



Monolithische Säule mit immobilisiertem Avidin für die Flüssigkeitschromatographie

Problemstellung

Die Entwicklungen im Life Science-Bereich und in der pharmazeutischen Industrie stellen immer höhere Anforderungen an die Analytik. Insbesondere auf dem Gebiet der Proteinreinigung und -charakterisierung ist die Entwicklung neuer analytischer Methoden von großem Interesse. Von herausragender Bedeutung ist hierbei die Kopplung der Flüssigkeitschromatographie mit der Massenspektrometrie. Um die Sensitivität dieser Analysemethoden weiter zu erhöhen, ist es von Vorteil, die Analyten innerhalb einer komplexen Probe anzureichern oder von störenden Substanzen abzutrennen. Hierfür hat sich in den letzten Jahren die Affinitätschromatographie etabliert. Da für eine Vielzahl von Analyten geeignete Interaktionspartner zur Verfügung stehen, lassen sich durch deren Immobilisierung auf einem chromatographischen Medium bestimmte Analyten gezielt aus komplexen Mischungen abtrennen und anreichern. Eine herausragende Stellung unter diesen Interaktionspartnern genießt das Biotin/Avidin-System. So wird monomeres Avidin, das aus tetramerem Avidin durch Denaturierung gewonnen werden kann, auch für kommerziell erhältliche Chromatographiesäulen genutzt. Dabei ist das monomere Avidin an Partikel gebunden. Diese Partikelsäulen bereiten aber Probleme hinsichtlich der Avidinkapazität und der Reproduzierbarkeit, insbesondere bei der Verwendung von Kapillarsäulen. Zudem sind Partikelsäulen im Bezug auf die Trennleistung monolithischen Säulen unterlegen, weswegen vermehrt monolithische Materialien zur Trennung von Protein- und Peptidgemischen zum Einsatz kommen. Für das Biotin/Avidin-System sind solche monolithischen Säulen aber bisher nicht verfügbar und auch noch nicht beschrieben worden.

Neuartiges Produkt

Die neuartige chromatographische Säule besteht aus monolithischen Materialien, an die Avidin gebunden, monomerisiert und renaturiert wird. Im Labor wurden monolithische Säulen mit unterschiedlichen Trägermaterialien erfolgreich getestet.

Das neuartige Medium zeichnet sich durch eine hohe Avidinkapazität, eine lange Lebenszeit und exzellente chromatographische Trenneigenschaften aus. Die erfindungsgemäße Lösung kombiniert damit die Vorteile bislang verwendeter Systeme: der Einsatz von monomerem Avidin ermöglicht eine Elution unter annähernd nativen Bedingungen, das monolithische Trägermaterial bewirkt aufgrund des exzellenten Massentransfers einen verbesserten Kontakt zwischen dem biotinylierten Analyten und dem Interaktionspartner Avidin.

Applikationen

Die erfindungsgemäße monolithische stationäre Phase ist in hervorragender Weise für die Flüssigkeitschromatographie und die Kapillarelektrophorese geeignet. Diese können mit vielfältigen Detektionsmethoden, wie UV-Spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie und insbesondere Massenspektrometrie gekoppelt werden.

Patentsituation

Der Antrag auf Erteilung eines deutschen Patentbesitzes ist gestellt. Internationale Nachanmeldungen können zudem noch vorgenommen werden.

ESA Patentverwertungsagentur
Sachsen-Anhalt GmbH
Dr. Detlef Förster

Breitscheidstraße 51
D-39114 Magdeburg

Tel.: (0391) 8 10 72 20
Fax: (0391) 8 10 72 22
E-Mail: info@esa-pva.de
Internet: www.esa-pva.de