

Rolf D. Schmid

# Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik

Dritte Auflage

mit 171 Farbtafeln von Ruth Hammelehle



# Vorwort zur 1. Auflage

Die Biotechnologie, eine der Schlüsseltechnologien des 21. Jahrhunderts, ist in besonderem Maße interdisziplinär. Je nach Aufgabenstellung erfordert sie Wissen aus der allgemeinen Biologie, der Molekulargenetik und der Zellbiologie, der Humangenetik und der molekularen Medizin, der Virologie, Mikrobiologie und Biochemie, der Enzymtechnologie, der Bioverfahrenstechnik und der Kybernetik; dazu in immer stärkerem Maße auch umfangreiche Computer-Kenntnisse, vor allem für die Bioinformatik und die Systembiologie. Vor diesem Hintergrund nimmt es nicht wunder, dass es so gut wie keine kurz gefassten Lehrbücher gibt, die das gesamte Gebiet abdecken. Selbst vielbändige Monographien lassen meist wichtige Teilgebiete wie Tier- und Pflanzenzucht oder Bioinformatik außer acht.

Andererseits habe ich selbst als lebenslang Lernender und über viele Jahre hinweg auch bei meinen Studenten erlebt, wie anregend und motivierend der Blick aufs Ganze sein kann, gerade wenn das Studium die Aufnahme Tausender anscheinend zusammenhangloser Einzelheiten erfordert.

Mit dem Taschenatlas Biotechnologie/Gentechnik liegt nun ein kleines Handbuch vor, das eine Lösung für dieses Dilemma sucht. Die verschiedenen Themen dieses Buches, die von „Bier“ und „Ethanol“ über „Rekombinante Vakzine“ bis zu „Humangenom“ und „Proteomics“ reichen, lassen sich zwar fast nicht auf einer einzigen Text- und Bildseite zutreffend darstellen; schließlich findet man für jedes dieser Einzelthemen ganze Monographien, Buchkapitel und Hunderte von wissenschaftlichen Veröffentlichungen (einige davon werden jeweils im Literaturverzeichnis zitiert). Andererseits ist gerade der Zwang zur knappen

Darstellung die rechte Herausforderung, die wesentlichen Gesichtspunkte jedes Einzelthemas herauszuarbeiten und in einen größeren Zusammenhang zu stellen.

Ich hoffe, dass mir dies wenigstens teilweise gelungen ist und dass ich dem Leser hier und dort den roten Faden in die Hand geben kann, der ihn aus dem Labyrinth einer von Anglizismen geprägten Kunstsprache wieder sicher in den Alltag einer zwar anspruchsvollen, aber durchaus zugänglichen und faszinierenden Wissenschaft herausführt. Sollte dies gelingen, so wäre es auch das Verdienst von Ruth Hammelehle, die mit großem Gespür für den logischen Aufbau von Schemazeichnungen (und für deren Ästhetik) dem knappen Text eine zweite Dimension verliehen hat. Auch den am Entstehen dieses Buchs beteiligten Redakteurinnen Barbara Frunder, Ute Rohlf und Karin Dembowsky, möchte ich herzlich für ihre Sorgfalt und ihre Kommentare danken.

Mein besonderer Dank gilt den zahlreichen Kollegen, die einzelne Themen oder Abschnitte des Buchs kritisch durchgesehen und durch Anregungen und Kommentare ganz entscheidend verbessert haben. Dies waren: Max Roehr, Wien; Frank Emde, Bonn; Maria-Regina Kula und Hermann Sahm, Jülich; An-Ping Zeng, Braunschweig; Volker Kasche, Hamburg-Harburg; Peter Dürre, Ulm; Ulf Stahl, Edeltraud Mast-Gerlach und Dietrich Knorr, Berlin; Udo Graefe, Jena; Günter Schmidt-Kastner, Wuppertal; Karl-Heinz Maurer, Düsseldorf; Wolfgang Barz und Alexander Steinbüchel, Münster; Frieder Scheller, Potsdam; Bertold Hock und Wolfgang Ludwig, Weihenstephan; Reinhard Krämer, Köln; Thomas von Schell, Hans-Joachim Knackmuss, Karl-Heinrich Engesser, Jörg Metzger, Peter Scheurich, Ulrich Eisel, Matthias Reuss, Peter Stadler, Klaus Mauch, Christoph Syldatk, Michael Thumm und Joseph Altenbuchner, Stuttgart; Helmut Geldermann, Rolf Claus, Gerd Weber und Rolf

Blaich, Stuttgart-Hohenheim; Helmut Uhlig, Breisach; Joachim Siedel, Claus Wallerius, Anton Haselbeck und Ulrich Behrendt, Penzberg; Wolfgang Wohlleben und Claus Schuldt, Tübingen; Rolf Werner, Biberach; Wieland Wolf und Andreas Lorenz, Laupheim; Frank-Andreas Gunkel, Wuppertal; Michael Bröker, Marburg; Bernhard Hauer, Wolfgang Pressler und Dieter Jahn, Ludwigshafen; Dieter Man-gold und Julia Schueler, Mannheim; Frank Zocher und Paul Habermann, Hoechst; Tilmann Spellig, Bergkamen; Dieter Oesterhelt, Friedrich Lottspeich und Bernd Gänsbacher, München. Unter den vielen Mitarbeitern meines Instituts, die mir geduldig auf zahllose Fragen antworteten, möchte ich stellvertretend Jutta Schmitt, Isabelle Kaufmann, Markus Enzelberger, Till Bachmann und Jürgen Pleiss danken.

Es wäre ein Wunder, wenn trotz dieser vielfältigen Hilfe nicht Unklarheiten und Fehler geblieben wären. Um diese in Zukunft auszumerzen, bitte ich meine geneigten Leser, mir Unklarheiten oder Fehler unter der Web-Adresse meines Instituts, [www.itb.uni-stuttgart.de/taschenatlas](http://www.itb.uni-stuttgart.de/taschenatlas) mitzuteilen, um das Buch ständig verbessern zu können.

Rolf D. Schmid Stuttgart, Dezember 2001

## Vorwort zur 2. Auflage

In den 5 Jahren, seit die 1. Auflage dieses kleinen Buchs erschien, haben sich Biotechnologie und Gentechnik stürmisch weiterentwickelt. Abzulesen ist dies zum einen an der gesteigerten Mengenprodukten fast aller traditionellen Fermentationsprodukte. So verdoppelte sich beispielsweise die Jahresproduktion von L-Glutamat in nur 5 Jahren auf ca. 1,5 Millionen to, was auf veränderte Ernährungsgewohnheiten, aber auch auf den Eintritt Chinas in die Weltwirtschaft hinweist. Zum anderen hat sich die Entschlüsselung von Genomsequenzen fortgesetzt. Unser Wissen um ihren Aufbau beruht heute auf der Sequenzinformation von mehr als einem Dutzend Pflanzen und Tieren und hunderten von Mikroorganismen. Die funktionelle Analyse von Genomen hat zu grundlegend neuen Erkenntnissen geführt, beispielsweise zur Aufklärung der Rolle von *small interfering RNAs* (siRNA); in Verbindung mit *Proteomics* und *Metabolomics* hat sie eine ganzheitliche Analyse der Lebensvorgänge mit Hilfe der Systembiologie ausgelöst. Und sollte die Vorhersage einer individuellen Genomanalyse zum Preis von etwa 1500 € eintreffen (und bis dahin um grundlegende kausale Kenntnisse für Erkrankungsursachen, Altersvorgänge und Stoffwechselstörungen erweitert werden können), so wäre der Weg für eine personenbezogene Diagnose, Therapie und Ernährungsberatung offen.

