



EUROPA-FACHBUCHREIHE
für Chemieberufe

Fachwissen Biologie und Biotechnik

Claus-Dieter Paul
Alexander Rotthues

3. Auflage

VERLAG EUROPA-LEHRMITTEL · Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG
Düsselberger Straße 23 · 42781 Haan-Gruiten

Europa-Nr.: 70951

Autoren:

Claus-Dieter Paul, Dipl.-Biologe, Oberstudienrat
Dr. Alexander Rotthues, Dipl.-Biotechnologe, Studiendirektor
Dr. Eva Kaufmann, Dipl.-Biologin, Oberstudiendirektorin

Frankfurt am Main
Frankfurt am Main
Oberursel

Lektorat:

Walter Bierwerth, Dipl.-Ingenieur, Studiendirektor

Eppstein/Taunus

Bildbearbeitung:

Zeichenbüro des Verlages Europa-Lehrmittel, Ostfildern
Design-Studio Wiegand, Hamburg

3. Auflage 2020

Druck 5 4 3 2 1

Alle Drucke derselben Auflage sind parallel einsetzbar, da sie bis auf korrigierte Druckfehler untereinander unverändert sind.

ISBN 978-3-8085-2910-2

Alle Rechte vorbehalten. Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der gesetzlich geregelten Fälle muss vom Verlag schriftlich genehmigt werden.

© 2020 by Verlag Europa-Lehrmittel, Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG, 42781 Haan-Gruiten

Satz: Satz+Layout Werkstatt Kluth GmbH, 50374 Erftstadt

Umschlaggestaltung: braunwerbeagentur, Radevormwald unter Verwendung der Fotos von © Satirus – shutterstock.com und © ktsdesign – stock.adobe.com

Druck: RCOM Print GmbH, 97222 Rimpfing

Vorwort zur 3. Auflage

Die Bedeutung der Biologie nimmt stetig zu, insbesondere seitdem es durch die moderne Biotechnik und Gentechnik gelingt, die vielfältigen Leistungen von Mikroorganismen, pflanzlichen und tierischen Zellen im Rahmen technischer Verfahren zum Vorteil für den Menschen zu nutzen. So sind Ernährung, Gesundheit, Landwirtschaft, Chemikalienproduktion, Energieversorgung und Umweltschutz zentrale Anwendungsschwerpunkte biotechnischer Verfahren.

Die aktualisierte (und korrigierte) 3. Auflage von „**Fachwissen Biologie und Biotechnik**“ unterstützt als fachsystematisches Nachschlagewerk und Arbeitsbuch für die Ausbildungsberufe im Berufsfeld Chemie, Physik, Biologie die Lernfelder in den bundesweiten Rahmenlehrplänen, die sich mit **mikrobiologischen Arbeitstechniken** und **biotechnischer Produktion** befassen. Gleichzeitig gibt es durch die Einbeziehung der Grundlagen der Biologie und Ökologie einen Gesamtüberblick über das Fachgebiet. Das Buch kann unterrichtsbegleitend in der Berufsschule und der betrieblichen Aus- und Fortbildung eingesetzt werden und eignet sich bevorzugt für **Chemikanten, Pharmakanten, Produktionsfachkräfte Chemie, Biologielaboranten, Chemielaboranten, Lacklaboranten, Physiklaboranten** sowie **Industriemeister Chemie und Pharmazie**.

Darüber hinaus ist das Buch in der Fachschule für Technik, Fachrichtung Chemie- und Biotechnik, in der Berufsfachschule für biologisch-technische Assistenz, im beruflichen Gymnasium Biotechnologie und der gymnasialen Oberstufe ebenso einsetzbar wie für Fachkräfte für Kreislauf- und Abfallwirtschaft sowie für Studierende an den Hochschulen, wo es die Vorlesungen und Übungen der entsprechenden Studiengänge unterstützt. Da biotechnische Verfahren eine zunehmende Bedeutung haben, wird auch der bereits im Berufsleben stehende Praktiker in diesem Buch nützliche Hinweise finden, die ihm bei der Einarbeitung in das entsprechende Arbeitsgebiet helfen können. Das Buch „**Fachwissen Biologie und Biotechnik**“ ist wie folgt gegliedert:

- **Grundlagen der Biologie.** Ausgehend von den Biomolekülen und der Zelle mit ihren Funktionen wird der Zusammenhang zwischen Organisation und Funktion lebendiger Systeme erläutert.
- **Mikrobiologie.** Nach den Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen wird deren Rolle im Gesamtökosystem ebenso behandelt wie ihre Bedeutung für den Menschen, insbesondere ihr Einsatz im Rahmen biotechnischer Verfahren und der Gentechnik.
- **Biotechnik.** Schwerpunkte sind die Grundlagen der Gentechnik, der Umgang und die Kultivierung von Mikroorganismen und Zellen, Bioreaktoren, biotechnische Produktionsprozesse sowie ausgewählte Anwendungen der Biotechnik.
- **Ökologie.** Die vielfältigen Beziehungen der Lebewesen zu ihrer Umwelt werden ebenso behandelt wie umweltbelastende Eingriffe des Menschen. Vorschriften auf dem Gebiet des Umweltschutzes und Maßnahmen des Umwelt- und Arbeitsschutzes ergänzen diesen Abschnitt.

In einem **Vertiefungsteil** werden zu ausgewählten Inhalten ergänzend und vertiefend Themen behandelt, die den Praxisbezug zu den entsprechenden Ausbildungsberufen herstellen. Der Abschnitt **Überprüfen von Kenntnissen** dient zum Wiederholen und Festigen des Gelernten. Bei den Formulierungen der Fragen wurde bewusst eine Taxonomie verwendet, die für die Kenntnisziele unterschiedliche Schwierigkeitsgrade vorsieht.

Um das Arbeiten mit dem Buch zu erleichtern, wurden zusammengehörende Kapitel möglichst auf einer Seite bzw. einer Doppelseite untergebracht. Querverweise im Text weisen auf Zusammenhänge hin. Wichtige Sachverhalte sind als Merksätze hervorgehoben. Die Verwendung der Fachsprache ist auf das notwendige Maß beschränkt. Im Hinblick auf den zeitlichen Rahmen für den Unterricht wurde bei einigen Lernzielen erheblich didaktisch reduziert. Dafür sind die Bereiche betont, die beispielhaft biotechnische Verfahren als moderne Technologie ausweisen, die bei der Bewältigung drängender Probleme der Menschheit erfolgreich eingesetzt werden können.

