



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Einfluss der Oberflächenmodifikation stationärer Phasen auf
Protein-Matrix-Wechselwirkungen und Massentransportprozesse in
der Ionenaustauschchromatographie**

Autor: Marina Urmann
Institut / Klinik: Institut für Molekular- und Zellbiologie der Hochschule Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hafner

Bei der Aufreinigung biologischer Produkte spielen flüssigchromatographische Prozesse, darunter die Ionenaustauschchromatographie (IAC), eine bedeutende Rolle. Eine große Anzahl stationärer Phasen von verschiedenen Herstellern ist für die IAC erhältlich. Diese unterscheiden sich sowohl in ihren chemischen als auch physikalischen Eigenschaften. Daher kann es zu Unterschieden hinsichtlich des Bindemechanismus und der Interaktionen zwischen Protein und Matrix, des Massentransfers und der Adsorptionskapazitäten kommen.

In dieser Arbeit wurden Daten zum Retentionsverhalten mehrerer Modellproteine auf zehn kommerziell erhältlichen Kationenaustauschern anhand linearer Gradientenelutionen erhoben. Die Auswertung linearer Gradienten Elutionen lieferte Modellparameter, die sowohl die elektrostatischen als auch die unspezifischen Wechselwirkungen zwischen Protein und stationärer Phase beschreiben. Für die kleinen Proteine Lysozym und Cytochrom c wurde nahezu kein Einfluss der Oberflächenchemie auf die charakteristische Ladung B beobachtet. Dagegen variiert der B-Wert der größeren monoklonalen Antikörper deutlich zwischen den verschiedenen stationären Phasen. Auf Trägermaterialien mit polymer basierten Oberflächenverbreiterungen und Tentakeln weisen die Antikörper tendenziell erhöhte B-Werte auf.

Die Änderung der Standard Gibbs Energie ΔG_p^0 ist für die beiden Antikörper höher als für Lysozym und zeigt wie auch der B-Wert eine größere Abhängigkeit von den Eigenschaften der stationären Phase. Chromatographiematerialien mit Oberflächenmodifikation weisen meist höhere ΔG_p^0 -Werte auf.

Für vier kommerziell erhältliche stationäre Phasen sowie ein Prototyp-Material wurden mittels *stirred batch* Experimenten Adsorptionskinetiken sowie maximale Adsorptionskapazitäten (statische Bindekapazitäten) für Lysozym und zwei monoklonale Antikörper ermittelt. Für drei dieser Materialien wurden außerdem dynamische Bindekapazitäten für verschiedene Antikörper aus Durchbruchkurven bestimmt.

Modifizierungen der Oberfläche haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Massentransfereigenschaften und Adsorptionskapazitäten der Materialien. Zwar zeigten alle modifizierten Materialien erhöhte statische Bindekapazitäten für die untersuchten Proteine, der Einfluss der Oberflächenchemie auf die Kinetik des Proteintransports folgt jedoch keinem Trend.

Untersuchungen zum Einfluss der Ionenstärke auf die maximalen Adsorptionskapazitäten sowie die Kinetik der Proteinadsorption haben gezeigt, dass die Schwächung der Proteinanbindung an die stationäre Phase durch Salz tendenziell eine Abnahme der statischen Bindekapazität und eine Beschleunigung des Massentransfers bewirkt. Ein Vergleich der Retentionsdaten aus linearen Gradientenelutionen und der mittels *stirred batch* Experimenten bestimmten Adsorptionskinetiken deutet darauf hin, dass eine sehr starke Anbindung des Proteins zu einer Behinderung des Stofftransports führt.

Die dynamische Bindekapazität hängt sowohl von der statischen Bindekapazität als auch den Massentransfereigenschaften eines Chromatographiematerials ab. Stationäre Phasen mit hohen statischen Bindekapazitäten für ein Protein können generell auch hohe dynamische Bindekapazitäten für dasselbe Protein aufweisen. Ob sich diese bei begrenzter Verweilzeit in einem realen Prozess realisieren lassen, hängt maßgeblich von der Geschwindigkeit des Proteintransports ab.