In der industriellen Biotechnologie haben die in den letzten Jahren dramatisch gestiegenen Erdölpreise und die mit der Industrialisierung des Planeten einhergehende Erwärmung der Atmosphäre in Industrie und Wissenschaft das Gefühl verstärkt, dass zum Erhalt des „Raumschiffs Erde“ neue, nachhaltige Technologien zur Energie-Erzeugung und zur

Versorgung mit Grundchemikalien entwickelt werden müssen. Bioethanol und Biodiesel als Treibstoffe, die vergleichende Bewertung von Prozessen der Chemie-Produktion mittels Ökobilanzen und der Bau der ersten „Bioraffinerien“, in denen Chemieprodukte aus nachwachsenden Rohstoffen erzeugt werden, geben klare Signale für das große Entwicklungspotenzial der „weißen Biotechnologie“.

Neben einer grundlegenden Überarbeitung aller Einträge enthält die 2. Auflage dieses Buchs deshalb auch 4 neue Stichworte: Tissue Engineering, RNA, Systembiologie und „Weiße Biotechnologie“.

Mein Dank für sehr wertvolle Informationen aus der biotechnologischen Industrieforschung gilt den Herren Waander Riethorst (Sandoz), Bernhard Hauer und Uwe Pressler (BASF), Andreas Leuchtenberger (Degussa) und Karlheinz Maurer (Henkel). Für aktuelle Informationen aus der akademischen Forschung danke ich besonders Frau Susanne Grabley (Jena), Frau Sibylle Thude (Stuttgart) und den Herren Wolfgang Wohlleben (Tübingen), Matthias Reuss, Klaus Pfizenmaier und Klaus Mauch (Stuttgart).

Mein Dank geht auch erneut an Frau Ruth Hammelehle und Herrn Bernhard Walter von der Firma epline, Kirchheim/Teck, für die ausgezeichnete grafische und drucktechnische Gestaltung sowie an Frau Dr. Romy Kirsten für die hervorragende verlagsseitige Betreuung.

Rolf D. Schmid Stuttgart im Herbst 2005

## Vorwort zur 3. Auflage

In den 14 Jahren seit der 1. Auflage dieses Bands hat sich die Entwicklung der Biotechnologie weiter beschleunigt. Das gilt sowohl für die Wissenschaft, die mit neuen Methoden zur „synthetischen Biologie“, zum Editieren ganzer Genome oder mit *big data* aus der Massensequenzierung von Genomen die belebte Welt immer genauer erschließt, wie auch für industrielle Anwendungen – im Pharma-Bereich stehen dafür immer zahlreichere Beispiele für therapeutische Antikörper, für *companion diagnostics*, also Bausteine einer individualisierten Medizin und für aus induzierten Stammzellen regenerierte Körperzellen, im technisch-industriellen Bereich der Megatrend zu einer Bioökonomie auf Basis nachwachsender Rohstoffe.

Eine grundlegende Überarbeitung aller Einträge wird in der dritten Auflage begleitet von einer Neugliederung: die grundlegenden Disziplinen der Biotechnologie, Mikrobiologie, Biochemie, Molekulargenetik, Zellbiologie und Bioverfahrenstechnik, werden nun in einer Einleitung dargestellt – darüber hinaus werden zahlreiche neue Trends wie Algentechnologie, Epigenetik, Metagenomics, oder Glykobiologie in eigenen Einträgen behandelt. Unter „Megatrends“ finden sich nun genauere Beschreibungen der Hochdurchsatz-Sequenzierung und der „synthetischen Biologie“, aber auch Beispiele für eine individualisierte Medizin oder die Bedeutung der Kohlenstoffquellen für die Bioökonomie.

Es versteht sich von selbst, daß die kurze Form eines Taschenatlas derartige Themen nur anreißen kann. Ich habe versucht, dieses Defizit durch aktuelle Hinweise auf weiterführende Literatur auszugleichen.

Mein herzlicher Dank gilt erneut meinen Kollegen und Freunden, die mich bei der Ausarbeitung der einzelnen Kapitel beraten haben. Ergänzend zu meiner Danksagung im Vorwort der 1. und 2. Auflage möchte ich hier nennen: Wolfgang Wohlleben, Universität Tübingen; Karin Benz, NMI Reutlingen; Ulrike Konrad, Protagen; Karl Maurer, ABEnzymes, Darmstadt; Bernhard Hauer, Georg Sprenger und Jürgen Pleiss, Universität Stuttgart; Ulrich Behrendt, München; Dirk Weuster-Botz, Universität München; Jörn Kalinowsky, Universität Bielefeld; Vlada Urlacher, Universität Düsseldorf und Frieder Scheller, Universität Potsdam.

Mein Dank geht erneut an Frau Ruth Hammelehle und Herrn Bernhard Walter von der Firma epline, Kirchheim/Teck, für die ausgezeichnete grafische und drucktechnische Gestaltung, sowie an Herrn Dr. Cicchetti, Herrn Dr. Sendtko und Frau Dr. Ley für die hervorragende verlagsseitige Betreuung. Frau Dr. Alexandra Prowald danke ich für die Erstellung eines ausgezeichneten Index.

Rolf D. Schmid Stuttgart, im Herbst 2015



# Einführung

Dieser Taschenatlas wendet sich an Studierende der Biologie, Biochemie und Bioverfahrenstechnik, die einen Einstieg in die vielen Arbeitsgebiete der modernen Biotechnologie suchen. Es soll aber auch Pädagogen, Patentanwälten, Managern und Investoren ermöglichen, sich schnell ein aktuelles Bild zu machen über ein gerade interessierendes Thema der industriellen Biotechnologie und ihrer wissenschaftlichen Grundlagen. Auf 171 Farbtafeln wird dazu Wissen aus zahlreichen Einzeldisziplinen angeboten, auf der dazugehörigen Textseite erläutert und mit einem umfangreichen Literaturverzeichnis ergänzt. Viele Seitenangaben in den Texten erlauben es zudem, Grundlagenwissen und Anwendungsgebiete besser miteinander zu verbinden.

Diese grundlegend überarbeitete und um viele neue Themen ergänzte 3. Auflage ist noch immer modular aufgebaut, aber anders gegliedert. Nach einem kurzen **historischen Überblick** beginnt das Buch nun mit knappen Abrissen der Grundlagen der modernen Biotechnologie: **Mikrobiologie, Biochemie, Molekulargenetik, Zellbiologie und Bioverfahrenstechnik**. Im zweiten Teil des Buchs folgen dann Übersichten zu den vielfältigen Anwendungen der Biotechnologie bei **Lebensmitteln** und **Lebensmittelzusatzstoffen**, bei **Industrieprodukten**, bei der **Enzymtechnologie** sowie, besonders umfangreich, auf vielen Gebieten der Medizin, z. B. bei der Herstellung von **Antibiotika**, anderen **Medikamenten**, aber auch in der **Medizintechnik**. Abgeschlossen wird dieser zweite Teil mit vielen Beispielen für die Anwendung der Biotechnologie in der **Landwirtschaft** und beim Schutz der

**Umwelt.** Ein dritter Teil des Buchs behandelt die großen aktuellen **Megatrends** der Biotechnologie: dazu gehören **Genomanalysen** und die Methoden der **Bioinformatik** zur Beherrschung von "big data" ebenso wie die großen Fortschritte bei der **Zelltechnologie** und **Gentherapie**, aber auch die Fortschritte hin zu einer „**Bioökonomie**“, die eines Tages das Erdöl-Zeitalter ablösen wird. Den Abschluss des Buchs bilden fünf Seiten zu den Themen **Sicherheit und Ethik**, die sich u. a. mit Patent- und Zulassungsfragen beschäftigen.