Allen Nutzern dieses Buches wünschen wir einen erfolgreichen Einstieg in die Grundlagen von Biologie und moderner Biotechnik. Hinweise, die zur Verbesserung und Weiterentwicklung des Buches beitragen, erbitten wir unter der Verlagsadresse oder per E-Mail (lektorat@europa-lehrmittel.de).

I Grundlagen der Biologie**1 Eigenschaften und Merkmale lebendiger Systeme**

1.1	Kennzeichen des Lebens	7
1.2	Elemente des Lebens	8
1.2.1	Proteine (Eiweißstoffe)	9
1.2.2	Enzyme (katalytische Proteine)	12
1.2.3	Nukleinsäure DNA	14
1.2.4	Nukleinsäure RNA	16
1.2.5	Kohlenhydrate	16
1.2.6	Lipide (Fette)	18

2 Zusammenhang zwischen Bau und Funktion von Zellen

2.1	Prozyten und Euzyten	19
2.2	Aufbau von Zellen	19
2.2.1	Zellplasma	19
2.2.2	Biomembranen	20
2.2.3	Zellorganellen	22
2.2.4	Chromatin und Chromosomen	27
2.3	Zellteilung	30
2.4	Veränderungen des Erbgutes (Mutationen)	32

3 Stoffwechselvorgänge in Zellen

3.1	Stoffwechseldefinition	36
3.2	ATP und ADP	37
3.3	Fotosynthese	38
3.4	Biologische Oxidation	40
3.5	Alkoholische Gärung	41
3.6	Proteinbiosynthese	42

4 Systematik der Lebewesen

4.1	Systematische Einheiten	44
4.2	Stammbäume der Lebewesen	45

II Mikrobiologie**1 Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen**

1.1	Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs	47
1.2	Eigenschaften der Mikroorganismen	48
1.2.1	Natürliche Vorkommen und Verbreitung	48
1.2.2	Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen	50
1.2.3	Bakterien – Bau und Lebensweise	53
1.2.4	Pilze – Bau und Lebensweise	59
1.2.5	Viren – Bau und Lebensweise	63

2 Bedeutung der Mikroorganismen

2.1	Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde	66
2.2	Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen	68
2.2.1	Mikroorganismen als Krankheitserreger	68
2.2.2	Mikroorganismen als Lebensmittelverderber	71
2.2.3	Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion	72

III Biotechnik**1 Biotechnik und Gentechnik**

1.1	Geschichte der Biotechnik und Gentechnik	76
1.2	Vorteile biotechnischer Verfahren	78

2 Biotechnisch wichtige Mikroorganismen und Zellen

2.1	Produktionsorganismen in der Biotechnik	80
-----	---	----

2.2 Gentechnik – Erzeugung gentechnisch veränderter Organismen zur Nutzung in biotechnischen Verfahren

2.2.1	Gentechnik – Überblick	82
2.2.2	Nukleinsäureisolierung	84
2.2.3	Nukleinsäuredetektion	86
2.2.4	Polymerasekettenreaktion PCR	88
2.2.5	DNA Banken	90
2.2.6	DNA-Sequenzierung	93
2.2.7	Klonierung	94
2.2.8	Gentechnikgesetz	98

3 Umgang mit biotechnisch wichtigen Mikroorganismen und Zellen

3.1	Mikroorganismen und Zellen als biologische Arbeitsstoffe	100
3.2	Grundregeln guter mikrobiologischer Technik	102
3.3	Schutz- und Sicherheitsstufen im Labor und in der Produktion	104
3.4	Sterilisation und Desinfektion	105
3.5	Sterilisationsverfahren	106
3.5.1	Feuchte Hitze	106
3.5.2	Trockene Hitze	108
3.5.3	Gase	108
3.5.4	Ionisierende Strahlung	109
3.5.5	Sterilfiltration	109
3.6	Desinfektionsverfahren	112
3.6.1	Physikalische Desinfektionsverfahren	112
3.6.2	Chemische Desinfektionsmittel und Desinfektionsverfahren	112
3.7	Entsorgung von biologisch kontaminiertem Material	114
3.8	Biotechnische Labore	116
3.9	Stammhaltung und Konservierung von Mikroorganismen und Zellen	119

4 Kultivierung biotechnisch wichtiger Mikroorganismen und Zellen

4.1	Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung	122
4.1.1	Nährmedium	123
4.1.2	Temperatur	126
4.1.3	pH-Wert	126
4.1.4	Sauerstoff	127
4.2	Wachstumsgeschwindigkeit	128
4.3	Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium	130
4.4	Wachstum auf festem Nährmedium	132

5 Bioreaktoren

5.1	Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen	135
5.2	Rührkessel-Bioreaktoren	136
5.3	Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors	136
5.3.1	Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors	137
5.3.2	Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität	140
5.3.3	Werkstoffe	142
5.4	Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors	144
5.4.1	Reinigung und Sterilisation	144
5.4.2	Durchmischung und Begasung	148
5.4.3	Schaum und Schaumbekämpfung	152
5.5	Prozesskontrolle in einem Rührkessel-Bioreaktor	154
5.5.1	Messgrößen im Bioreaktor	155
5.5.2	Regeln von Messgrößen im Bioreaktor	162

