

Ein fluoriertes Detergens für Membranprotein-Anwendungen**

Erik Frotscher, Bartholomäus Danielczak, Carolyn Vargas, Annette Meister, Grégory Durand und Sandro Keller*

Abstract: Tenside mit fluorinierten Kohlenstoffketten stellen eine vielversprechende milde Alternative zu konventionellen, vollständig hydrierten Detergentien für die Solubilisierung und Handhabung integraler Membranproteine dar. Aufgrund ihrer Inertheit gegenüber Lipidmembranen blieben sie bisher aber von beschränktem Nutzen für solche Anwendungen, in denen eine detergensähnliche Aktivität benötigt wird. Hier zeigen wir, dass Fluorierung an sich Detergensaktivität nicht ausschließt, wie an einem als F_6OM bezeichneten fluorierten Octylmaltosid-Derivat veranschaulicht wird. Diese nichtionische Verbindung wechselt mit und solubilisiert Phospholipidvesikel in detergensähnlicher Weise, ohne jedoch die Membranordnung unterhalb der Solubilisierungsgrenze zu beeinträchtigen. Dank dieser sanften und unüblichen Detergensaktivität ist F_6OM im Gegensatz zu einem lipophoben fluorierten Tensid in der Lage, die funktionelle Rückfaltung eines integralen Membranenzymes durch Förderung der Membraninsertion in Abwesenheit von Mizellen zu unterstützen.

Die meisten In-vitro-Ansätze zur Gewinnung und Handhabung von Membranproteinen sind auf Detergentien angewiesen, also auf oberflächenaktive Verbindungen, die mit Lipiddoppelschichtmembranen wechselwirken und diese bei

ausreichend hoher Konzentration auflösen.^[1] Mit Detergentien gelöste Proteine können dann gereinigt und biochemischen, biophysikalischen oder strukturellen Untersuchungen unterzogen^[2] oder in künstliche Membranen rekonstituiert werden.^[3,4] Allerdings resultiert der Kontakt mit Detergentien durch Aufbrechen stabilisierender Wechselwirkungen innerhalb des Proteins oder mit Lipidmolekülen oft im irreversiblen Verlust der nativen Proteinstruktur und -funktion.^[5,6] In den vergangenen Jahren wurden verstärkt Bemühungen unternommen, neue Amphiphile zu entwickeln, die konventionelle Detergentien bei der Solubilisierung von Membranproteinen ersetzen können, ohne deren Integrität zu beeinträchtigen.^[7] Erwähnenswerte Beispiele sind so genannte Lipid-Nanodiscs, die von Gerüstproteinen^[8] oder Styrol-Maleinsäure-Copolymeren^[9] umgeben sind, als Amphiphile bezeichnete amphiphile Polymere,^[10] „Tripod-Amphiphile“^[11] und fluorierte Tenside.^[12–14] Letztere behalten die vorteilhaftesten Eigenschaften hydrierter Detergentien, umgehen aber viele ihrer Einschränkungen.^[7] In Analogie zur schlechten Mischbarkeit fluorierter und hydrierter Kohlenstoffverbindungen wird erwartet, dass Kontakte zwischen fluorinierten Tensidschwänzen und Kohlenwasserstoffresten von Proteinen und Lipiden ungünstig sind, sodass strukturell und funktionell wichtige Protein/Protein- sowie Protein/Lipid-Wechselwirkungen nicht aufgebrochen werden.^[12,13] Darüber hinaus sind fluorierte Kohlenstoffketten wesentlich sperriger als deren hydrierte Pendants, was sie davon abhängt, zwischen die Transmembrandomänen der Proteine einzudringen.^[7,12]

Die Besonderheit fluorierter Kohlenstoffketten, sowohl hydrophob als auch lipophob zu sein, dient nicht nur der Prävention von Denaturierung und Delipidierung von Proteinen, sondern führt auch dazu, dass fluorierte Tenside meist nur schwerlich in der Lage sind, Membranen aufzulösen,^[13–18] sofern sie keine aggressive, ionische Kopfgruppe besitzen.^[19] Hier zeigen wir, dass nichtionische fluorierte Tenside entgegen dieser Annahme wirkungsvolle, jedoch milde Detergentien sein können. Der Vergleich zweier Verbindungen mit derselben fluorinierten Kohlenstoffkette, aber unterschiedlichen Kopfgruppen offenbart, dass Fluorierung an sich keine Lipophobie garantiert. Stattdessen sind es die Eigenschaften der polaren Kopfgruppe im Zusammenspiel mit einer fluorinierten Kohlenstoffkette, die über Detergensaktivität – oder deren Abwesenheit – entscheiden. Während dies zum einen zur Vorsicht beim Einsatz fluorierter Tenside in Experimenten mahnt, für die Membranstabilität essentiell ist,^[20–22] bietet es zum anderen die Möglichkeit einer gezielten Verwendung in biochemischen Ansätzen, die Detergensaktivität verlangen, ohne dabei auf konventionelle, Kohlenwasserstoff-basierte Detergentien angewiesen zu sein.