Ich hoffe, dass es gelungen ist, die wichtigsten Grundlagen, Ergebnisse und Trends dieser sich so schnell entwickelnden Querschnitts-Technologie auf wenig Raum zusammenzufassen und dem Leser/der Leserin nicht nur eine ansprechende und stimulierende Lektüre zu bieten, sondern ihn oder sie zu vertieften Studien anzuregen.

# Einleitung

## Frühe Entwicklungen

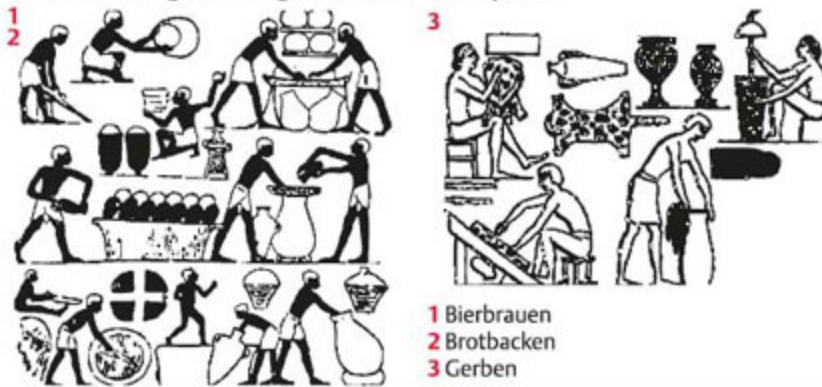
**Geschichte.** Die Ursprünge dessen, was wir heute Biotechnologie nennen, reichen in die Vorgeschichte zurück. Vermutlich standen am Anfang Erfahrungen um den Verlust von Nahrungsmitteln durch mikrobiellen Verderb und um deren Konservierung durch Trocknen, Salzen oder Zuckern, wahrscheinlich auch der „heilige Rausch“ nach dem Genuss vergorener Getränke. Wie frühgeschichtliche Dokumente belegen, entstanden mit der Entwicklung arbeitsteiliger Stadtkulturen erste Verfahrensvorschriften, in Europa zur Herstellung von Brot, Bier, Wein und Käse und zum Gerben von Haut zu Leder, in Asien zur Gewinnung von Essig, Reiswein und fermentierter Lebensmittel wie Sauerkraut (China), Kimchi (Korea) oder Gari (Indonesien). Im Abendland waren es die Klöster mit ihrer guten Infrastruktur, die seit dem 6. Jahrhundert die Kunst des Brauens, Kelterns und Backens weiterentwickelten. Der Devise *Liquida non fragunt ieiunium* („Flüssiges bricht nicht das Fastengebot“) verdanken wir die kräftigen und alkoholreichen Starkbiere. Die moderne Biotechnologie nahm ihren Ausgang von der stürmischen Entwicklung der Mikrobiologie im späten 19. Jahrhundert und wurde im Schatten der beiden Weltkriege durch die Leistungen von Chemikern, Mikrobiologen und Ingenieuren im Umfeld der Lösemittel- und Antibiotika-Herstellung industriell etabliert. Viele großartige Entdeckungen der Biochemie, der Genetik und der Zellbiologie legten den Grundstein für die molekulare Biotechnologie, die seit ca. 1970 mit der Gentechnik, seit ca. 1980 mit der Zelltechnologie, seit ca. 1990 mit der

Bioinformatik und in jüngster Zeit mit der Genom- und Proteomforschung eine Querschnitts- und Schlüsseltechnologie für das 21. Jahrhundert bildet.

**Frühe Pioniere und Produkte.** Die Biotechnologie ist eine anwendungsbezogene Wissenschaft – viele ihrer Aufgabenstellungen haben wirtschaftliche Motive. Louis Pasteur, ein französischer Chemiker, setzte erstmals 1864 das Mikroskop zur Verlaufskontrolle der Wein- und Essigherstellung ein. Mit zwei technischen Kunstgriffen – der Reinkultur von Mikroorganismen und der Sterilisation ihrer Nährmedien (Pasteurisieren) – legte er den Grundstein für die angewandte Mikrobiologie und weitete sie mit seinen Schülern auf die Erforschung und Bekämpfung pathogener Mikroorganismen aus. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts kamen der deutsche Chemiker Otto Röhm und der Japaner Jokichi Takamine auf die Idee, Enzyme aus Schlachttierabfällen bzw. aus Kulturlösungen von Schimmelpilzen als technische Hilfsmittel einzusetzen. Röhm revolutionierte damit die Lederverarbeitung (als Enzymquelle wurde bis zu diesem Zeitpunkt Hundekot verwendet), Takamine die Verarbeitung von Malz und Stärke. Im öffentlichen Bereich war die Einführung der aeroben und anaeroben Abwasserreinigung um 1900 ein Meilenstein bei der Prävention von Seuchen. Während des 1. Weltkriegs entwickelte Carl Neuberg in Deutschland die Herstellung von Glycerin mit Backhefe, Charles Weizmann, ein russischer Emigrant jüdischer Herkunft, in England die fermentative Herstellung von Aceton durch anaerobe Fermentation von *Clostridien*-Stämmen. Beide Rohstoffe waren kriegswichtig zur Herstellung von Sprengstoffen (Nitroglycerin bzw. Cordit) und gaben der Fermentations-Industrie einen ersten Auftrieb. Die Balfour-Deklaration und die spätere Gründung des Staates Israel, dessen erster Präsident Weizmann wurde, geht unmittelbar auf dessen Verdienste im 1. Weltkrieg zurück. In der Nachkriegszeit

erreichte das Koppelprodukt der Aceton-Fermentation durch Clostridien, 1-Butanol, als Lösemittel für Autolacke große Bedeutung. Die Zufallsentdeckung der antibakteriellen Wirksubstanz Penicillin durch Alexander Fleming (1922), durch Howard Florey erstmals als chemische Substanz isoliert, löste während des 2. Weltkriegs die industrielle Produktion von Antibiotika aus. 1950 hatte man bereits über 1000 verschiedene Antibiotika isoliert, von denen viele in großer Menge für die Humanmedizin und zunehmend auch für die Tierproduktion und den Pflanzenschutz eingesetzt wurden. Seit ca. 1950 begann die Industrialisierung der analytischen Biotechnologie, bei der man für die hochselektive Detektion von Metaboliten in Körperflüssigkeiten oder Lebensmitteln zuerst Enzyme, später Antikörper verwendete. Ab ca. 1965 diskutierte man, im Schatten der Ölkrise und der Bevölkerungsexplosion, die Konversion von Biomasse zu den Energieträgern Ethanol und Methan und die Herstellung von Einzellerprotein. Auch jetzt, 2014, sind Bioraffinerien und Biotreibstoffe aktuelle Themen.

