

Applikationsbericht 24

Protein-Adsorption auf Oberflächen

Fragestellung

In vielen Bereichen kommt es zum Kontakt künstlicher Oberflächen mit biologischen Systemen. Dies können beispielsweise Schiffswände im Meerwasser sein, Verarbeitungsmaschinen und Verpackungsmaterialien bei der Lebensmittelherstellung oder Implantate in der Mundhöhle oder im Gewebe. Alle Oberflächen werden mit der Zeit von einem natürlichen Biofilm bedeckt.

Proteine spielen bei der Biofilmbildung eine entscheidende Rolle, da sich diese als erste an die Oberflächen anhaften. Auf dieser Proteinschicht können sich im Folgenden auch Mikroorganismen ansiedeln, die ggf. schädliche Auswirkungen haben können.

Die Protein-Adsorption auf Oberflächen ist daher von grundlegendem Interesse in den verschiedensten Bereichen, wie der Lebensmittelverarbeitung, Biologie, Biotechnologie oder Medizin.

Methode

Mit den DataPhysics Tensiometern der DCAT-Serie lässt sich das Adsorptionsverhalten von Proteinen auf Oberflächen beobachten, sowie anschließende Reversibilitätsmessungen durchführen. Dies wird möglich durch die andauernde Messung dynamischer Kontaktwinkel mit der Wilhelmy-Methode.

Durch die Anlagerung von Proteinen an der Oberfläche während der einzelnen Messzyklen verändert sich die Oberfläche ständig. Daher findet die Benetzung bei jedem folgendem Zyklus eine leicht veränderte Oberfläche vor und ergibt somit leicht andere Kontaktwinkel. Interessant sind bei dieser Methode allerdings nicht die absoluten Fortschreite- und Rückzugswinkel, sondern die sich ergebende Hysterese zwischen ihnen.

$$H = \theta_{adv} - \theta_{rec}$$

Im Laufe der Zeit binden sich immer mehr Proteine an die Oberfläche und ein Gleichgewicht zwischen Adsorption und Desorption stellt sich ein. Ist dieser Gleichgewichtspunkt erreicht ändern sich die Eigenschaften der Oberfläche und somit die Kontaktwinkelhysterese nicht mehr (vgl. Abb. 1)

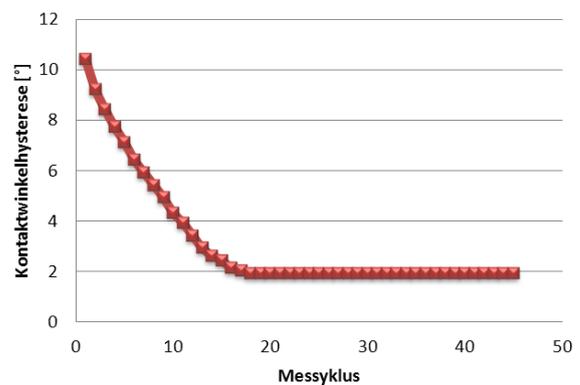


Abbildung 1: Beispielhafter Verlauf der Kontaktwinkelhysterese bei Proteinadsorption

Die Messungen unterteilen sich dabei in mehrere Schritte:

1. Zu Beginn der Messungen werden einige Zyklen in reinem/proteinfreiem Medium gemessen, diese Messungen dienen später als Referenzwerte für die reine Oberfläche.
2. Der Hauptschritt der Messungen sind die Zyklen in Proteinlösung. Je nach verwendeten Oberflächen und Proteinen kann es lange Zeit (bis zu mehreren Stunden) dauern, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Protein-Adsorption und Desorption einstellt. Entsprechend können hier viele Messzyklen nötig sein.

Die Messungen werden abgeschlossen mit der erneuten Vermessung weniger Zyklen von reinem/proteinfreiem Medium. Der Sinn dieser Messungen ist es den Proteinen zu ermöglichen sich wieder von der Oberfläche zu lösen. Dieser dritte Schritt sollte mehrmals mit immer neuem reinem

Medium wiederholt werden, bis sich die gemessenen Werte nicht mehr verändern.

