

Detektion von Glyphosat mit Hilfe einer Hydrophobin-EPSPS funktionalisierten Oberfläche und dem Malachitgrün-Assay

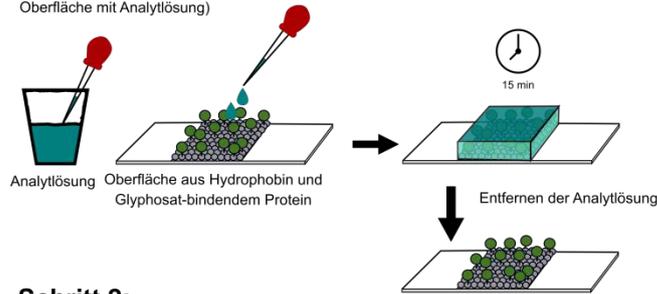
Julia Döring (julia.doering1@tu-dresden.de), Technische Universität Dresden, Deutschland; David Rettke (david.rettke@uni-leipzig.de), Universität Leipzig, Deutschland; Gerhard Rödel (gerhard.roedel@tu-dresden.de), Technische Universität Dresden, Deutschland; Tilo Pompe (tilo.pompe@uni-leipzig.de), Universität Leipzig, Deutschland und Kai Ostermann (kai.ostermann@tu-dresden.de), Technische Universität Dresden, Deutschland

Kurzfassung:

Glyphosat ist eines der weltweit am häufigsten eingesetzten Pestizide. Infolge seines möglichen kanzerogenen Potentials stehen der Einsatz von Glyphosat und ein generelles Anwendungsverbot derzeit europaweit zur Diskussion. Eine Herausforderung stellt der Nachweis von Glyphosat in verschiedenen Proben dar, um ein genaues Bild über Glyphosatrückstände in Umweltproben und Lebensmitteln zu gewinnen. Aufgrund seiner physikochemischen Eigenschaften ist die Detektion von Glyphosat in der Regel zeit- und kostenintensiv und erfordert geschultes Fachpersonal. Wir haben einen Assay entwickelt, der auf einer funktionalisierten Oberfläche aus Fusionsproteinen des natürlichen Glyphosat-Zielproteins, der 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphatsynthase (EPSPS), und dem Hydrophobin Ccg2, beruht. Glyphosat bedingt die Reduktion der enzymatischen Aktivität der EPSPS, welche zu einer Verringerung der Bildung von anorganischem Phosphat führt. Durch Nutzung der biofunktionalisierten Oberfläche und dem photometrischen Nachweis von anorganischem Phosphat durch den Malachitgrün-Assay, konnten wir einen einfachen und schnellen Assay zur Detektion von Glyphosat entwickeln (Abb. 1). Der Assay ist sehr spezifisch für Glyphosat und ist bis in den nanomolaren Bereich einsetzbar. Bei Nutzung eines „ready to use“ chips soll der Assay für eine einfache Vor-Ort-Analytik eingesetzt werden.

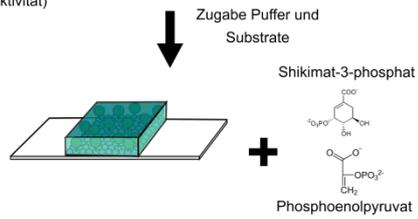
Schritt 1:

(Präinkubation der funktionalisierten Oberfläche mit Analytlösung)



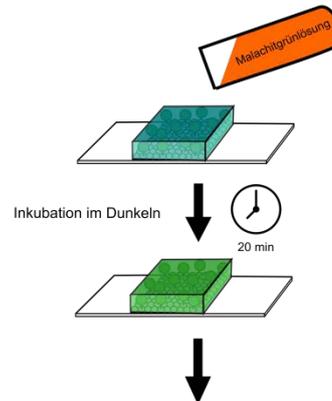
Schritt 2:

(Bildung Pi in Abhängigkeit der Enzymaktivität)



Schritt 3:

(Pi reagiert mit Malachitgrünlösung
--> Ausbildung grüne Färbung)



Schritt 4:

(Signal optisch auslesen)



Abbildung 1: Schematische Abbildung zur Durchführung des entwickelten Assays