

Molekulardynamische Untersuchung der Stressbeanspruchung von Proteine

Molekulardynamische Untersuchung der Stressbeanspruchungen auf Proteine an der Phasengrenzfläche beim Premix-Membranemulgieren

Patrick Giefer, U. Fritsching, Fachgebiet Mechanische Verfahrenstechnik, Universität Bremen

Kurzgefasst

- Stressbelastung
- Premix-Membranemulgieren
- Phasengrenzflächen
- Molekulardynamik
- Protein

Emulsionen finden eine große industrielle Anwendung in der Lebensmittel-, Kosmetik- und Pharmazeutischen Industrie. Dabei werden unter anderem biologische Systeme zum Stabilisieren der Emulsionen eingesetzt. Bei der Prozessierung, wie zum Beispiel der Homogenisierung von Emulsionen werden grobdisperse Voremulsionen mittels Druckgradienten durch poröse Membranen in Feinemulsionen überführt. Der einwirkende Scherstress bedingt die Fragmentierung des dispersen Mediums innerhalb der Membranen. Dieser Stress wirkt auf die Phasengrenzfläche und folglich auch auf die adsorbierten, stabilisierenden biologischen Systemen. Insbesondere das Stress-Verweilzeitverhalten ist dabei von besonderer Bedeutung und bedarf vertiefter wissenschaftlicher Klärung. Daraus können mechanistische Schädigungsmodelle abgeleitet werden. Um den Einfluss des Premix-Emulgiervfahrens und den dabei auftretenden Stress-Verweilzeit-Belastungen auf die Proteine an den Phasengrenzflächen zu untersuchen, werden molekulardynamische Simulationen durchgeführt. Dabei soll gezeigt werden, wie Proteinstrukturen an Phasengrenzflächen adsorbieren, sich durch Adsorption aktivieren und schlussendlich geschädigt werden. Aus dieser Erkenntnis können Emulgiervfahren entwickelt werden, die besonders schonend sind.

Zielsetzung des vorhergegangenen Projektzeitraumes war die Ausweitung der Untersuchungen von rekombinantem Beta-Lactoglobulin an flüssigen Grenzflächen. Dazu wurden native Formen des Beta-Lactoglobulins mutiert um den rekombinanten Varianten zu entsprechen und anschließend an einer Öl/Wasser Grenzfläche simuliert. Weiterhin wurde die Druckschädigung von Beta-Lactoglobulin genauer betrachtet. Dazu wurde Retinol in die hydrophobe

Calyx des Proteins gebunden und der Hochdruckschädigung unterzogen.

Eine Betrachtung von rekombinantem Beta-Lactoglobulin erweitert das Bild der molekulardynamischen Betrachtung stresssensitiver Proteine an Grenzflächen, da mit dem rekombinanten Protein die Anzahl der Disulfidbrücken variiert werden kann. Dies ermöglicht sowohl experimentell als auch numerisch den Einfluss der Disulfidbrücken auf den Adsorptionsvorgang zu quantifizieren.

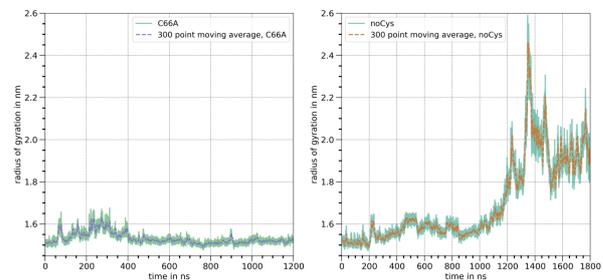


Abbildung 1: Vergleich des Streumasseradius von C66A (links) und noCYS (rechts) an SIO₂/Wasser Grenzfläche

Abbildung 1 ist zu entnehmen, dass die rekombinante Variante mit einer Disulfidbrücke (C66A) stabil an die Grenzfläche adsorbiert und es zu keiner strukturellen Änderung in Form einer Entfaltung an der Grenzfläche kommt. Dagegen ist bei der Variante ohne Disulfidbrücken ein Anstieg des Streumasseradius von ungefähr 1.5 nm auf 1.9 nm zu verzeichnen, was mit einer partiellen Entfaltung an der Grenzfläche zu erklären ist. Um die grenzflächeninduzierte Entfaltung auf der Strukturebene nachzuvollziehen, sind in Abbildung 4 die Beta Sheets der beiden Varianten dargestellt. Demnach geht die Entfaltung an der Grenzfläche mit einer Abnahme der Beta Sheets einher (vgl. 2a, 2b). Der Variante noCys fehlt im Vergleich zur Variante C66A eine stabilisierende Disulfidbrücke innerhalb der Beta Sheet Struktur, worin die Abnahme der Sheet Strukturen der Variante noCys zu erklären ist. Weiterhin kommt es bei der Variante C66A zu einer Zunahme der Beta Sheets. Diese Zunahme ist auf die Neubildung von Sheet Strukturen an der mutierten Stelle 66 zurückzuführen.

In Abbildung 3 sind Screenshots aus den Hochdrucksimulationen mit und ohne Retinol in der hydrophoben Calyx dargestellt. Es ist zu erkennen, dass im Falle der Hochdruckschädigung (rechts) Wassermoleküle in die Calyx eindringen, was ein

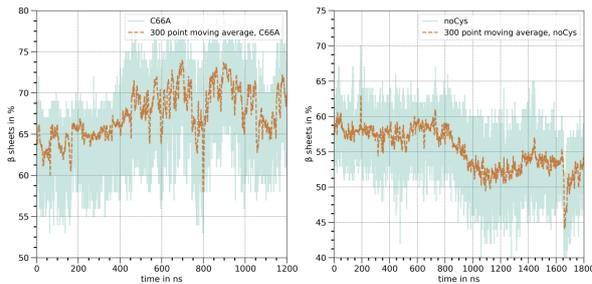


Abbildung 2: Vergleich der sekundären Strukturelemente (Beta Sheets) von C66A (links) und noCYS (rechts) an SiO₂/Wasser Grenzfläche

wesentlicher Teil des Schädigungsmechanismus unter Hochdruck darstellt. Wenn Retinol in dem Protein gebunden ist, verhindert es das Eindringen von Wassermolekülen in das Innere der Proteinstruktur. Eine Hochdruckinduzierte Schädigung des Proteins wird folglich unterdrückt.

Die Simulationen wurden durch SAXS Experimente an der Diamond Beamline mit dem Titel Investigation of the irreversible conformational changes of beta-lactoglobulin induced by high hydrostatic pressure begleitet.

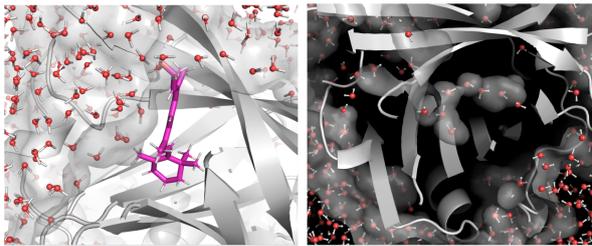


Abbildung 3: Screenshot aus den Simulationen bei 600 Mpa nach 1 μ s mit Retinol in der hydrophoben Calyx (links) und ohne Retinol (rechts)

WWW

<http://www.iwt-bremen.de>

Weitere Informationen

Förderung

DFG SPP 1934 DISPBiotech