## „Biotechnologie“: frühgeschichtliche Beispiele



frühe- geschichtlich	zuckerhaltige Nahrungsmittel werden zu Alkohol vergoren durch Milchsäure- und Hefegärung entstehen Sauermilch- und Sauerteigprodukte Haut wird mit Kot zu Leder gebeizt
1650	Orléans-Verfahren zur Essigherstellung
um 1680	Antonius Leuwenhoek beobachtet Bakterien durch die Lupe
1867	Louis Pasteur trennt Bierhefen von Essigsäurebakterien ab
um 1890	Louis Pasteur, Robert Koch entwickeln die ersten Vakzinen
1900	Jokichi Takamine entwickelt bakterielle $\alpha$ -Amylase als technisches Enzym
1908	Otto Röhm setzt tierische Proteasen für Waschmittel und Lederhilfsmittel ein
1916	Charles Weizmann entwickelt einen Gärprozeß zur Herstellung von Butanol und Aceton
ab 1920	Citronensäure wird durch Oberflächenfermentation von <i>Aspergillus niger</i> hergestellt
1928/29	Alexander Fleming entdeckt das Penicillin
1943	Selman Waksman entdeckt das Streptomycin
seit 1957	Glutaminsäure wird durch Fermentation von <i>Corynebacterium glutamicum</i> hergestellt
ab 1960	mikrobielle Proteasen werden Waschmitteln zugesetzt
ab 1965	mikrobielles Rennet als Labersatz bei der Käsebehandlung
ab 1970	enzymatisch hergestellter „high-fructose corn syrup“ ersetzt Rohrzucker in Softdrinks
1972/73	Stanley Cohen und Herbert Boyer entwickeln die in-vitro Rekombination von DNA, Plasmidvektoren
1975	Cesar Milstein und Georges Köhler stellen mit Hybridoma-Zellen monoklonale Antikörper her
ab 1977	rekombinante Proteine können in Bakterien hergestellt werden
ab 1982	erste transgene Pflanzen (Herbizid-Resistenz) und Tiere („knock-out“ Modelle)
1985	Kary Mullis entwickelt mit der PCR eine schnelle Methode zur DNA-Amplifikation
1995	transgene Tomaten werden in den USA und in Grossbritannien zum Verkauf zugelassen
seit 1995	Versuche zur Gentherapie am Menschen
1996	das Genom der Backhefe wird vollständig aufgeklärt
1998	das Schaf Dolly, ein genetisch identischer Klon seiner Mutter, wird geboren
1998	in den DNA-Datenbanken ist die Sequenzinformation von 2 Mrd. Basen gespeichert
1999	das Drosophila-Genom mit 1,6 Mrd. bp wird innerhalb von 4 Monaten sequenziert
1999	humane Stammzellen werden in Zellkultur vermehrt
1999	das Marktvolumen rekombinant hergestellter Pharma-Proteine überschreitet 10 Mrd. US-\$ pro Jahr
2001	Craig Venter's Unternehmen Celera und das internationale Humangenomprojekt-Konsortium (HGP) legen zeitgleich eine Skizze des menschlichen Genoms vor
2008	die USA stellen bereits über 30 Mrd. l Bioethanol aus Maisstärke her
2012	Shinya Yamanaka, Kyoto, erhält den Nobelpreis für die Entwicklung einer Technologie zur Umwandlung körpereigener menschlicher Stammzellen in ausdifferenzierte Zelltypen (iPS-Technologie)
2014	auf 180 Mill. ha landwirtschaftlicher Nutzfläche werden transgene Pflanzensorten angebaut

# Biotechnologie heute

**Gentechnik und Zellbiologie.** 1973 gelang es Stanley Cohen und Herbert Boyer in San Francisco zum ersten Mal, ein fremdes Gen gezielt in einen Wirtsorganismus zu übertragen und dort zur Expression zu bringen. Von da ab dauerte es etwa 10 Jahre, bis das erste gentechnisch erzeugte Medikament zugelassen wurde. Heute sind hunderte gentechnisch hergestellter Medikamente und Therapeutika zugelassen, darunter Produkte wie Insulin (bei Diabetes), Erythropoietin (bei Blutarmut), Faktor VIII (bei Bluterkrankheit) und  $\beta$ -Interferon (bei multipler Sklerose), rekombinante Antikörper und Vakzine – und viele weitere befinden sich in der Entwicklung. Stand in den Anfangsjahren die medizinische Forschung im Mittelpunkt, so verfiel man bald darauf, die neuen gentechnischen Methoden auch auf landwirtschaftliche Fragestellungen anzuwenden. So züchtete man transgene Pflanzensorten, die Resistenz-Faktoren gegen Herbizide oder Insektenfraß enthalten. In der chemischen Industrie wächst die Zahl der Syntheseschritte mit Hilfe von Mikroorganismen oder Enzymen (Biokatalyse), seit diese gentechnisch an die industriellen Erfordernisse angepasst werden können. Aus nachwachsenden Rohstoffen erzeugte Biopolymere beginnen, petrochemisch erzeugte Kunststoffe zu ersetzen und begründen damit eine „Bioökonomie“, zu der auch neue Energieträger wie Bioethanol, Biogas oder Biodiesel gehören werden. Sie verändern das Gesicht der Landwirtschaft in großem Stil. Im Mittelpunkt des wissenschaftlichen wie auch des medizinischen Interesses stehen heute die Genomforschung und die Zelltechnik. Angetrieben von immer leistungsfähigeren Geräten und der Rechenkraft von Supercomputern, ist die Sequenzierung eines menschlichen Genoms bereits fast Routine. Man nutzt Genom-Daten, um durch funktionelle Genomforschung Aufschluss über die molekularen

Ursachen komplexer Krankheitsbilder zu erhalten, und mit Gentherapie unternimmt man Versuche, kranke durch gesunde Gene zu ersetzen. Auch die Tier- und Pflanzenzucht kommt durch genomische Informationen immer schneller voran. Können Pflanzen bereits seit ca. 50 Jahren aus undifferenzierten Zellkulturen regeneriert werden, so ist das bei menschlichen Zellen seit einigen Jahren mit embryonalen oder induzierten pluripotenten Stammzellen ebenfalls möglich, woraus sich völlig neue Ansätze für eine „Reparatur“ kranker Gewebe ergibt.

**Akzeptanz.** Das 1998 geborene Schaf Dolly war das erste aus den Körperzellen der Mutter klonierte und mit dieser genetisch identische Lebewesen. Die Stoßrichtung derartiger Forschungsrichtungen, z. B. der Embryonenforschung, und die atemberaubende Schnelligkeit des Fortschritts hat viele gesellschaftliche Diskussionen in Gang gesetzt. In welchem Zellstadium soll der Schutz menschlichen Lebens beginnen? Wie soll der Einzelne, die Gesellschaft und die Versicherungswirtschaft mit deterministischen Einsichten in das Krankheitsrisiko eines Individuums umgehen? Wie verändern erfolgreiche genetische Therapien die Altersstruktur einer Gesellschaft? Welche ökologische Risiken lösen wir mit einem mutwilligen, vorrangig ökonomisch begründeten Eingriff in die biologische Diversität aus? Welche Konsequenzen haben Biotechnologie und Gentechnik für die Entwicklungsländer?