[*] E. Frotscher, B. Danielczak, Dr. C. Vargas, Prof. S. Keller
Molekulare Biophysik, Technische Universität Kaiserslautern
Erwin-Schrödinger-Straße 13, 67663 Kaiserslautern (Deutschland)
E-Mail: mail@sandrokeller.com

Priv.-Doz. A. Meister
Mitteldeutsches Zentrum für Struktur und Dynamik der Proteine (MPZ), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Biozentrum Weinbergweg 22, 06120 Halle, Saale (Deutschland)

Dr. G. Durand
Equipe Chimie Bioorganique et Systèmes Amphiphiles
Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse
33 rue Louis Pasteur, 84000 Avignon, Frankreich
und
Institut des Biomolécules Max Mousseron
UMR 5247 CNRS-UMENSCM
15 avenue Charles Flahault, 34093 Montpellier Cedex 05 (Frankreich)

[**] Wir danken Prof. Dr. Heiko Heerklotz und Sara Hovakeemian (Universität Toronto) und Dr. Harald Kelm (Technische Universität Kaiserslautern) für Zugang zu und Hilfe mit zeitaufgelöster Fluoreszenz- bzw. NMR-Spektroskopie sowie Markus Fleisch, Michaela Herrmann, Jessica Klement und Sebastian Unger (Technische Universität Kaiserslautern) für hervorragende experimentelle Mithilfe. Diese Arbeit wurde vom Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) mit Projekt Nr. 56041134 und von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen der International Research Training Group (IRTG) 1830 finanziell unterstützt.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201412359> zu finden.

Zunächst verglichen wir die Selbstorganisation und Membransolubilisierung von 3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluor-*n*-octyl- β -D-maltopyranosid (F₆OM) und 3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluor-*n*-octylphosphocholin (F₆OPC), die beide eine Octylkette mit einem perfluorierten terminalen Hexylsegment tragen (Abbildung 1). Nichtionisches F₆OM lagerte sich zu länglichen, stäbchenförmigen Mizellen zusammen, die mittels Transmissionselektronenmikroskopie (Abbildung 2a) beobachtbar waren, während zwitterioni-

sches F₆OPC kleine kugelförmige Mizellen bildete, wie mittels dynamischer Lichtstreuung gefunden wurde (Abbildung S1 in den Hintergrundinformationen). Dies steht im Gegensatz zu einem F₆OPC-Analogon, das zwei weitere CF₂-Gruppen trägt und Doppelschichtmembranen ausbildet.^[23] Unter den in unseren Experimenten vorhandenen Bedingungen betragen die kritischen Mizellbildungskonzentrationen von F₆OM und F₆OPC 0.7 mm bzw. 2.9 mm, wie durch kalorimetrische Demizellisierungtitrationen^[24] (Abbildung S2) gezeigt und durch ¹⁹F-NMR-Spektroskopie^[16] (Abbildung S3) bestätigt wurde. Bei 25 °C resultierte die Zugabe von Mizellarem F₆OM zu großen unilamellaren Vesikeln (LUVs) des Phospholipids 1-Palmitoyl-2-oleyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin (POPC) in zwar langsamer, aber stetiger Solubilisierung, die sich in einer Abnahme der Lichtstreuintensität bemerkbar machte (Abbildung 2b). Die Solubilisierung von 0.1 mm POPC-LUVs durch 2 mm F₆OM benötigte bei 25 °C mehrere Tage, konnte aber durch Erhöhung der Tensidkonzentration auf 10 mm (Abbildung 2b) oder der Temperatur auf 60 °C (Abbildung 2c) merklich beschleunigt werden. Im Gegensatz dazu wurde die Vesikelstabilität durch F₆OPC selbst bei 60 °C und einer Tensidkonzentration von 20 mm nicht beeinträchtigt (Abbildung 2c), was in Übereinstimmung mit der schwachen Membransolubilisierungseffizienz längerketiger Analoga steht.^[15] Diese Unterschiede in der Fähigkeit zur Membransolubilisierung erklären die Beobachtung, dass F₆OPC im Gegensatz zu F₆OM mit freistehenden Lipidmembranen kompatibel ist.^[20]