5.6	Nicht gerührte Bioreaktoren	166	3.1.2	Dampfförmige Luftschadstoffe (ausgewählte Beispiele)	248
5.6.1	Einwegbioreaktoren	166	3.1.3	Stäube und Aerosole als Luftschadstoffe (ausgewählte Beispiele)	249
5.6.2	Geschüttelte Bioreaktoren	168	3.1.4	Weltweite Probleme durch Luftbelastungen	250
5.6.3	Blasensäulen-Bioreaktor und Airlift-Schlaufenbioreaktor	169	3.1.5	Räumlich begrenzte Probleme durch Luftbelastungen	252
5.6.4	Festbett-Bioreaktor und Fließbett-Bioreaktor	170	3.2	Bodenbelastungen	254
5.6.5	Membran-Bioreaktoren	171	3.2.1	Allgemeine Bodenbelastungen (ausgewählte Beispiele)	254
6	Biotechnische Produktionsprozesse	172	3.2.2	Bodenbelastungen durch die Landwirtschaft	254
6.1	Schema eines biotechnischen Produktionsprozesses	173	3.2.3	Bodenbelastungen durch Abfälle	257
6.2	Vorbereitung des Ausgangsmaterials (Upstream-Processing)	174	3.3	Wasserbelastungen	258
6.2.1	Nährmedienzubereitung	174	3.3.1	Natürliche Gewässerbelastungen und Trinkwassergewinnung	258
6.2.2	Sterilisation der Bioreaktoranlage und des Nährmediums	174	3.3.2	Natürliche Selbstreinigung der Gewässer	259
6.2.3	Impfgutanzucht (Inokulumherstellung)	175	3.3.3	Gewässerbelastungen durch die Tätigkeit des Menschen	260
6.3	Fermentation (Stoffumwandlung)	176	4	Umgang mit Umweltbelastungen	262
6.3.1	Diskontinuierliche Prozessführung bei der Fermentation	176	4.1	Umweltschutz	262
6.3.2	Kontinuierliche Prozessführung bei der Fermentation	179	4.2	Vorschriften im Rahmen des Umweltschutzes	263
6.4	Aufarbeitung (Downstream-Processing)	180	4.3	Umweltschutz und Arbeitsschutz	264
6.4.1	Zellabtrennung	182	4.4	Produktionsintegrierter Umweltschutz	266
6.4.2	Zellaufschluss	188	4.5	Vermindern von Umweltbelastungen am Beispiel des Rheins	267
6.4.3	Produktanreicherung	190			
6.4.4	Produktreinigung und Produktkonfektionierung	192			
7	Anwendungsschwerpunkte der Biotechnik	198	V	Vertiefungsteil	
7.1	Weißer Biotechnik	198	1	Vertiefung Biologie	268
7.1.1	Biotechnik in der Lebensmittel- und Getränkeindustrie	198	1.1	Proteine und Ernährung	268
7.1.2	Biotechnik in der chemischen Industrie	203	1.2	Enzymklassen	269
7.2	Graue Biotechnik	215	1.3	Enzymkinetik	270
7.2.1	Biologische Bodensanierung	215	1.4	Antikörper	272
7.2.2	Biologische Abluftreinigung	216	1.5	Monoklonale Antikörper	273
7.2.3	Biologische Abwasserreinigung	218	1.6	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	274
7.3	Rote Biotechnik	223	1.7	Aufbau von Pflanzenzellen	276
7.3.1	Biopharmazeutika	223	2	Vertiefung Biotechnik	278
7.3.2	Impfstoffe	228	2.1	Genome-Editing: CRISPR/Cas	278
7.4	Grüne Biotechnik	229	2.2	Nukleinsäureisolierung von genomischer DNA	282
7.4.1	Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion	229	2.3	Vertiefung Sterilisationsverfahren	283
			2.4	Nachweis von Mikroorganismen mit der Agarplatte	286
			2.5	Biotechnischer Produktionsprozess am Beispiel Humaninsulin	288
			3	Vertiefung Ökologie	291
			3.1	Beurteilung von Gewässerbelastungen	291
IV	Ökologie		VI	Überprüfen von Kenntnissen	
1	Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt	232	1	Grundlagen der Biologie	294
1.1	Grundbegriffe der Ökologie	233	2	Mikrobiologie	297
1.2	Abiotische Umweltfaktoren	235	3	Biotechnik	298
1.2.1	Klima	235	4	Ökologie	305
1.2.2	Boden	239	5	Vertiefungsteil	308
1.3	Biotische Umweltfaktoren	240		Sachwortverzeichnis	309
2	Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen	242		Danksagung und Bildquellen	331
2.1	Produzenten, Konsumenten und Destruenten	242			
2.2	Nahrungsketten	243			
2.3	Stoffkreisläufe	244			
2.3.1	Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff	244			
2.3.2	Stickstoffkreislauf	244			
3	Eingriffe des Menschen in Ökosysteme	246			
3.1	Luftbelastungen	246			
3.1.1	Gasförmige Luftschadstoffe (ausgewählte Beispiele)	247			

3 Stoffwechselvorgänge in Zellen

Ein Kennzeichen des Lebens ist der offene Austausch von Stoffen und Energie zwischen den Zellen und ihrer Umgebung. Diese Vorgänge bezeichnet man in ihrer Gesamtheit als Stoffwechsel bzw. **Metabolismus** (Bild 1).

3.1 Stoffwechseldefinition

► **Assimilation.** In allen Zellen werden aus aufgenommenen einfachen Stoffen ständig zelleigene hochkomplexe Biomoleküle synthetisiert (aufgebaut). Das erfordert Energie seitens der Zelle (**endergonische** (nicht freiwillig ablaufende) **Reaktion**) und wird als Assimilation bzw. auch als **Anabolismus** bezeichnet (Seite 37).

► **Dissimilation.** Beim Abbau von organischen Nährstoffen (z.B. Proteine, Kohlenhydrate, Fette) wird Energie freigesetzt (**exergonische** (freiwillig ablaufende) **Reaktion**). Das bezeichnet man als Dissimilation bzw. auch als **Katabolismus** (Seite 37).

► **Heterotrophie** und **Autotrophie.** Alle Lebenserscheinungen sind von der Zufuhr von Energie abhängig. Stammt diese Energie ausschließlich aus der Verwertung organischer Stoffe (z.B. aus pflanzlicher Nahrung, Fleisch, Milch, Verwesungs- und Zersetzungsprodukten), sind die betreffenden Lebewesen heterotroph (fremdernährt). Heterotroph sind **Menschen** und **Tiere**, **Pilze** und die überwiegende Mehrzahl der **Bakterienarten**.

Da **Pflanzen** das Sonnenlicht als Primärenergiequelle nutzen, brauchen sie keine organischen Stoffe zur Ernährung. Pflanzen sind deshalb autotroph (selbsternährt).