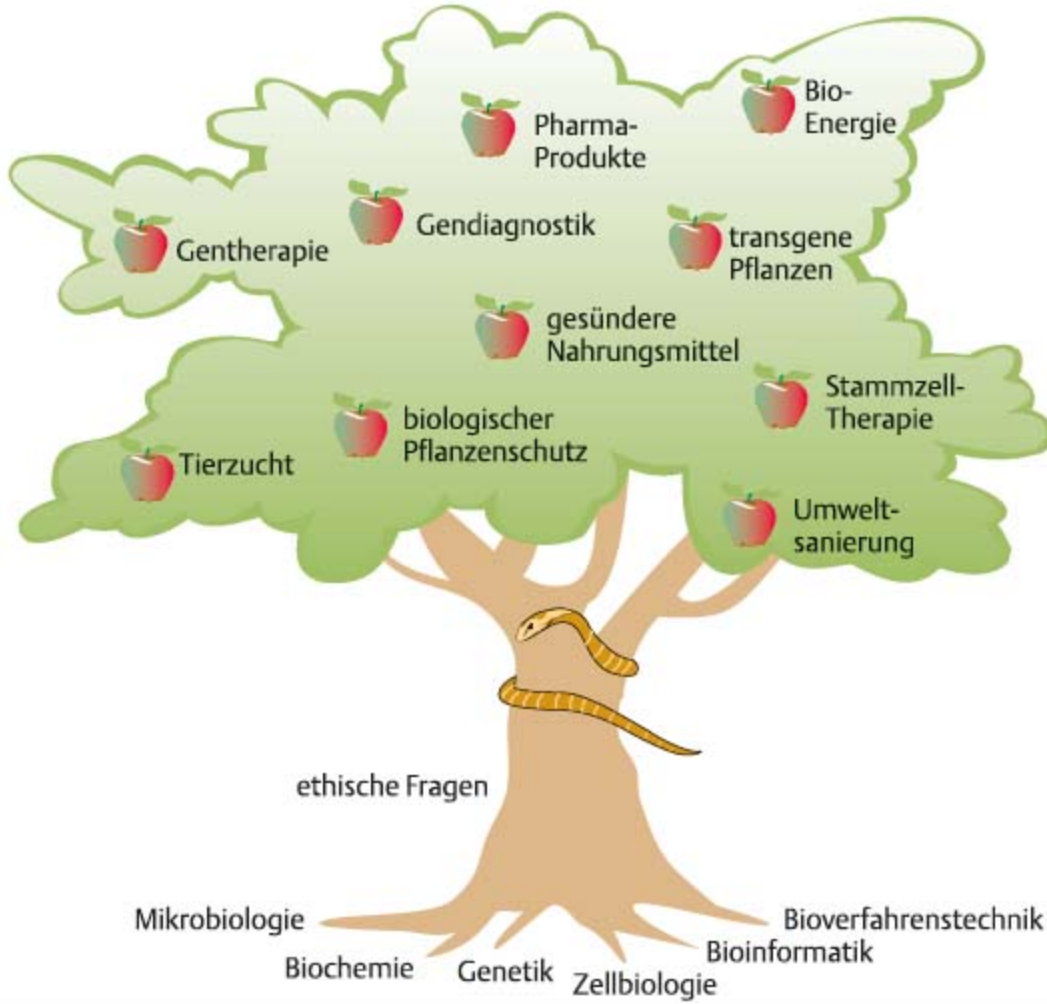
**Grundlagen.** Die vielfältigen und ständig zunehmenden Anwendungen der Biotechnologie und der Gentechnik werden im Hauptteil dieses Taschenbuchs behandelt, gefolgt von aktuellen „Megatrends“ (2014), zu denen auch die Bioinformatik gehört. Im ersten Teil sollen dagegen die multidisziplinären Grundlagen der Biotechnologie skizziert werden. Der historischen Entwicklung entsprechend, ist dies zuerst einmal die Mikrobiologie. Ihr folgen wesentliche



Aspekte der Biochemie, der Lehre von der Chemie lebender Organismen, von ihrem Stoffwechsel und dessen Regulation. Eine wesentliche Eigenschaft von Lebewesen ist ihre Fähigkeit zur Vermehrung – deshalb werden die Grundlagen der Molekulargenetik und der Gentechnik ausführlich dargestellt. Die Biologie höherer Zellen und um ihr Zusammenspiel in vielzelligen Organismen ist thematischer Schwerpunkt der Zellbiologie. Schließlich benötigen alle industriellen Anwendungen der Biotechnologie und der Gentechnik einen Produktionsschritt – dies ist die von Ingenieuren geprägte Disziplin der Bioverfahrenstechnik. Es versteht sich von selbst, dass diese umfangreichen Wissensgebiete in einem Taschenbuch nur angerissen werden können. Zu beinahe jeder Themenseite wird deshalb auf weiterführende Literatur verwiesen.

**Themen**

Gesundheit • Ernährung • Energie  
umweltfreundliche Technologien • nachhaltige Landwirtschaft



## Wissenschaftliche Grundlagen

### Gentechnik/Genomforschung

- rekombinante Produkte
- individualisierte Medizin
- Gendiagnostik und Gentherapie
- Pflanzen- und Tierzucht
- synthetische Biologie

### Bioinformatik

- Datenbanken
- Megadaten-Analyse
- metabolic engineering
- Systembiologie

### Mikrobiologie

- Antibiotika usw.
- Enzyme
- Starterkulturen
- Biogas

### Zellbiologie

- Pharma-Wirkstoffe
- Immun-Therapeutika
- therapeutische Antikörper
- Stammzell-Forschung

### Biochemie

- Naturstoffe
- Stoffwechsel
- Strukturbiologie
- Proteomics

### Bioverfahrenstechnik

- Produktionsverfahren mit Zellen oder Enzymen
- Abwasserreinigung
- Bioenergie

# Mikrobiologie

## Viren

**Allgemeines.** Viren sind infektiöse Partikel ohne eigenen Stoffwechsel. Ihr genetisches Programm ist entweder in DNA oder RNA niedergelegt, deren Replikation mit Hilfe lebender Wirtszellen erfolgt. Bei der Vermehrung des Virus wird meist eine Protein-Hülle (Capsid) gebildet, die außerhalb der Wirtszelle die virale Nucleinsäure umschließt (Viruspartikel, Nucleocapsid). Viren können die meisten lebenden Organismen infizieren, sind dabei aber fast immer wirtsspezifisch und oft sogar auf bestimmte Gewebe oder Zellen spezialisiert. Man unterscheidet Viren nach ihrer Wirtsspezifität, ihrer Morphologie, dem Nucleinsäure-Typ (DNA/RNA) und dem Aufbau des Capsids. In der medizinischen und veterinärmedizinischen Forschung spielt die Diagnose und Behandlung von Virus-Erkrankungen wie AIDS (HI-Virus), Vogelgrippe (H5N1-, H7N9-Virus), hämorrhagischem Fieber (Ebolavirus) oder Rinderpest (Morbillivirus) eine sehr wichtige Rolle (→248). In der Biotechnologie verwendet man Viren zur Entwicklung von Komponenten-Vakzinen (→250) und zur Herstellung von Vektoren und Promotor-Elementen, z. B. für die Gentherapie und die Expression von Genen in tierischen Zellkulturen.

**Viren für Experimente am Tier.** Die ersten Klonierungsexperimente mit Tierzellen führte man 1979 mit einem Vektor auf der Grundlage des *simian virus 40* (SV40) durch (→98). Das Virus infiziert verschiedene Säugetiere und kann dabei lytische (Zell-lysierende) oder lysogene (verzögert Zell-lysierende) Cyclen durchlaufen. Sein ca. 5,2 kb großes Genom enthält „frühe Gene“ für die

