

Inhalt

1	Einleitung und Motivation	1
1.1	Die natürliche Zellmembran als Vorbild	1
1.2	Technische Membranen – <i>status quo</i>	3
1.3	Motivation – Vereinigung in biomimetischen Membranen	5
2	Stand der Technik – Membranen zur Proteinrekonstitution.....	7
2.1	Getragene Phospholipid-Doppelschichten	8
2.2	Artifizielle Membranen auf Basis vernetzter Phospholipide	13
2.3	Biomimetische Membranen auf Basis amphiphiler Blockpolymere.....	14
2.4	Biomimetische Lipopolymer-Membranen	17
3	Aufgabenstellung und Lösungsansatz.....	21
4	Theoretische Grundlagen	25
4.1	Copolymere	25
4.2	Kettenwachstumsreaktionen	27
4.2.1	Freie, unkontrollierte Kettenwachstumsreaktion	27
4.2.2	Kontrollierte Kettenwachstumsreaktion	28
4.2.3	Lebende Kettenwachstumsreaktion	29
4.2.3.1	Anionische Polymerisation von Isopren.....	30
4.2.3.2	Anionische Polymerisation von Ethylenoxid	33
4.3	Molekulargewicht und Molekulargewichtsverteilungen von Polymeren	35
4.4	Selbstassemblierung amphiphiler Blockcopolymere.....	36
4.4.1	Mikrophasenseparation als Voraussetzung	36
4.4.2	Selbstassemblierung in selektiven Lösemitteln	36
4.4.3	Vesikuläre Aggregate aus polymeren Amphiphilen.....	40
4.5	Impedimetrische Membrancharakterisierung.....	41
4.6	Biophysikalisches Verhalten des äußeren Membran-porins F.....	43
5	Material und Methoden.....	47
5.1	Polymersynthese	47
5.1.1	Syntheseapparatur.....	47
5.1.2	Allgemeine Vorgehensweise.....	48
5.1.2.1	Vorbereitung	48
5.1.2.2	Einbringen von Chemikalien.....	48
5.1.3	Absolutierung verwendeter Lösungsmittel und Monomere	49
5.1.4	Polymerisation und Aufreinigung der Blockcopolymere	49
5.1.5	Charakterisierung der Blockcopolymere	53
5.1.5.1	Größenausschlusschromatographie.....	53
5.1.5.2	Protonen-Kernresonanzspektroskopie	53
5.1.5.3	Dynamische Differenz-Kalorimetrie	53

5.2	Selbstassemblierung der Blockcopolymere in Wasser	54
5.2.1	Selbstassemblierung durch Lösungsmittelverdrängung	54
5.2.2	Selbstassemblierung mit Hilfe der Electroformation	54
5.2.3	Selbstassemblierung in Abhängigkeit von den molekularen Parametern und der Konzentration der Blockcopolymere	55
5.2.3.1	Probenpräparation	55
5.2.3.2	Cryo-Transmissionselektronenmikroskopie	55
5.3	Selbstassemblierung von Lipopolymer-Vesikeln	56
5.3.1	Herstellung der Lipopolymer-Mischungen	56
5.3.2	Erzeugung von Vesikeln aus Lipopolymer-Mischungen	57
5.3.3	Charakterisierung der Lipopolymer-Vesikel	57
5.3.3.1	Oberflächenfunktionalisierung der Objektträger	57
5.3.3.2	Immobilisierung der Vesikel aus Lipopolymer-Mischungen	58
5.4	Elektrochemische Charakterisierung biomimetischer Membranen	58
5.4.1	Erzeugung planarer biomimetischer Membranen	58
5.4.2	Impedimetrische Charakterisierung biomimetischer Membranen	59
5.5	Rekonstitution von OmpF in biomimetische Membranen	60
5.5.1	Proteinexpression und Aufreinigung	60
5.5.2	Ein-Kanal-Messungen zur Detektion der Proteinrekonstitution	60
5.5.3	Elektrochemische Impedanzspektroskopie zur Detektion der Proteinrekonstitution	61
6	Ergebnisse und Diskussion	62
6.1	Synthese der amphiphilen Blockcopolymere	62
6.2	Selbstassemblierung der Blockcopolymere in Wasser	69
6.2.1	Selbstassemblierung durch Lösungsmittelverdrängung	71
6.2.1.1	Blockcopolymere mit sehr hohem Isoprenanteil	71
6.2.1.2	Blockcopolymere mit hohem Isoprenanteil	72
6.2.1.3	Blockcopolymere mit mittlerem Isoprenanteil	76
6.2.1.4	Blockcopolymere mit geringem Isoprenanteil	81
6.2.1.5	Zusammenfassung	82
6.2.2	Selbstassemblierung mit Hilfe der Electroformation	85
6.2.3	Selbstassemblierung in Abhängigkeit von den molekularen Parametern und der Konzentration der Blockcopolymere	91
6.2.3.1	Einfluss des Gesamt-Molekulargewichts	94
6.2.3.2	Einfluss des Isoprenanteils	99
6.2.3.3	Einfluss der Konzentration der Blockcopolymere	104
6.2.3.4	Zusammenfassung	115
6.2.4	Dicke biomimetischer Membranen in Abhängigkeit vom Gesamt-Molekulargewicht	119
6.3	Selbstassemblierung von Lipopolymer-Vesikeln	121
6.3.1	Immobilisierung der Lipopolymer-Vesikel	124
6.3.2	Mischungsverhalten von PIPEO Lipopolymer-Membranen	125
6.3.2.1	Homogene Lipopolymer-Membranen	125
6.3.2.2	Heterogene Lipopolymer-Membranen	128

6.3.2.3	Entmischung von Lipopolymer-Mischungen	130
6.3.2.4	Zusammenfassung	134
6.4	Elektrochemische Charakterisierung biomimetischer Membranen	136
6.4.1	Phospholipid-Membranen	138
6.4.2	Lipopolymer-Membranen	139
6.4.3	Blockcopolymer-Membranen	146
6.4.4	Zusammenfassung	150
6.5	Rekonstitution von OmpF in biomimetische Membranen	151
6.5.1	Phospholipid-Membranen	152
6.5.2	Lipopolymer-Membranen	156
6.5.3	Blockcopolymer-Membranen	161
6.5.4	Zusammenfassung	165
7	Zusammenfassung und Ausblick	167
7.1	Zusammenfassung	167
7.1.1	Synthese amphiphiler Poly(Isopren-block-Ethylenoxid)-Polymere	167
7.1.2	Selbstassemblierung der PIPEO-Blockcopolymere in wässrigen Medien	168
7.1.3	Selbstassemblierung von Lipopolymer-Vesikeln	169
7.1.4	Impedimetrische Charakterisierung planarer biomimetischer Membranen	170
7.1.5	Rekonstitution von OmpF in biomimetische Membranen	171
7.2	Ausblick	172
8	Literatur	174
9	Anhang	185
9.1	Polymersynthese	185
9.1.1	Ausbeuten der Polymerisationen	185
9.1.2	NMR-Spektren der Blockcopolymere	185
9.2	GPC-Eluogramme der synthetisierten Polymere	196
9.3	Herstellung der Lipopolymer-Mischungen	199
9.4	EIS-Spektren der reinen planaren Blockcopolymer-Membranen	201