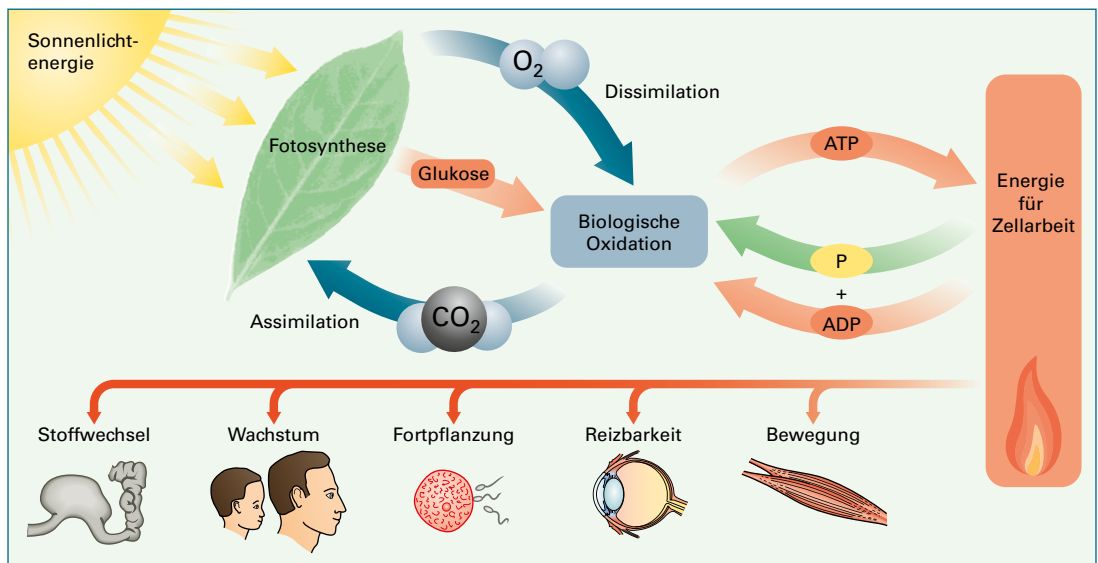


Bild 1: Stoffwechselvorgänge am Beispiel der Energieumsetzungen in Zellen (Schema)

Beispielhaft soll die Beschreibung folgender Stoffwechselvorgänge die Vielfalt der Energie- und Stoffumsetzungen in den Zellen verdeutlichen:

- die Energieübertragung mithilfe der Biomoleküle **ATP** und **ADP**,
- die Nutzung der Sonnenenergie (**Fotosynthese**),
- die Energiegewinnung durch **biologische Oxidation** und **alkoholische Gärung** und
- der Aufbau der Zellproteine nach Anleitung der Erbsubstanz DNA (**Proteinbiosynthese**).

3.2 ATP und ADP

► **ATP (Adenosintriphosphat, Bild 1).** Bei allen Stoffwechselprozessen wird Energie umgesetzt und übertragen. Das dafür wichtigste Biomolekül ist das energiereiche ATP, das in allen Zellen vorkommt und an fast allen Stoffwechselreaktionen unmittelbar beteiligt ist (**Bild 2**).

Der Energiegehalt von ATP rührt von der „inneren Spannung“ her, die das Molekül durch vier benachbarte negative Ladungen in seinem Triphosphatanteil hat. Dadurch kann jederzeit und an jedem Ort in der Zelle die letzte Phosphatgruppe PO_4^{3-} unter Energiefreisetzung enzymatisch leicht abgespalten werden.

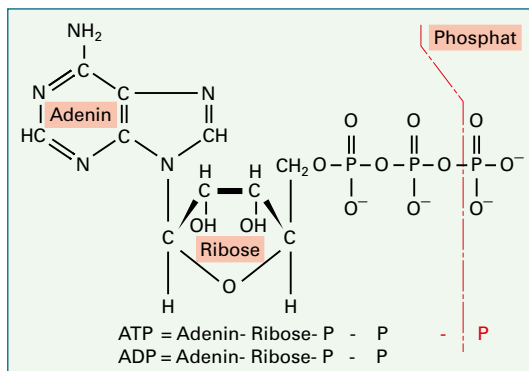
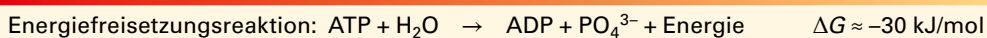


Bild 1: ATP-Molekül



Die freigesetzte Phosphatgruppe kann jetzt an andere Moleküle übertragen werden, was als **Phosphorylierung** bezeichnet wird und diese Stoffe ihrerseits energiereicher und damit reaktionsfähiger macht (**Bild 3**). Dieses Prinzip wird **energetische Kopplung** genannt. Dadurch können von selbst nicht freiwillig ablaufende endergonische Reaktionen auf diesem alternativen, mit einer exergonischen Reaktion gekoppelten Weg ablaufen.

► **Regenerierung von ATP.** Wie ein entladener Akkumulator wird das übrig gebliebene energieärmere **ADP (Adenosindiphosphat)** z.B. in den Mitochondrien bei der Energiegewinnung durch die biologische Oxidation zu ATP regeneriert, indem wieder eine Phosphatgruppe angelagert wird. ATP steht dann „aufgeladen“ erneut zur Verfügung (Seite 40).

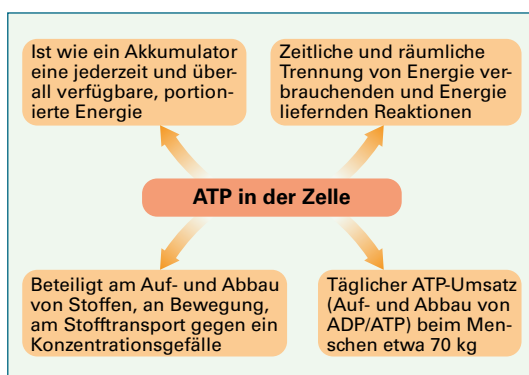


Bild 2: ATP als Energieüberträger in der Zelle

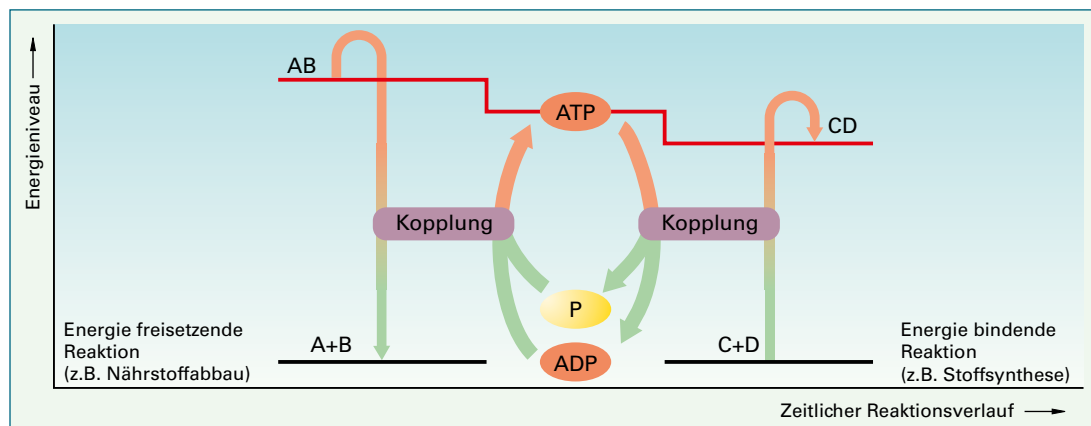


Bild 3: Energieübertragung durch das ATP-ADP-System (Schema)

ATP ist als ein universeller Energieüberträger und Energiespeicher an nahezu allen Stoffwechselreaktionen beteiligt.