Eine systematische Untersuchung des Solubilisierungsverhaltens und der supramolekularen Organisation von POPC/F₆OM-Mischungen war durch Messung der Lichtstreuintensität in Abhängigkeit der Konzentration beider Komponenten möglich (Abbildung 3a).^[25] Die für den Beginn und die Vervollständigung der Solubilisierung benötigten F₆OM-Konzentrationen stiegen linear mit der POPC-Konzentration. Dies erlaubte die Erstellung eines Phasendiagramms,^[26] in dem ein Koexistenzbereich zwei Konzentrationsbereiche trennt, in denen entweder ausschließlich Mizellare oder nur Doppelschichtstrukturen existieren (Abbildung 3b). Aus den Steigungen der Phasengrenzen konnte abgeleitet werden, dass die Solubilisierung bei einem molaren F₆OM/POPC-Verhältnis von 1.0 in der Membran eintritt und bei einem molaren Verhältnis von 3.0 in den Mischmizellen abgeschlossen ist. Davon ausgehend berechneten wir die Änderungen in der freien Gibbs-Enthalpie beim Transfer von POPC in Mizellen bzw. von F₆OM in Vesikel, die lediglich 1.7 kJ mol⁻¹ bzw. 1.0 kJ mol⁻¹ betragen. Diese Werte sind denen ähnlich, die für typische Detergentien ermittelt wurden (Tabelle S1), aber sehr verschieden von denen eines „membranophoben“ Lipopeptids.^[27] Mittels ³¹P- und ¹⁹F-NMR-Spektroskopie konnte der gemeinsame Transfer von POPC und F₆OM aus Doppelschichten in Mizellen bestätigt werden. Aufgrund der langsamen Rotationsdiffusion von LUVs wurde das ³¹P-Signal in vesikulären POPC-Suspensionen bis unter die Nachweisgrenze verbreitert.^[28] Erst nach Solubilisierung durch F₆OM konnte ein scharfes isotropes Signal detektiert werden, das nach vollständigem Transfer von POPC in Mizellen konstant blieb (Abbildung 3c,e). In ¹⁹F-NMR-Spektren^[16] äußerte sich der Eintritt der Lipidsolubi-

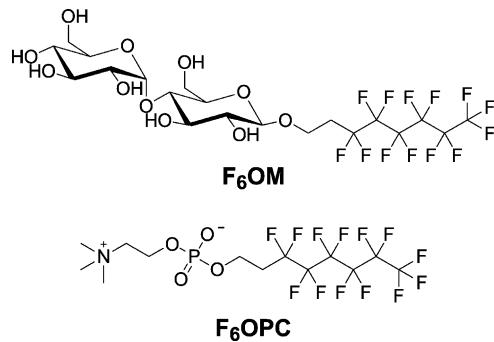


Abbildung 1. Chemische Strukturformeln von F₆OM und F₆OPC.

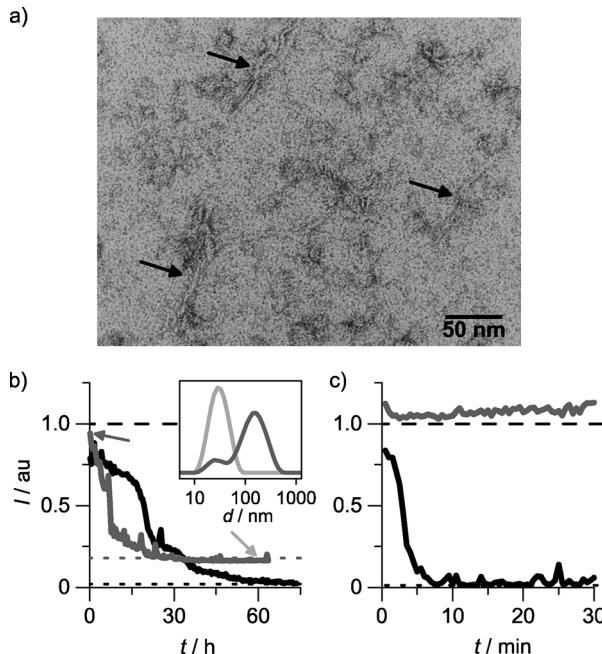


Abbildung 2. Differenzielle Solubilisierung von Lipidvesikeln durch fluorierte Tenside. a) Transmissionselektronenmikroskopiebild nach Negativkontrastierung von 1 mm F₆OM. Pfeile deuten auf stäbchenförmige Mizellen hin. b) Kinetik der Vesikelolubilisierung bei 25 °C anhand der Lichtstreuintensität, *I*, als Funktion der Zeit, *t*. 0.1 mm POPC in Form von LUVs wurde mit 2 mm (schwarze Kurve) oder 10 mm (graue Kurve) F₆OM inkubiert. Horizontale Linien geben mittlere Intensitäten reiner POPC-LUVs (gestrichelt) oder reiner F₆OM-Mizellen (gepunktet) in den entsprechenden Konzentrationen wieder. Einschub: Intensitätsgewichtete Partikelgrößenverteilungen unmittelbar (grau) oder 60 h (hellgrau) nach Zugabe von 10 mm F₆OM zu 0.1 mm POPC-LUVs (siehe Pfeile im Hauptbild). c) Solubilisierungskinetik bei 60 °C anhand von *I* als Funktion von *t*. 0.1 mm POPC-LUVs wurden mit 2 mm F₆OM (schwarz) oder 20 mm F₆OPC (grau) gemischt.