Der große Vorteil dieser Methodik ist die ungewollte Adsorption und Desorption der Proteine ohne dass eine weitere, externe Kraft auf die Proteine wirkt.

Ergebnisse

Abbildung 2 zeigt beispielhaft den Ablauf einer Messung zur Beobachtung von Adsorption und Desorption von Proteinen auf einer Oberfläche. Wie oben erwähnt unterteilt sich die Messung in drei Schritte, die Zyklen -10 bis -1 geben die Referenz der Oberfläche im proteinfreien Ausgangszustand.

In der Adsorptionsphase (bis Zyklus 45) findet die freie Adsorption der Proteine an die Oberfläche statt. Es ist zu erkennen, dass die Kontaktwinkelhysterese in der Adsorptionsphase ab Zyklus 18 unverändert bleibt. Hier hat sich ein Gleichgewicht von Adsorption und Desorption eingestellt.

Nach Ende der Adsorptionsphase (hier bis Zyklus 45) folgen weitere Messzyklen in reiner Flüssigkeit in denen die Proteine die Möglichkeit haben sich wieder von der Oberfläche zu lösen. Dabei wird der proteinbedeckten Oberfläche alle fünf Messzyklen eine neue reine Flüssigkeit zur Desorption angeboten. Im aufgeführten Beispiel ist zu erkennen, dass sich die

Kontaktwinkelhysterese ab der dritten Desorptionsphase nicht mehr ändert, die freie Desorption der Proteine ist hier abgeschlossen. Vergleicht man die finalen Werte mit den zu Beginn getätigten Referenzmessungen stellt man fest, dass der Ausgangswert nicht mehr erreicht wird. Die Proteinadsorption kann daher als nicht vollständig reversibel betrachtet werden, ein Teil der Proteine verbleibt auf der Oberfläche.

Zusammenfassung

Mit den DataPhysics Tensiometern der DCAT-Serie ist es gelungen die Adsorption und Desorption von Proteinen auf Oberflächen zu beobachten. Die Methode bietet dem Anwender die Möglichkeit, Informationen über die Biofilmbildung auf Oberflächen zu erlangen. Durch Oberflächenbehandlungen lässt sich die Biofilmbildung steuern oder gar vermeiden. Informationen die sich mit der Methodik gewinnen lassen sind u.a.:

- Adsorptionskinetik (wann/wie schnell stellt sich ein Gleichgewicht aus Adsorption/Desorption ein?)
- Reversibilität (lässt sich ein Bio-/Proteinfilm wieder vollständig entfernen?)

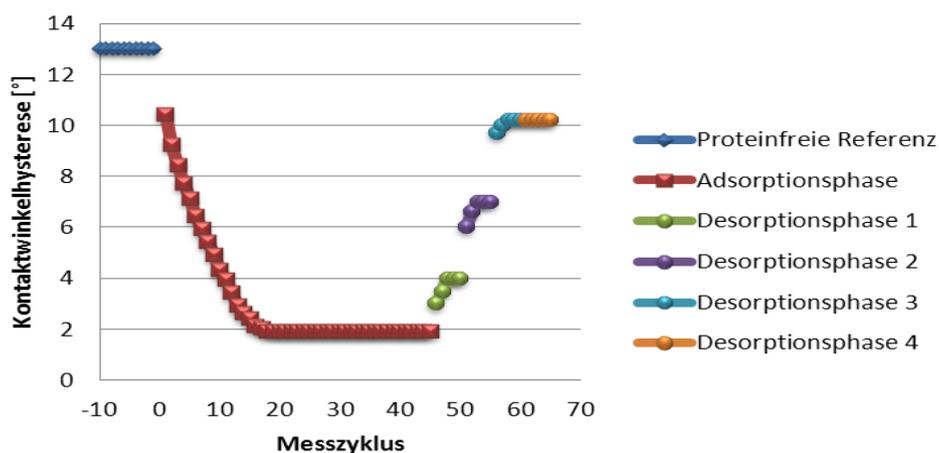


Abbildung 2: Verlauf einer kompletten Adsorptions-/Desorptionsmessung