möglich, die Enzymträger wiederholt zu verwenden.

Fraunhofer Institut Umwelt-, Sicherheits-, Energietechnik UMSICHT