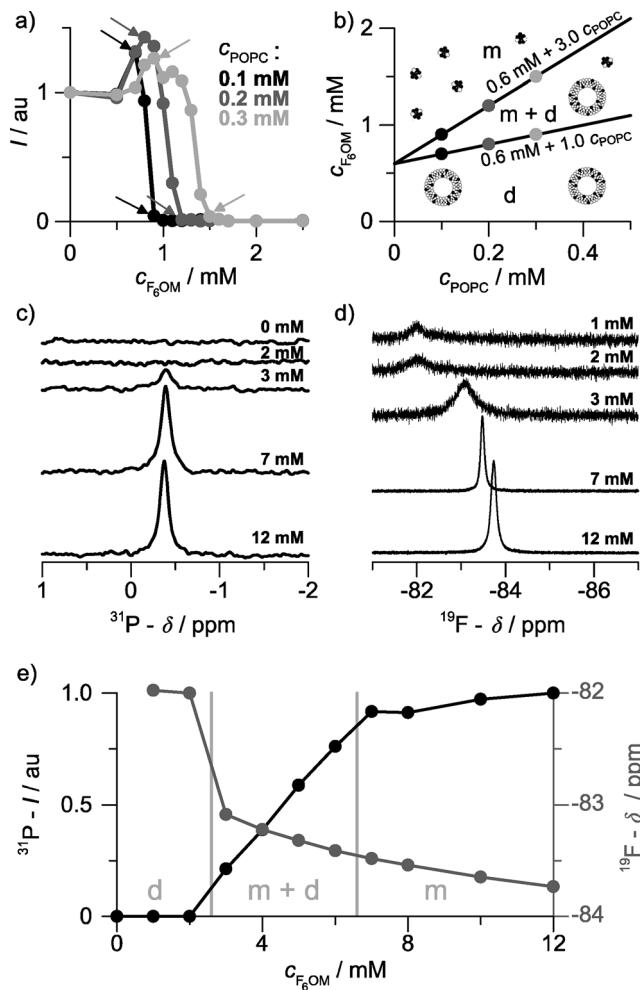


Abbildung 3. Solubilisierung von POPC-Vesikeln als Funktion der F_6OM -Konzentration. a) 90° -Lichtstreuintensität, I , von POPC-LUVs, die ansteigenden Konzentrationen von F_6OM ausgesetzt wurden. Pfeile markieren Datenpunkte, die für die Erstellung des Phasendiagramms verwendet wurden. b) POPC/ F_6OM -Phasendiagramm, das Konzentrationsbereiche mit ausschließlich vorhandenen Doppelschichten (d), Mizellen (m), oder beiden (m + d) eingrenzt. Die Phasengrenzen (Grafen mit Parametern) sind lineare Anpassungen an die aus (a) gewonnenen Konzentrationspaare (Kreise). c) ^{31}P -NMR-Spektren von 2 mM POPC-LUVs, die mit den angezeigten Konzentrationen an F_6OM in 90% H_2O /10% D_2O gemischt wurden. d) ^{19}F -NMR-Spektren derselben Proben, die die CF_3 -Resonanz von F_6OM zeigen. Zur besseren Veranschaulichung wurde die vertikale Skalierung für verschiedene F_6OM -Konzentrationen angepasst. e) ^{31}P -NMR-Signalintensitäten, I (schwarz), und chemische Verschiebungen der ^{19}F -NMR- CF_3 -Resonanz, δ_p (grau), als Funktion der F_6OM -Konzentration. Graue Linien zeigen die aus dem Phasendiagramm in (b) ermittelten Phasengrenzen. Um Gleichgewichtseinstellung zu gewährleisten, wurde jede Probe für 30 min bei $60^\circ C$ inkubiert, bevor Messungen bei $25^\circ C$ durchgeführt wurden.

lisierung in einer Hochfeldverschiebung des Signals der CF_3 -Gruppe von F_6OM , das sich infolge der Veränderung der Zusammensetzung der Mischmizellen mit steigender F_6OM -Konzentration noch weiter verschob (Abbildung 3d,e).