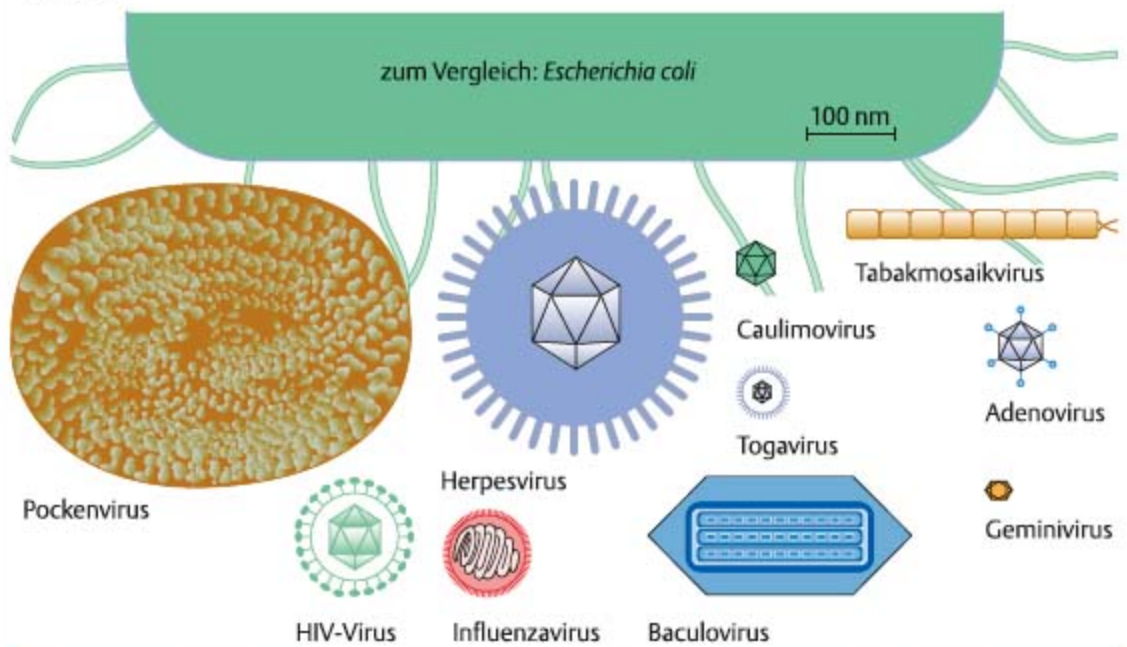
DNA - und „späte Gene“ für die Capsid-Synthese. Expressionsvektoren auf der Grundlage des SV40-Virus enthalten dessen Replikationsursprung (*ori*), häufig auch eine von diesem Virus abgeleitete Promotor- und Transkriptions-Terminationssequenz (Poly-Adenylierungssequenz). Für die Transfektion von Mauszellen haben sich Konstrukte auf der Grundlage des bovinen Papillomvirus (BPV) bewährt. Sie verwandeln sich bei der Infektion in ein Viel-Kopien-Plasmid, das bei der Zellteilung auf die Tochterzellen weitergegeben wird. Bei der Gentherapie mit attenuierten Viren bevorzugt man Retro-, Adeno- und Herpesviren (→304). Retroviren, z. B. das HIV-Virus, enthalten ein RNA-Genom. Sie infizieren sich teilende Zellen, wobei eine von ihrem Genom kodierte reverse Transkriptase das RNA-Genom in cDNA umschreibt. Diese wird dann im Wirtsgenom integriert und dirigiert dort mittels starker Promotoren die Bildung von Capsid-Proteinen und viraler mRNA. Mit replikationsdefekten Retrovirus-Vektoren wurden bereits mehrere hundert Gentherapie-Versuche erfolgreich abgeschlossen, die verpackbare Fremd-DNA (*insert*) ist aber klein. Demgegenüber liegt die Klonierungskapazität von Adenoviren für fremde DNA bei 28 kb. Adenoviren infizieren auch Zellen, die sich nicht teilen, ihre DNA integriert aber nicht in das Chromosom der Wirtszelle. Für die Gentherapie neuronaler Zellen bei Krankheitsbildern wie Alzheimer- und Parkinson-Krankheit untersucht man *Herpes simplex*-Vektoren. Ihr großes DNA-Genom von 152 kb erlaubt den Einbau fremder DNA-Abschnitte > 20 kb. Auch Vaccinia-Viren kommen bei der Gentherapie zum Einsatz. Sie haben eine ähnlich große Klonierungskapazität und befallen viele Zelltypen.

**Viren für Experimente an Pflanzen.** Die meisten Pflanzenviren bestehen aus RNA (→280). Man kennt nur zwei Gruppen von DNA-Viren, die höhere Pflanzen

infizieren: Caulimoviren haben ein sehr enges Wirtsspektrum: sie infizieren nur Kreuzblütler wie Rüben und einige Kohlsorten. Ihr geringes Capsid-Volumen beschränkt die Gesamtgröße des Genoms und damit der verpackbaren Fremd-DNA. Geminiviren infizieren wichtige Nutzpflanzen wie Mais und Weizen, was das Risiko ihrer Nutzung erhöht. Außerdem macht ihr Genom während des Infektionszyklus zahlreiche Umordnungen und Deletionen durch, wodurch die intakte Expression fremder DNA-Inserts erschwert wird.

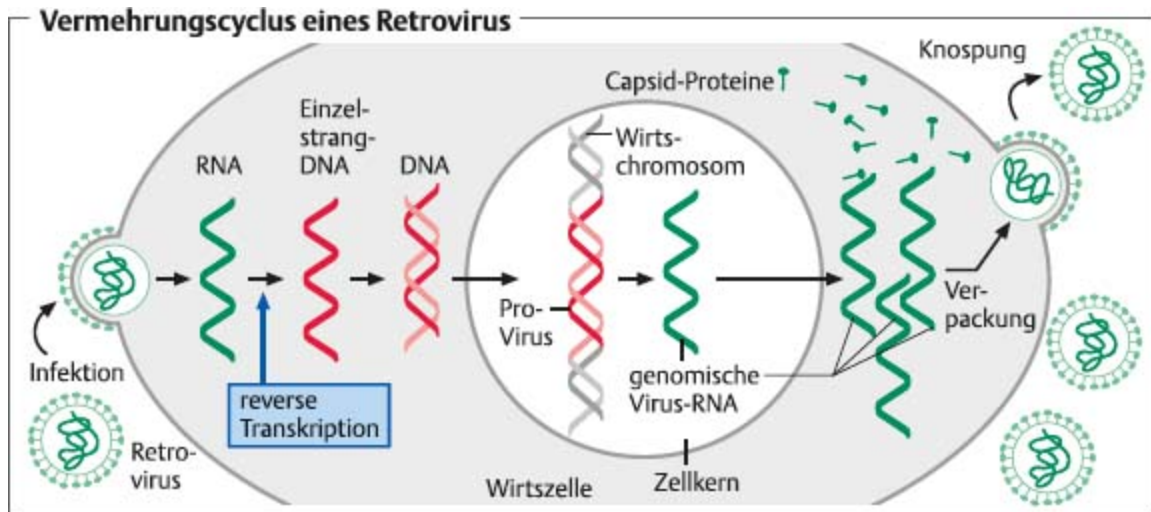
**Baculoviren** infizieren Insekten, nicht aber Wirbeltiere. Nach Infektion verursachen sie die Bildung eines kristallinen Proteins (Polyhedrin), das dann über 50 % des Gesamtproteins der Insektenzelle ausmacht. Der Polyhedrin-Promotor wird deshalb in Verbindung mit Zellkulturen von *Spodoptera* (einem Schmetterling) zur heterologen Expression von Proteinen verwendet. Vorteilhaft ist dabei, dass die posttranslationale Glykosylierung (→262) derjenigen bei Wirbeltieren ähnelt. Zur Züchtung transgener Seidenraupen (*Bombyx mori*) wird das Kernpolyedervirus BmNPV eingesetzt.

