



>> <http://www.analytica-world.com/de/news/60709/>

Hydrodynamische Radien von Proteinen mit GPC/SEC bestimmen

12.01.2007 - Die Bestimmung der Größe von Proteinmolekülen in Lösung ist eine wichtige Aufgabe in der pharmazeutischen und biotechnologischen Forschung und Praxis, da über die Größe bzw. das hydrodynamische Volumen der Moleküle auch Aussagen über die Konformation und Aggregation der Proteine getroffen werden können.

Da der überwiegende Teil aller Proteinmoleküle eine sehr dichte und kompakte Struktur aufweist, liegen die hydrodynamischen Radien meist deutlich unter 10 nm. Daher sind die Größen dieser Moleküle mit herkömmlicher Mehrwinkel-Lichtstreuung nicht zu erfassen. Nur mit der dynamischen Lichtstreuung können diese Radien bestimmt werden, wobei aber die dynamische Lichtstreuung nur sehr eingeschränkt im Durchfluss-Modus eingesetzt werden kann. Es müssen sehr kleine Flussraten oder so genannte "stopped flow"-Techniken verwendet werden.

Eine sehr viel praktischere Methode zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Proteinen im GPC/SEC-Experiment wurde von Viscotek entwickelt. Durch den gemeinsamen Einsatz eines Lichtstredetektors und eines Viskositätsdetektors können diese Radien zuverlässig und exakt unter normalen GPC/SEC-Bedingungen ermittelt werden, wobei die Konzentration des Proteins nicht bekannt sein muß. Mit der so genannten Dreifachdetektion von Viscotek (RI/Viskosität/Lichtstreuung) wird

das Molekulargewicht und die Intrinsische Viskosität des Proteins bestimmt. Aus diesen Werten kann das hydrodynamische Volumen des Proteins berechnet werden. Mit dieser Methode können unter Standard-Chromatographiebedingungen molekulare Radien bis zu weniger als 1 nm zuverlässig bestimmt werden.