Schnelle Vesikelsolubilisierung bei erhöhten Temperaturen wurde durch thermisch induzierte Membrandestabilisierung und beschleunigte Translokation des Detergens er-

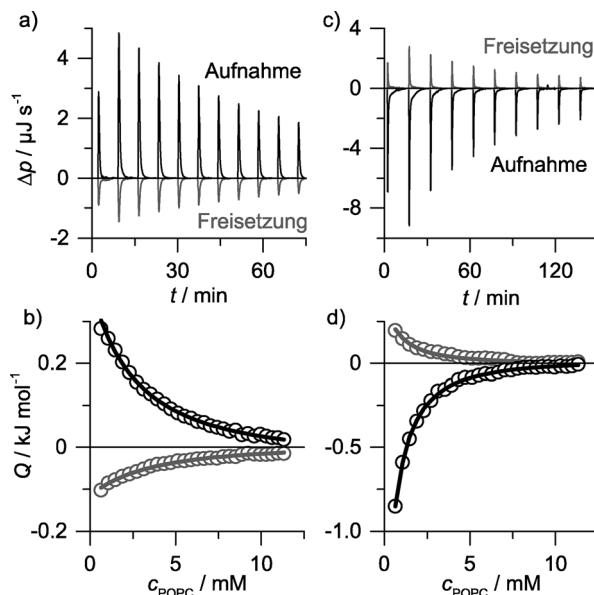


Abbildung 4. Membranverteilung und -translokation von F_6OM anhand von ITC-Messungen. a) Aufnahme- und Freisetzungsthermogramme bei $25^\circ C$, in denen die differenzielle Heizleistung, Δp , gegen die Zeit, t , aufgetragen ist. Zur Veranschaulichung sind nur 11 von 30 Injektionen gezeigt. b) Entsprechende Isothermen mit experimentellen (Kreise) und angepassten (Linien) Werten der integrierten und normierten Reaktionswärme, Q , aus denen sich ein zugänglicher POPC-Anteil von 0.22 ergibt. c) Aufnahme- und Freisetzungsthermogramme bei $60^\circ C$ mit 10 von 30 gezeigten Injektionen. d) Entsprechende Isothermen mit experimentellen (Kreise) und angepassten (Linien) Q -Werten, die in einem zugänglichen POPC-Anteil von 0.65 resultieren. POPC war jeweils in einer Konzentration von 60 mM in der Spritze vorhanden, während die F_6OM -Konzentration in Aufnahmever suchen 0.3 mM in der Probenzelle und in Freisetzungsversuchen 3 mM in der Spritze betrug. Bei diesen Konzentrationen war gewährleistet, dass ausschließlich Doppelschichten und keine Mizellen vorhanden waren.

klärt.^[25,29] Wir führten Aufnahme- und Freisetzungsversuche mit isothermer Titrationskalorimetrie durch, um diese Hypothese für F_6OM zu überprüfen und die Thermodynamik seiner Wechselwirkungen mit Lipidmembranen aufzuschlüsseln (Abbildung 4a,c). Die Auswertung der so erhaltenen Isothermen (Abbildung 4b,d) im Rahmen eines Membran/Wasser-Verteilungsgleichgewichtes^[30] ergab, dass F_6OM sich mit freien Transferenthalpien von $-25.3 \text{ kJ mol}^{-1}$ bei $25^\circ C$ und $-29.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ bei $60^\circ C$ in POPC-Membranen einlagert (Tabelle S2) und dass der zugängliche Lipidanteil mit zunehmender Temperatur deutlich steigt (Tabelle S3). Dies deutet darauf hin, dass F_6OM bei $60^\circ C$ zügig zwischen beiden Membranschichten hin- und herwechseln kann, was bei $25^\circ C$ nicht der Fall ist, und dass dieser Unterschied für die Temperaturabhängigkeit der Solubilisierungskinetik verantwortlich ist (Abbildung 2b,c). Im Gegensatz dazu zeigten sich für F_6OM nur sehr kleine Verdünnungswärmen (nicht gezeigte Daten), was auf die Abwesenheit beachtenswerter Wechselwirkungen mit POPC-Membranen hinweist.

Um den Mechanismus der F_6OM -getriebenen Membransolubilisierung aufzuklären, nahmen wir zeitaufgelöste Messungen der Fluoreszenzanzitropie vor.^[31] Die Titration von Phospholipidmembranen mit einem hydrierten Deter-

gens mit polarer Kopfgruppe führt zu einem fortschreitenden Anstieg der Unordnung der Fettsäureketten, was sich in Änderungen in der Dynamik der Fluoreszenzsonde 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatrien (DPH) im Nanosekundenbereich bemerkbar macht.^[32] Bei 20°C lösen sich POPC-Doppelschichten auf, wenn die limitierende DPH-Anisotropie auf einen Grenzwert von ca. 0.01 sinkt, und zwar unabhängig von der chemischen Natur des Detergens.^[33] Im Gegensatz zu diesem „homogenen“ Mechanismus der Solubilisierung können manche Lipopeptide und Detergentien, deren polare und unpolare Reste nicht klar voneinander getrennt sind, Membranen „heterogen“ solubilisieren, indem sie sich in der Lipidmatrix zu Clustern zusammenlagern und eine Solubilisierung ohne wesentliche Änderung der Membranordnung bewirken.^[33] Letzteres wurde auch für F₆OM beobachtet, das vor Eintritt der Solubilisierung nur geringe Änderungen in der limitierenden Anisotropie hervorrief (Abbildung 5). Bei