3.6 Proteinbiosynthese

Die Synthese von Proteinen in der Zelle steht unter der Kontrolle der DNA mit ihren Genen und wird in den beiden Schritten **Transkription** und **Translation** umgesetzt.

► **Gen und Genom.** Verschlüsselt mit dem genetischen Code informiert die DNA über die Aminosäuresequenzen aller Proteine (Seite 9). Dabei wird jeder DNA-Abschnitt, der Informationen für die Bildung eines oder mehrerer Proteine (sowie die verschiedenen RNA-Moleküle (Seite 16)) kodiert und von einer Ablesestartregion (**Promotor**) und einer Ablesenderegion (**Terminator**) begrenzt wird, als **Gen** bezeichnet (**Bild 1, nachfolgende Seite**).

Alle Gene eines Lebewesens bilden zusammen das **Genom**. So umfasst das menschliche Genom etwa 22000 Gene für die am Aufbau und der Funktion des Körpers beteiligten Proteine.

► **Genetischer Code.** Da Proteine in ihren Ketten 20 verschiedene Aminosäuren enthalten, sind zu ihrer Verschlüsselung auch 20 informatische Einheiten der DNA notwendig. Die DNA verfügt aber nur über die vier verschiedenen Nukleotide mit den Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin, abgekürzt A, T, C und G. Deshalb sind jeweils **drei benachbarte Nukleotide** auf einem DNA-Strang als sogenanntes Triplet bzw. **Codon** zu informatischen Einheiten zusammengefasst und kodieren jeweils für eine Aminosäure.

Die Zuordnung der Codons zu den Aminosäuren zeigt **Bild 1**. Vereinbarungsgemäß bezieht sich der genetische Code auf die RNA, die in Form der mRNA als DNA-Abschrift für die Proteinbiosynthese zuständig ist. Die RNA unterscheidet sich von der DNA vor allem durch die Ersetzung der Base Thymin durch die funktionell gleichwertige Base Uracil, abgekürzt mit U.

1. Position (5'-Ende)	2. Position (Mitte)				3. Position (3'-Ende)
	U	C	A	G	
U	Phe F	Ser S	Tyr Y	Cys C	U
	Phe F	Ser S	Tyr Y	Cys C	C
	Leu L	Ser S	STOPP	STOPP	A
	Leu L	Ser S	STOPP	Trp W	G
C	Leu L	Pro P	His H	Arg R	U
	Leu L	Pro P	His H	Arg R	C
	Leu L	Pro P	Gln Q	Arg R	A
	Leu L	Pro P	Gln Q	Arg R	G
A	Ile I	Thr T	Asn N	Ser S	U
	Ile I	Thr T	Asn N	Ser S	C
	Ile I	Thr T	Lys K	Arg R	A
	Met M/ Start	Thr T	Lys K	Arg R	G
G	Val V	Ala A	Asp D	Gly G	U
	Val V	Ala A	Asp D	Gly G	C
	Val V	Ala A	Glu E	Gly G	A
	Val V	Ala A	Glu E	Gly G	G

Bild 1: Genetischer Code (zu den Abkürzungen der Aminosäuren siehe Seite 10)

Im genetischen Code gemäß Bild 1 steht z. B. das Codon UUU für die Aminosäure Phenylalanin, AAG für Lysin. Da aus A, U, C und G nach den Gesetzen der Kombinatorik $4^3 = 64$ verschiedene Codons gebildet werden können, existieren für zahlreiche Aminosäuren mehrere Codons. Zusätzlich signalisiert AUG als **Startcodon** den Anfang eines Gens und ein entsprechendes **Stoppcodon** wie UAA das Ende.

Alle Lebewesen benutzen den gleichen genetischen Code, was als **Universalität des genetischen Code** bezeichnet wird. So können Viren in andere Zellen eindringen, ihre Gene in die DNA der befallenen Zelle einschleusen und sie zwingen, neue Viren zu bilden. Auch die **Gentechnik** nutzt die Tatsache, dass der genetische Code universell ist. So kann man beispielsweise Gene des Menschen auf Bakterien übertragen und sie so veranlassen, menschliche Proteine zu produzieren (Seite 82).

► **Transkription.** Die Biosynthese von Proteinen beginnt damit, dass von den entsprechenden Genen auf der DNA Genkopien in Form einer **Boten-RNA** (mRNA, von engl. messenger = Bote) angefertigt werden (**Bild 1, nachfolgende Seite**). Diese Informationsübertragung von DNA auf die mRNA (Transkription) ist vorteilhaft, weil Genkopien als relativ kleine Moleküle leicht aus dem schützenden Zellkern zu den Ribosomen im Zellplasma transportiert werden können. Außerdem können von einem Gen Hunderte von Kopien hergestellt werden, die nach Beendigung ihrer Aufgabe wieder zerstört werden. Diese Möglichkeit einer Genregulation ist für den Stoffwechsel unverzichtbar.

Zur Biosynthese eines bestimmten Proteins wird zunächst durch das Enzym RNA-Polymerase derjenige Bereich der DNA-Doppelhelix geöffnet, der das gewünschte Gen enthält. An die dann freiliegenden

Nukleotide eines der beiden, des sogenannten **Matrizenstrangs**, lagern sich nach dem Prinzip der Basenpaarung die entsprechenden komplementären RNA-Nukleotide an und werden durch die RNA-Polymerase zum einsträngigen mRNA-Molekül verbunden, das sich dann vom Matrizenstrang löst, um zu den Ribosomen zu gelangen. Das geschieht bei Bakterien (Prokaryoten) mit frei in der Zelle liegender DNA direkt und die Transkription ist damit beendet, denn Bakteriengene besitzen zwischen Promotor und Terminator nur lückenlos angeordnete Codons.

