

## Bindungseigenschaften von DNA an Hydrotalcit

Arne Burzlaff<sup>1</sup>, Björn Oliver Jackisch<sup>2</sup>, Cornelia Kasper<sup>1</sup>, Thomas Scheper<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Technische Chemie der Universität Hannover,  
Callinstr. 3, 30167 Hannover

<sup>2</sup>Süd-Chemie AG, Lenbachplatz 6, 80333 München

### Einleitung

Layered double hydroxides (LDH) bestehen aus Metallhydroxid-Schichten und austauschbaren eingelagerten Anionen. Durch die negativ geladene Struktur können Biomoleküle, wie z. B. DNA in den Zwischenschichten interkalieren.

Die Abreicherung von DNA aus Zellkulturüberständen ist oft ein Problem im downstream processing von Fermentationen. Aufgrund ihres Anionenaustauschercharakters wurden Schichtdoppelhydroxide auf ihre Bindungskapazität für DNA aus wässrigen Überständen hin untersucht.

1

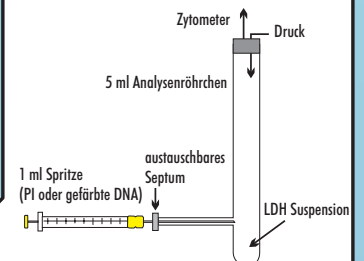
### Methoden

Verschiedene Schichtdoppelhydroxide wurden auf ihre Bindungskapazität für DNA hin untersucht. LDH-Suspensionen (10 mg/ml) wurden mit DNA-Lösung (2,5 mg/ml) inkubiert. Der Überstand wurde UV-spektroskopisch analysiert. Die beladenen LDH wurden mittels Durchflusszytometrie nach Anfärbung mit Propidiumiodid (PI) untersucht (Langzeitkinetik).

Da die Bindungsgeschwindigkeit von angefarbter DNA an LDH zu schnell für eine herkömmliche Messung war, musste die Bindungscharakteristik durch Direkteinspritzung untersucht werden (Kurzzeitkinetik).

2

### Aufbau für die Messung der Kurzzeitkinetik



3

Ein 5 ml Analysenröhrchen wurde mit einer seitlichen Zuleitung versehen, die mit einem Septum verschlossen wurde.

### Material

LDH: Ceratofix<sup>TM</sup> NA Granulat, Ceratofix<sup>TM</sup> NA 16, Südchemie

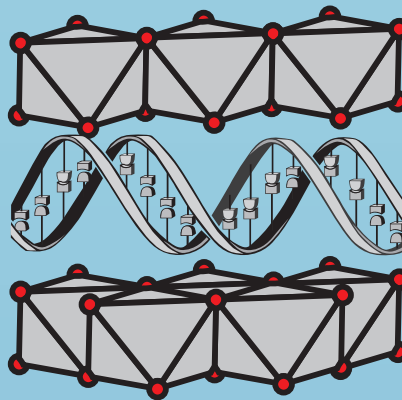
Lösungsmittel: H<sub>2</sub>O

Modell DNA: Heringsperma DNA (2,5 mg/ml in TE Puffer)

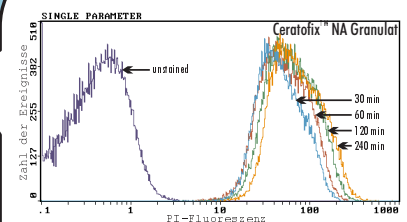
DNA-Farbstoff : Propidiumiodid (50 µg/ml)

Zytometer: Beckmann Coulter Epics XL

4



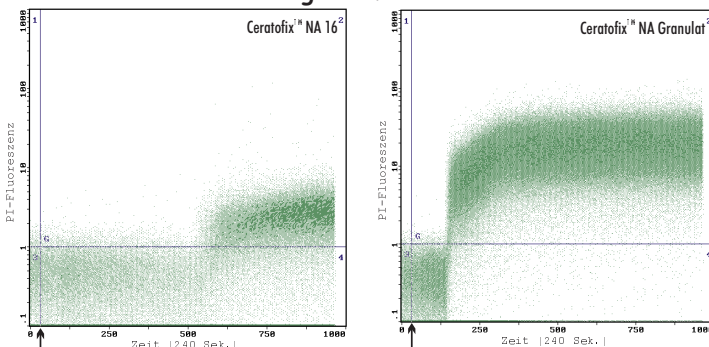
### Messung der Langzeitkinetik



5

Zur Messung der Langzeitkinetik wurden die LDH mit DNA-Lösung inkubiert, nach der angegebenen Zeit mit PI angefärbt und analysiert.

### Messung der Kurzzeitkinetik



Injektionspunkt (10 Sek.)

Injektionspunkt (10 Sek.)

Die Kurzzeitkinetik wurde durch Injektion von angefarbter DNA (500 µl) in 1 ml der wässrigen LDH-Suspension aufgenommen.

7

### Kapazitäten aller untersuchten LDH

LDH	Vorbehandlung	Kapazität DNA-natrium Salz (mg/g)	Kapazität DNA-freie Säure (mg/g)
Ceratofix <sup>TM</sup> NA 16	unbehandelt	28.6	99.8
	gewaschen	26.5	61.5
Ceratofix <sup>TM</sup> NA 696	unbehandelt	31.2	42.8
	Essigsäure	54.8	50.7
	kalzinert	89.1	122.7
Ceratofix <sup>TM</sup> NA Granulat	Essigsäure	8.1	22.1
	kalzinert	205.3	209.1
	unbehandelt	11.8	14.4
Qiagen	gewaschen	12.6	20.3
BioRad	gewaschen	29.5	39.6

Die untersuchten LDH wurden auf unterschiedliche Weise aktiviert und anschließend auf ihre Kapazität hin getestet. Zum Vergleich wurde die Kapazität kommerziellen Materialien von Qiagen und BioRad bestimmt.

### Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, dass LDH geeignet sind DNA aus wässrigen Medien zu entfernen.

Ceratofix<sup>TM</sup> NA Granulat hat sich dabei als das Material mit der höchsten Kapazität von 205 mg DNA pro g LDH gezeigt.

Um die Bindungskinetik zu untersuchen wurden langzeitspektroskopische (0-5 Std.) und durchflusszytometrische Messungen (0-5 Std. Langzeit; 0-240 Sek. Kurzzeit) durchgeführt.

Die Durchflusszytometrie hat sich dabei als nützliche Analysenmethode erwiesen um schnell und reproduzierbar die Bindungskinetik zu erfassen.