## Formen



Viren	Wirt	Erkrankung	Verpackung	Nucleinsäure
Pocken	Mensch, Haustier	Pocken	komplexe Hülle	lineare DNA, d
Hepatitis B	Mensch	Hepatitis B	polyedrisches Capsid	circuläre DNA, d
Toga	Mensch	Masern	polyedrisches Capsid	(+)-RNA, e
Herpes	Mensch, Vögel	Gürtelrose u. a.	polyedrisches Capsid, Hülle	lineare DNA, d
HIV	Mensch, Primaten	AIDS	runde Hülle	2 x (+)-RNA, e
Influenza	Mensch, Säuger	Grippe	helikale Hülle	(-)-RNA, segmentiert
Adeno	Mensch	Erkältung	polyedrisches Capsid	lineare DNA, d
Papilloma	Rind	Warzen	polyedrisches Capsid	circuläre DNA, d
Tabakmosaik	Tabakpflanze		polyedrisches Capsid	RNA, e
Caulimo	Kohlarten		polyedrisches Capsid	circuläre DNA, e
Gemini	Dikotyledonen		Doppel-Polyeder	circuläre DNA, e
Baculo	Insekten		polyedrisches Capsid	circuläre DNA, d

e = Einzelstrang, d = Doppelstrang, + = sense-Richtung, - = antisense-Richtung



## Bakteriophagen

**Allgemeines.** Viren, die Bakterien befallen, nennt man Bakteriophagen oder kurz Phagen. Sie werden vom *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) klassifiziert. Wie Metagenom-Analysen (→74) gezeigt haben, kommen sie in großer Zahl in der Umwelt vor. Der Einsatz von Phagen wird seit langem als Therapie bei Infektionskrankheiten untersucht. Bei der Fermentation, z. B. bei der Herstellung von Starterkulturen (→114), muss ein Befall mit Phagen verhindert werden. Dazu selektiert man meist Phagen-resistente Stämme. In der Gentechnik leisten Phagen wertvolle Dienste bei der Entwicklung von Vektoren und Promotoren für die Klonierung, bei der Gen-Sequenzierung und bei der Herstellung von Gen- und Protein-Bibliotheken (→62, 64, 68). Da viele Klonierungsarbeiten mit *Escherichia coli* als Wirtsorganismus durchgeführt werden, spielen dort *E. coli*-spezifische Phagen ( $\lambda$ , M13, Q $\beta$ , T-Phagen) eine besonders wichtige Rolle.

**Der  $\lambda$ -Phage** befällt *E. coli*. Als temperenter Phage kann er dabei 2 Wege einschlagen: entweder wird seine lineare Doppelstrang-DNA (48,5 kbp, ca. 1 % des *E. coli*-



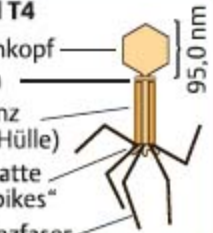



Chromosoms) extrachromosomal vermehrt, wobei es zur Lyse kommt („lytischer Cyclus“), oder sie wird in das *E. coli*-Genom integriert (lysogene Zellen mit latenten Prophagen) und mit diesem repliziert. Durch Temperaturerhöhung, UV-Strahlen oder andere Stressfaktoren wird der Prophage aus dem *E. coli*-Genom ausgegliedert und virulent, die Zelle lysiert. Eine für die Gentechnik wichtige Eigenschaft ist, dass sowohl die Bildung der ringförmigen  $\lambda$ -DNA wie ihre Integration ins *E. coli*-Genom an den *cos*-Stellen erfolgt (kohäsive oder klebrige Enden von je 12 ungepaarten Nucleotiden, die auch als Erkennungssignal für das Genprodukt A, eine Endonuclease, dienen). Nach Replikation der  $\lambda$ -DNA zu einem Concatemer aus linearen, aneinandergereihten  $\lambda$ -Genomen schneidet die Endonuclease A an den *cos*-Stellen und leitet damit die Verpackung der DNA in sein Capsid ein. Vom  $\lambda$ -Phagen abgeleitet sind die Cosmide zur Herstellung von Genbanken und die Familie der  $\lambda$ -Vektoren, z. B.  $\lambda$ EMBL4, die durch Temperaturerhöhung induziert werden können.

**Der M13-Phage** befällt ebenfalls *E. coli*, ist aber völlig anders aufgebaut. Er enthält einen DNA-Einzelstrang von ca. 6,4 kb, der nach Infektion von *E. coli* die Synthese des komplementären Strangs dirigiert. Die doppelsträngige Phagen-DNA wird nicht in das *E. coli*-Genom eingebaut, sondern im Cytoplasma repliziert und kontinuierlich freigesetzt (1000 Phagenpartikel/Zelle). Bei der Zellteilung wird sie an die Tochterzellen weitergegeben (ca. 100/Zelle). Gene, die in einen M13-Vektor inkloniert wurden, kann man als einzelsträngige DNA erhalten – eine wertvolle Eigenschaft für die klassische DNasequenzierung ( $\rightarrow$ 56). Vor der Einführung der PCR-Methoden dienten M13-Vektoren auch zur gerichteten Mutagenese von Proteinen.

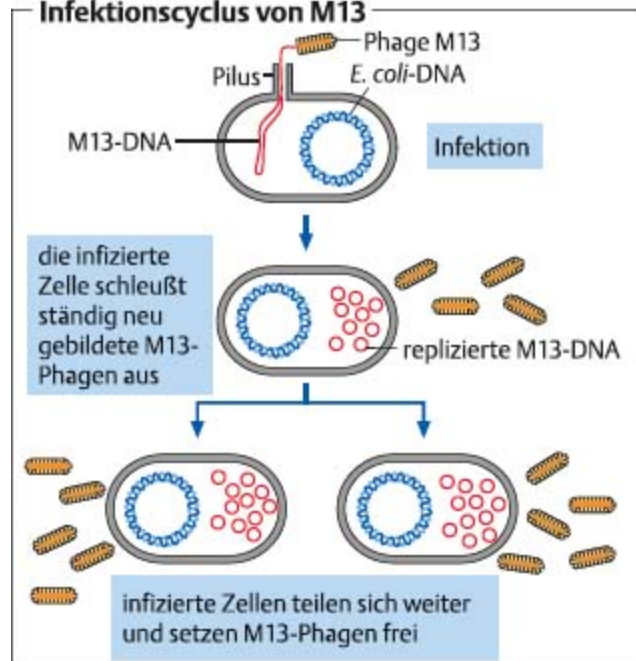
**T-Phagen** kommen in sieben unterschiedlichen Typen vor. In der Gentechnik verwendet man häufig zwei vom Genom der T-Phagen kodierte Enzyme: die DNA-Ligase des T4-Phagen, die DNA-Fragmente sowohl mit klebrigen wie mit glatten Enden verknüpft, und die DNA-Polymerase des T7-Phagen, die DNA am Einzelstrang polymerisiert und bei der Gensequenzierung nach Sanger-Coulson zum Einsatz kommt. Den Promotor der T7-RNA-Polymerase verwendet man u. a. zur Expression in *E. coli*.