Bei Pflanzen, Tier und Mensch (Eukaryoten) wird die mRNA zunächst noch bearbeitet, da zahlreiche Gene je nach Gengröße aus unterschiedlich vielen Abschnitten, den sogenannten **Exons** und **Introns** bestehen. Exons enthalten die Codons für die Aminosäuren, während Introns **nicht** Aminosäuren kodierende Nukleotide enthalten. Durch spezielle Enzyme werden beim sogenannten Spleißen die Introns entfernt und die verbleibenden Exons zur funktionsfähigen mRNA verknüpft, die dann aus dem Zellkern durch Kernmembranporen in das Zellplasma gelangt (**Bild 1**).

► **Translation (Bild 2)**. An den Ribosomen werden bei der sogenannten Translation die Aminosäureketten der Proteine synthetisiert. Die Aminosäuren stammen aus den Nahrungsproteinen und werden dazu an spezielle Transport-RNA-Moleküle (tRNA, engl. transfer = Transport) gebunden und ebenfalls zu den Ribosomen transportiert.

Entsprechend den Codons des genetischen Codes gibt es die dazugehörigen tRNA-Moleküle mit jeweils einer Region aus drei freiliegenden Basen als **Anticodon**, welche die entsprechenden Codons der mRNA als Partner erkennen. An einer zweiten Region der tRNA ist die dem Codon entsprechende Aminosäure gebunden.

Die Translation startet mit dem Startcodon AUG (Methionin). Bei der Proteinbiosynthese bewegen sich nun die Ribosomen an der mRNA schrittweise entlang. Bei jedem Schritt wird diejenige tRNA mit ihrer angehängten Aminosäure kurz gebunden, die das passende Anticodon zum Codon der mRNA besitzt. Die Aminosäure löst sich dann von der tRNA und verbindet sich mit der bereits vorhandenen Aminosäurekette. Diese Schritte werden so oft wiederholt, bis ein Stoppcodon das Ende der Translation signalisiert. Alle Aminosäuren befinden sich damit an der vom Gen vorgegebenen Position und die Aminosäurekette löst sich vom Ribosom. Nach der Faltung in die entsprechende Raumstruktur ist das synthetisierte Protein funktionsfähig, z. B. als Enzym, Hormon, Antikörper, Muskelprotein oder Milchprotein (Seite 9).

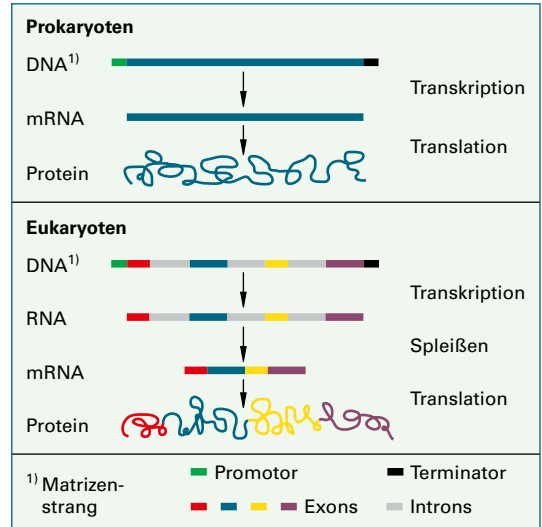


Bild 1: Aufbau von Genen

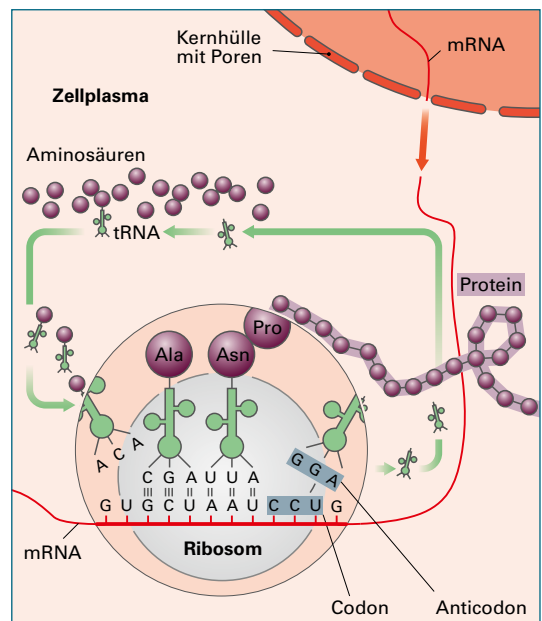


Bild 2: Ablauf der Proteinbiosynthese (Schema)

Gene informieren über die Aminosäuresequenzen (den Aufbau) der Proteine.

2 Biotechnisch wichtige Mikroorganismen und Zellen

In der biotechnischer Forschung, Entwicklung und Produktion wird nach wie vor vorteilhaft mit **Mikroorganismen** gearbeitet, weil sie in der Handhabung vergleichsweise einfach sind. Die Kultivierung von **Zellen pflanzlicher, tierischer oder menschlicher Herkunft** in Zellkulturen außerhalb des Organismus in einem Nährmedium in Bioreaktoren ist dagegen wesentlich komplexer und stellt erhöhte Anforderungen hinsichtlich der Bioprozesstechnik. Sie ist aber vor allem in der roten Biotechnik für die Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen unverzichtbar.

2.1 Produktionsorganismen in der Biotechnik

► **Produktionsmikroorganismen.** Obwohl die Zahl der Mikroorganismenarten (Bakterien, Archaeen, Pilze und Protisten) nach Schätzungen bis zu mehreren Millionen Arten geht, werden kaum mehr als 100 Mikroorganismenarten für die biotechnische Produktion verwendet (**Tabelle 1**). Das hängt u. a. damit zusammen, dass möglichst nur solche Mikroorganismen eingesetzt werden, die den Status **„Generell als sicher angesehen“** besitzen. Das bedeutet: Sie sind ungiftig, keine Krankheitserreger und bilden keine Antibiotika.

Viele Produktionsmikroorganismen sind mit gentechnischen Methoden gezielt so verändert, dass sie die gewünschten Bioprozesse höchst effektiv durchführen.