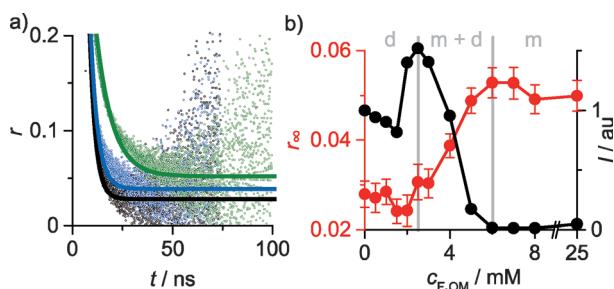


Abbildung 5. Effekte von F₆OM auf die Membranordnung anhand zeit-aufgelöster Fluoreszenz anisotropie. a) Repräsentative Abklingkurven der Fluoreszenz anisotropie, r , von 3.33 μ M DPH in 2 mM POPC-LUVs in Abwesenheit (schwarz) oder Anwesenheit von 4 mM (blau) oder 10 mM (grün) F₆OM. Monoexponentielle Anpassungen (durchgehende Linien) ergaben limitierende Anisotropien als asymptotische Werte. b) Limitierende DPH-Anisotropie, r_∞ (rot), und 90°-Lichtstreuintensität, I (schwarz), als Funktionen der F₆OM-Konzentration. Graue Linien zeigen von I abgeleitete Phasengrenzen und Fehlerbalken stehen für 95%-Vertrauensbereiche. Um Gleichgewichtseinstellung zu gewährleisten, wurde jede Probe für 30 min bei 60°C inkubiert, bevor Messungen bei 20°C durchgeführt wurden.

weiterer Zugabe von F₆OM stieg die limitierende Anisotropie stetig an, bis sie schließlich nach vollständiger Solubilisierung auf konstantem Niveau verharrte. Die verringerte Rotationsfreiheit von DPH in Mizellen erklärt sich aus deren stäbchenförmiger Morphologie (Abbildung 2a) und dem entsprechend großen hydrodynamischen Durchmesser (Abbildung S1). Lipophobes F₆OPC hatte hingegen keinen Effekt auf POPC-Membranen, was sich in seinem vernachlässigbaren Einfluss auf alle untersuchten Fluoreszenzparameter niederschlug (Abbildung S4).

Die Übertragung von Bacteriorhodopsin oder des Cytochrome- $b_{6}f$ -Komplexes aus hydrierten Detergentien in ein F₆OM-Analogon mit einer zusätzlichen CH₂-Gruppe erhöht die Stabilität und Aktivität beider Proteine.^[34] Hierfür ist zwar Selbstorganisation des fluorierten Tensids zur Bildung einer membranmimetischen Umgebung erforderlich, nicht aber Lipophilie oder Detergensaktivität. Um beispielhaft zu verdeutlichen, wie letztere für Membranprotein-Anwendungen genutzt werden können, verglichen wir die Einflüsse von F₆OM und F₆OPC auf die Rückfaltung der Außenmembran-Phospholipase A (OmpLA) zur Erzeugung enzymatisch aktiver Proteoliposomen. OmpLA stellt ein exzellentes Modellmembranprotein für Faltungsstudien dar;^[35] allerdings kann ihr in Harnstoff entfalteter Zustand ohne chemische oder molekulare Chaperone nicht in LUVs zurückgefaltet werden, die aus langketten Phospholipiden bestehen.^[36] Mithilfe von Gelverschiebungs-Densitometrie (Abbildung 6a) und eines kolorimetrischen Phospholipase-Tests^[37] (Abbildung S5) stellten wir fest, dass das fluorierte Detergens F₆OM in der Lage ist, die funktionelle Rückfaltung von OmpLA in POPC-LUVs konzentrationsabhängig und ohne Notwendigkeit mizellärer Strukturen zu unterstützen (Abbildung 6b). Dabei war es wesentlich effektiver als F₆OPC, das ausschließlich in mizellärer Form einen zwar signifikanten, aber doch moderaten Effekt hatte, was mit einem vorhergehenden Bericht übereinstimmt.^[20]

Die Lipophobie fluorierter Tenside machte sie zu einem beliebten Mittel für den kontrollierten Einbau von Membranproteinen in vorgeformte Lipiddoppelschichten,^[20,21] er-

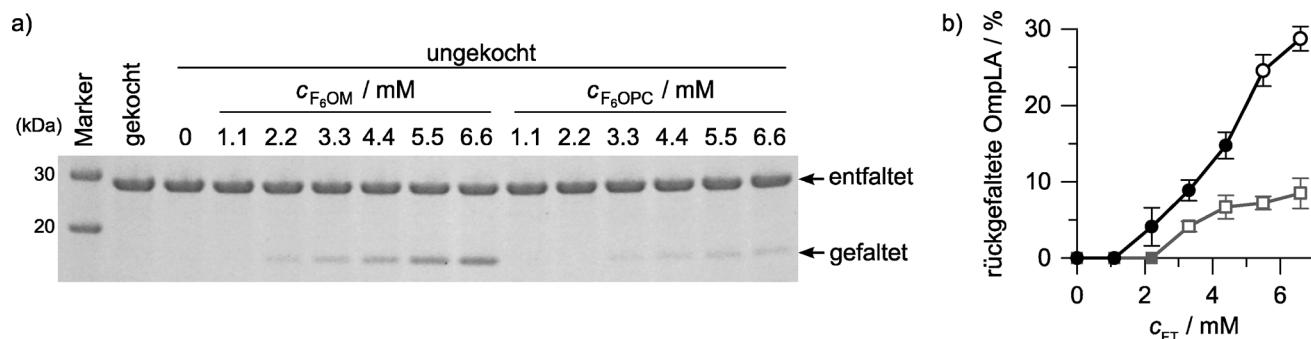


Abbildung 6. Rückfaltung von OmpLA in POPC-Vesikel in Anwesenheit fluorierter Tenside. a) Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gel von OmpLA, die aus 8 M Harnstoff in 4 mM POPC-LUVs mit verschiedenen Konzentrationen von F₆OM oder F₆OPC zurückgefaltet wurde. Als Kontrolle (zweite Spur) wurde OmpLA für 10 min bei 97°C gekocht. b) Anteil an rückgefalteter OmpLA in Abhängigkeit der Konzentration an fluoriertem Tensid, c_{FT} , für F₆OM (schwarz) und F₆OPC (grau) aus densitometrischer Quantifizierung von Gelen wie dem in (a) gezeigten. Für beide Tenside wurden Konzentrationen im submizellären Bereich, in dem nur Doppelschichten vorhanden sind (geschlossene Symbole), sowie Konzentrationen im Koexistenzbereich, also in Anwesenheit von Mizellen und Doppelschichten (offene Symbole), getestet. Die Konzentrationsbereiche für F₆OM und F₆OPC wurden dem Phasendiagramm (Abbildung 3b) bzw. Demizellisierungsexperimenten (Abbildung S2c,d und Abbildung S3c,d) entnommen. Fehlerbalken geben Standardabweichungen aus drei unabhängigen Experimenten an.

schwere aber auch ihre Anwendung in Situationen, in denen eine detergensähnliche Aktivität erwünscht oder sogar essentiell ist. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Fluorierung und Detergensaktivität sich nicht gegenseitig ausschließen und dass ein fluoriertes Detergens unter Bedingungen, in denen milde Wechselwirkungen mit der Membran sich als vorteilhaft gegenüber der Inertheit lipophober fluorierter Tenside erweisen, die funktionelle Rückfaltung eines Membranproteins ermöglicht. Obschon die entscheidenden Eigenschaften durch systematische Struktur-Aktivitäts-Beziehungen erst noch aufgeklärt werden müssen, legen die hier gezeigten Befunde nahe, dass die Kopfgruppenchemie zur Einstellung der Balance zwischen Lipophobie und Detergensaktivität genutzt werden kann, um fluorierte Tenside einem breiten Bereich neuer Anwendungen zugänglich zu machen.

Stichwörter: Biomembranen · Liposomen · Mizellen · Proteine · Tenside

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 5069–5073
Angew. Chem. **2015**, *127*, 5158–5162