Als **GVO** (gentechnisch veränderter Organismus) oder auch umgangssprachlich als **„Designer Bug“** bezeichnet, erhöhen sie beispielsweise die Produktivität von Herstellungsverfahren der industriellen Biotechnik, wie das Beispiel des Vitamin B₂ produzierenden Bodenbakteriums *Bacillus subtilis* zeigt: Durch gezielte Genveränderungen wurde *Bacillus subtilis* so optimiert, dass der GVO-Produktionsstamm etwa 300 000-mal mehr Vitamin B₂ produziert als das ursprüngliche Bakterium.

GVOs ermöglichen auch die Herstellung **rekombinanter Proteine**. Rekombinant bedeutet, dass die Gene für diese Proteine mit gentechnischen Methoden in die Produktionsorganismen eingebaut wurden, sodass sie Proteine herstellen können, die sie von Natur aus nicht kennen (Seite 83). So werden mehr als 80 % der technischen Enzyme und 100 % des menschlichen Insulins (Humaninsulin) als rekombinante Proteine durch GVOs biotechnisch produziert.

► **Zellkulturen (Tabelle 1, folgende Seite).** Für die Produktion von menschlichen rekombinanten Proteinen als biopharmazeutische Wirkstoffe (Biopharmazeutika, engl. Biologics), wie Hormone, Enzyme, Blutgerinnungsfaktoren, Antikörper oder Impfstoffe, werden in erster Linie **tierische Zellkulturen** mit **Säugerzelllinien** verwendet. Nur diese Zellen sind in der Lage, die synthetisierten Proteine anschließend zu verändern, z. B. mit Kohlenhydratanhängen zu versehen (Glykosylierung), wie es bei vielen menschlichen Proteinen (Glykoproteine) zur vollen Funktion erforderlich ist.

Tabelle 1: Ausgewählte Produktionsmikroorganismen

Organismen	Produktbeispiele
Bakterien	
<i>Bacillus subtilis</i> *	Vitamin B ₂ , technische Enzyme
<i>Bacillus coagulans</i> *	Enzym: Glukose-Isomerase
<i>Bacillus licheniformis</i> *	technische Enzyme: Protease, Amylase
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	Bt-Toxin (biologisches Schädlingsbekämpfungsmittel)
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Lösemittel: Butanol, Aceton
<i>Corynebacterium glutamicum</i> *	Aminosäuren: Glutaminsäure, Lysin
<i>Escherichia coli</i> *	menschliches Insulin, therapeutische Enzyme
<i>Lactobacillus casei</i>	Milchsäure
<i>Pseudomonas putida</i> *	Aspartase für Süßstoff Aspartam
<i>Xanthomonas campestris</i> *	Xanthan (hochviskoses Polysaccharid für die Lebensmittelindustrie und Erdölförderung)
<i>Zymomonas mobilis</i>	Ethanol
Hefen und Schimmelpilze	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> *	Backhefe, Ethanol, rekombinante Proteine
<i>Pichia pastoris</i> *	rekombinante Proteine
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Antibiotika: Penicillin
<i>Aspergillus niger</i> *	Zitronensäure, mikrobielles „Labenzym“
* auch als GVO verwendet	

Zellkulturen mit **Insektenzellen** werden für Spezialanwendungen eingesetzt. So z. B. für die Impfstoffproduktion gegen den durch Viren verursachten Gebärmutterhalskrebs.

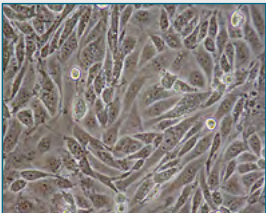
Pflanzenzellkulturen können ebenfalls für die Produktion von rekombinanten Proteinen und Enzymen verwendet werden, erreichen aber im industriellen Einsatz noch nicht die erforderliche Produktivität.

Die **Produktion von Biopharmazeutika** durch gentechnisch veränderte Mikroorganismen und Zellen stellt die höchsten Ansprüche an biotechnische Herstellungsverfahren. Daher werden die wichtigsten Produktionsorganismen für diesen Bereich kurz charakterisiert (**Tabelle 2**):

Tabelle 1: Beispiele für Zellkulturen

Zellkulturlinie	Erklärung
CHO-Zelllinie	Säugerzelllinie aus dem Eierstock (Ovar) des chinesischen Hamsters (Chinese hamster ovary)
BHK-Zelllinie	Säugerzelllinie aus Nierengewebe des syrischen Hamsters (Baby hamster kidney)
MDCK-Zelllinie	Säugerzelllinie aus Nierengewebe des Hundes (Madin-Darby canine kidney)
Sf-9-Zelllinie	Insektenzelllinie aus dem Eierstock einer Nachtfalterart
Nicotiana tabacum BY-2	Pflanzenzelllinie aus der Tabakpflanze

Tabelle 2: Standardzellen zur Produktion von Biopharmazeutika in Bioreaktoren

Produktionsorganismus	Eigenschaften
<i>Escherichia coli</i> (Bakterium) 	■ nicht krankheitserregende Sicherheitsstämme verfügbar, z. B. <i>E. coli</i> K12 ■ schnelles Wachstum im Bioreaktor ■ preiswerte Nährmedien ■ relativ unkomplizierte Produktionsprozesse ■ hohe mechanische Belastbarkeit ■ vergleichsweise nur einfach gebaute Proteine produzierbar ■ kein Anhängen von Kohlenhydratketten an Proteine (Glykosylierung) ■ produzierte Proteine bleiben in der Zelle, häufig als unlösliche Einschlusskörperchen (inclusion bodies); kann evtl. die Produktisolierung erleichtern) ■ Endotoxine Wichtige Produkte: Hormone (Humaninsuline, Insulinanaloga, Somatotropin), Signalstoffe (Zytokine) wie α-Interferon, Blutgerinnungslösende Wirkstoffe (Fibrinolytika)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Hefe) 	■ generell nicht krankheitserregend ■ schnelles Wachstum im Bioreaktor (aber langsamer im Vergleich zu <i>E. coli</i>) ■ relativ preiswerte Nährmedien, relativ unkomplizierte Produktionsprozesse ■ hohe mechanische Belastbarkeit ■ vergleichsweise nur einfach gebaute Proteine produzierbar ■ Anhängen von Kohlenhydratketten an Proteine möglich, aber nicht identisch mit Säugerzellen. Daher sind Immunreaktionen möglich ■ produzierte rekombinante Proteine werden aus der Zelle ausgeschleust; keine Bildung von Einschlusskörperchen ■ keine Endotoxine Wichtige Produkte: Humaninsulin, Hemmstoffe der Blutgerinnung (Antikoagulantien), Impfstoffe
CHO-Zellen (Säugerzellen) 	■ frei von Viren und Krebsgenen (Onkogenen) ■ langsames Wachstum im Bioreaktor ■ teure Nährmedien ■ aufwendige und teure Produktionsprozesse ■ sehr geringe mechanische Belastbarkeit ■ Anhängen von Kohlenhydratketten an Proteine, ähnlich wie beim Menschen ■ korrekte Faltung von Proteinen ■ sehr große und komplizierte Proteine produzierbar ■ produzierte rekombinante Proteine werden aus der Zelle ausgeschleust; keine Bildung von Einschlusskörperchen Wichtige Produkte: Blutgerinnungsfaktoren VIII und IX, Blutgerinnungslösende Wirkstoffe (Fibrinolytika), Mittel gegen Blutarmut wie Erythropoietin (EPO), monoklonale Antikörper

2.2.4 Polymerasekettenreaktion PCR

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die Isolierung und die anschließende Detektion von Nukleinsäuren, hauptsächlich von doppelsträngiger DNA, erläutert. Dabei wurde davon ausgegangen, dass stets genügend Zellen vorhanden sind, um die isolierte DNA-Menge z. B. auf einem Agarosegel detektieren zu können.

Abhängig vom verwendeten Farbstoff liegt die Detektionsgrenze auf einem Agarosegel bei ungefähr 20 pg pro Bande. Ein Basenpaar hat die Masse $m = 1,1 \cdot 10^{-21}$ g ($M = 660$ g/mol). Das bedeutet: Die DNA eines Gens von 1000 bp Länge hat die Masse $m = 1,1 \cdot 10^{-18}$ g. Somit enthält eine Bande von 20 pg dieses Gens ca. 18 Mio. Moleküle.

Es sind nicht immer so viele Zellen vorhanden, um die erforderliche Nukleinsäuremasse zu gewinnen. Das ist beispielsweise in der Kriminalistik problematisch, wo häufig aus einem Blutfleck oder einer Speichelprobe DNA und damit genetische Informationen für eine Täterüberführung gewonnen werden sollen.

Es existiert aber eine Methode, die der Vervielfältigung geringer DNA-Mengen dient, damit beispielsweise die Detektionsgrenze auf einem Agarosegel überschritten wird.

► **PCR (Bild 1).** Die Methode der Wahl zur Vervielfältigung geringer DNA-Mengen ist die PCR (engl. Polymerase Chain Reaction) und wurde 1985 von *Kary Mullis* entwickelt.

Das Prinzip der PCR beruht auf dem Replikationsmechanismus der DNA, wie er bei jeder Zellteilung vorkommt, um die DNA des jeweiligen Organismus zu kopieren und damit zu verdoppeln (Seite 14). Das Besondere der PCR ist, dass sie organismusunabhängig, also im Reagenzglas (*in vitro*) durchgeführt werden kann.

Für die PCR ist zunächst die Kopiervorlage (**Template, Matrice**) erforderlich, also mindestens ein doppelsträngiges DNA-Molekül (dsDNA), das aus der zu untersuchenden Probe stammt und vervielfältigt werden soll. Von dieser DNA müssen zumindest die Enden in ihrer Basenabfolge bekannt sein, denn diese werden als sogenannte **Primer** (chemisch synthetisierte, einzelsträngige DNA-Moleküle) dem Reaktionsansatz zugegeben. Weiterhin sind die vier DNA-Nukleotide dATP, dCTP, dGTP und dTTP nötig und das Enzym DNA-Polymerase, das die Synthese der DNA katalysiert. Für die PCR ist dazu ein besonders hitzestabiles Enzym wie die *Taq*-DNA-Polymerase erforderlich. Sie wurde erstmals aus dem Bakterium *Thermus aquaticus* isoliert, das in heißen Quellen vorkommt (**Bild 2**).

► **Ablauf der PCR.** Die PCR ist eine zyklische Abfolge von drei Reaktionsschritten: **Denaturierung**, **Annealing** und **Synthese**, die automatisiert in einer PCR-Maschine (Thermocycler) durchgeführt werden (**Bild 2, nachfolgende Seite**). Eine gesamte PCR-Reaktion umfasst dann in häufiger Wiederholung, z. B. 25-mal diese drei Reaktionsschritte, man spricht von 25 Zyklen.

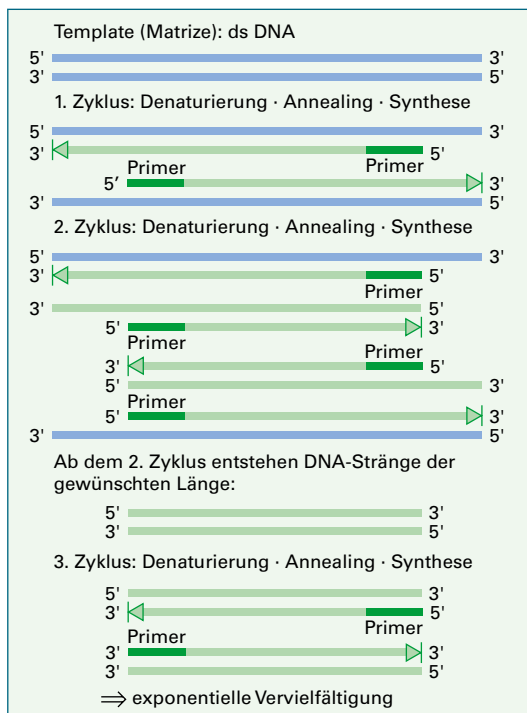


Bild 1: Polymerasekettenreaktion PCR

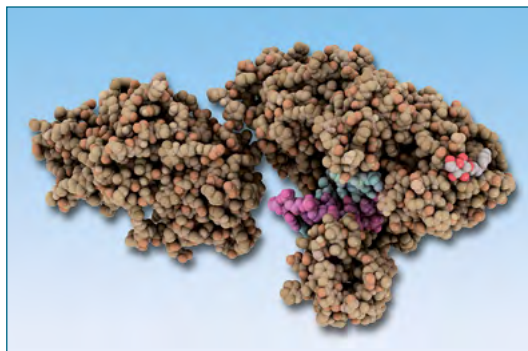


Bild 2: Modell der *Taq*-DNA-Polymerase