- [1] M. Le Maire, P. Champeil, J. V. Møller, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2000**, *1508*, 86–111.
- [2] G. G. Privé, *Methods* **2007**, *41*, 388–397.
- [3] J. L. Rigaud, D. Lévy, *Methods Enzymol.* **2003**, *372*, 65–86.
- [4] N. Jahnke, O. O. Krylova, T. Hoomann, C. Vargas, S. Fiedler, P. Pohl, S. Keller, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 920–927.
- [5] N. Bordag, S. Keller, *Chem. Phys. Lipids* **2010**, *163*, 1–26.
- [6] S. Fiedler, J. Broecker, S. Keller, *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67*, 1779–1798.
- [7] J. L. Popot, *Annu. Rev. Biochem.* **2010**, *79*, 737–775.
- [8] A. Nath, W. M. Atkins, S. G. Sligar, *Biochemistry* **2007**, *46*, 2059–2069.
- [9] D. J. K. Swainsbury, S. Scheidelaar, R. van Grondelle, J. A. Killian, M. R. Jones, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 11803–11807; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 11997–12001.
- [10] J. L. Popot, T. Althoff, D. Bagnard, J. L. Banères, P. Bazzacco, E. Billon-Denis, L. J. Catoire, P. Champeil, D. Charvolin, M. J. Cocco, et al., *Annu. Rev. Biophys.* **2011**, *40*, 379–408.
- [11] P. S. Chae, A. C. Kruse, K. Gotfryd, R. R. Rana, K. H. Cho, S. G. F. Rasmussen, H. E. Bae, R. Chandra, U. Gether, L. Guan, B. K. Kobilka, C. J. Loland, B. Byrne, S. H. Gellman, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 15645–15651.
- [12] E. Chabaud, P. Barthélémy, N. Mora, J. L. Popot, B. Pucci, *Biochimie* **1998**, *80*, 515–530.
- [13] C. Breyton, E. Chabaud, Y. Chaudier, B. Pucci, J. L. Popot, *FEBS Lett.* **2004**, *564*, 312–318.
- [14] G. Durand, M. Abla, C. Ebel, C. Breyton in *Membrane Proteins Production for Structural Analysis*, (Hrsg.: I. Mus-Vetereau), Springer, Heidelberg, **2014**, S. 205–251.
- [15] C. Der Mardirossian, M. P. Krafft, T. Gulik-Krzywicki, M. le Maire, F. Lederer, *Biochimie* **1998**, *80*, 531–541.
- [16] P. Barthélémy, V. Tomao, J. Selb, Y. Chaudier, B. Pucci, *Langmuir* **2002**, *18*, 2557–2563.
- [17] S. S. Palchevskyy, Y. O. Posokhov, B. Olivier, J. L. Popot, B. Pucci, A. S. Ladokhin, *Biochemistry* **2006**, *45*, 2629–2635.
- [18] M. V. Rodnin, Y. O. Posokhov, C. Contino-Pépin, J. Brettmann, A. Kyrychenko, S. S. Palchevskyy, B. Pucci, A. S. Ladokhin, *Biophys. J.* **2008**, *94*, 4348–4357.
- [19] F. H. Shepherd, A. Holzenburg, *Anal. Biochem.* **1995**, *224*, 21–27.
- [20] P. Raychaudhuri, Q. Li, A. Mason, E. Mikhailova, A. J. Heron, H. Bayley, *Biochemistry* **2011**, *50*, 1599–1606.
- [21] A. Kyrychenko, M. V. Rodnin, M. Vargas-Uribe, S. K. Sharma, G. Durand, B. Pucci, J. L. Popot, A. S. Ladokhin, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2012**, *1818*, 1006–1012.
- [22] D. Stoddart, M. Ayub, L. Hofler, P. Raychaudhuri, J. W. Klingenhofer, G. Maglia, A. Heron, H. Bayley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 2425–2430.
- [23] M. P. Krafft, F. Giulieri, J. G. Riess, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 741–743; *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 783–785.
- [24] J. Broecker, S. Keller, *Langmuir* **2013**, *29*, 8502–8510.
- [25] S. Keller, H. Heerklotz, N. Jahnke, A. Blume, *Biophys. J.* **2006**, *90*, 4509–4521.
- [26] H. Heerklotz, A. D. Tsamaloukas, S. Keller, *Nat. Protoc.* **2009**, *4*, 686–697.
- [27] S. Keller, I. Sauer, H. Strauss, K. Gast, M. Dathe, M. Bienert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5252–5255; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5386–5389.
- [28] M. Roux, P. Champeil, *FEBS Lett.* **1984**, *171*, 169–172.
- [29] S. Keller, H. Heerklotz, A. Blume, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1279–1286.
- [30] A. D. Tsamaloukas, S. Keller, H. Heerklotz, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 695–704.
- [31] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Springer, Boston, **2006**.
- [32] M. Shinitzky, Y. Barenholz, *J. Biol. Chem.* **1974**, *249*, 2652–2657.
- [33] M. Nazari, M. Kurdi, H. Heerklotz, *Biophys. J.* **2012**, *102*, 498–506.
- [34] A. Polidori, M. Presset, F. Lebaupain, B. Ameduri, J. L. Popot, C. Breyton, B. Pucci, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5827–5831.
- [35] C. P. Moon, K. G. Fleming, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 10174–10177.
- [36] N. K. Burgess, T. P. Dao, A. M. Stanley, K. G. Fleming, *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 26748–26758.
- [37] A. J. Aarsman, L. van Deenen, H. van den Bosch, *Bioorg. Chem.* **1976**, *5*, 241–253.

Eingegangen am 24. Dezember 2014,
veränderte Fassung am 22. Januar 2015
Online veröffentlicht am 9. März 2015