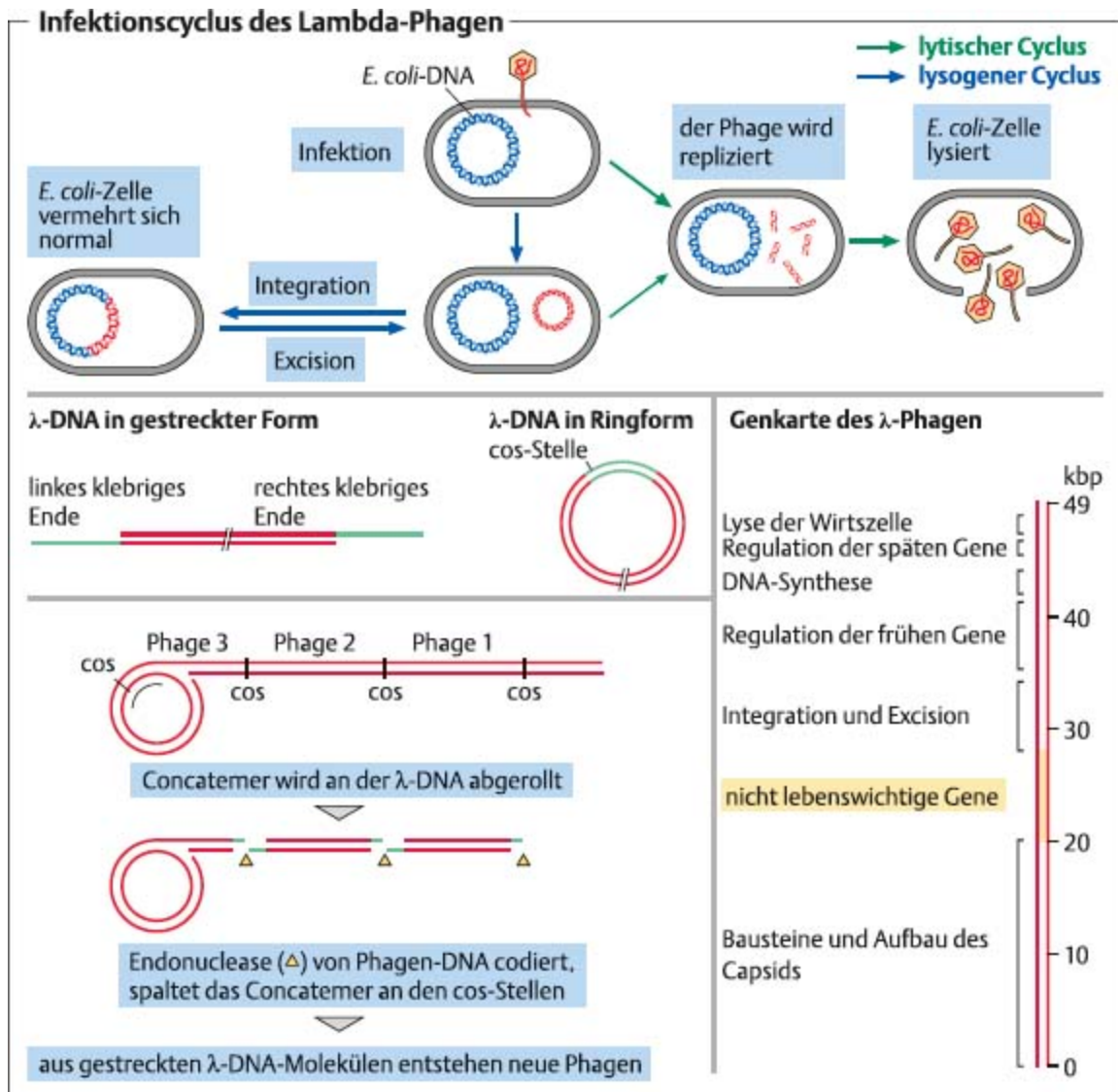
**Phagen anderer Bakterien.** Unter den weit über 1000 klassifizierten Phagen (Viren insgesamt: über 2800) finden sich > 300 für Enterobakterien, > 230 für Bacteriococcen und jeweils > 150 für Actinomyceten und Bacillen. Für Pseudomonaden wurden ca. 100, für Lactobacillen ca. 40 Phagen beschrieben. Eine erst jüngst beschriebene Gruppe von insgesamt 13 Phagen, die *Ligamenvirales*, infizieren Archaeobakterien. Nach Bau und Funktion entsprechen diese Phagen den verschiedenen Bakteriophagen von *E. coli* und anderen Viren. Wie diese können sie virulent oder temperent sein. Phagen für Lactobacillen sind in Molkerei-Betrieben ein großes Risiko bei der Herstellung von Milchprodukten. Resistente Starterkulturen sind durch Plasmid-kodierte Mechanismen in der Lage, die Adsorption oder Replikation dieser Phagen zu verhindern. Unter den 5 Gruppen der *Bacillus*-Phagen wurden 105 und SPO2 häufig für Transformationsversuche, PBS1 dagegen zur Erstellung der Genkarte von *B. subtilis* verwendet. Phage M3112 ist der bevorzugte Vektor für die Transformation von Pseudomonaden, SV1 und C31 für die Transformation von Streptomyceten.

### E. coli-Phagen (Auswahl)

Name	Form	genetisches Material
<b>T2 und T4</b> Phagenkopf Kragen Schwanz (Kern, Hülle) Basisplatte mit „Spikes“ Schwanzfaser	 <p>95,0 nm</p>	DNA (Doppel-Strang)
<b>Lambda (λ)</b>		DNA (Doppel-Strang)
<b>M13</b> 6 nm 900 nm		DNA (Einzel-Strang)
<b>MS2</b>		RNA

### Infektionszyklus von M13





## Mikroorganismen

**Allgemeines.** Mikroorganismen spielen eine Schlüsselrolle im Stoffkreislauf. Sie sind als Destruenten am Abbau vieler Verbindungen beteiligt. Dieser Vorgang erfolgt sowohl in der Umwelt wie in Symbiose mit anderen Lebewesen (Beispiele: Flechten, Darm- und Pansenbakterien). Als Pathogene bedrohen Mikroorganismen die Gesundheit anderer Organismen. In der Biotechnologie dienen für den Menschen ungefährliche Mikroorganismen zur Herstellung zahlreicher Produkte wie Citronensäure, Antibiotika,

Xanthan oder Enzyme, zur aeroben und anaeroben Reinigung von Abwasser, Klärschlamm, Böden und Luft und als Wirtsorganismen zur Synthese rekombinanter Proteine. Aufgrund ihres verhältnismäßig einfachen Aufbaus, des breiten Methodenspektrums zur Herstellung von Mutanten und der kurzen Generationszeit dienen sie als Modell-Organismen für die Untersuchung biochemischer, genetischer und physiologischer Vorgänge und als bevorzugter Wirt für die technische Herstellung rekombinanter Produkte. Ihr völlig unterschiedlicher Zellaufbau erlaubt eine Unterscheidung in prokaryotische und eukaryotische Mikroorganismen. Die Prokaryoten unterteilt man weiter in Eubakterien und Archaeobakterien (> 10 000 vollständig charakterisierte Stämme).

**Eubakterien** sind einzellige Lebewesen. Sie vermehren sich durch Teilung. Ihr Zelldurchmesser liegt meist in der Größenordnung von 1 µm. Sie besitzen keinen Zellkern, ihre DNA ist in einem Nucleoid geknäuel. Häufig ist ein Teil ihrer genetischen Informationen auf nichtchromosomalen Elementen, sog. Plasmiden, niedergelegt (→44). Plasmide können durch horizontalen Gentransfer auf andere Bakterien übertragen werden – ein für den Menschen nützlicher Effekt bei der natürlichen Evolution von Abbaupotenzialen für xenobiotische Verbindungen in der Umwelt und der Klärtechnik, aber eine große Gefahr bei der Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika. Ihre aus Peptidoglykan aufgebaute Zellwand ist bei Gram-negativen Bakterien komplexer aufgebaut als bei den Gram-positiven und ist häufig von einer Schleimschicht umgeben, aus der bei vielen Bakterien Geißeln herausragen, die die Beweglichkeit des Organismus sicherstellen. Im Cytoplasma können Speicherstoffe eingelagert sein, z. B. Polyhydroxybuttersäure oder Polyphosphat. Eubakterien zeichnen sich durch das Potenzial zu ungewöhnlich

zahlreichen Varianten des Stoffwechsels aus, wodurch sie in der Lage sind, eine große Zahl von Lebensräumen zu besiedeln. Dabei überraschen sie immer wieder mit einzigartig evolvierten Proteinen und Cofaktoren. So ist beispielsweise die Purpurmembran der Halobakterien eine auf diese begrenzte funktionelle Einheit, die Ähnlichkeiten zur Photosynthese und zum Sehvorgang bei höheren Organismen aufweist.

**Archaeobakterien.** (Archaea) stehen vermutlich den ältesten Formen des Lebens auf der Erde nahe. Ihre Spuren wurden in mehrere hundert Millionen Jahre alten Formationen nachgewiesen. Sie leben häufig ohne Sauerstoff und sind meist auf die Besiedlung sehr spezieller Biotop spezialisiert. Beispielsweise sind sie die wichtigste Gruppe von Bakterien, die aus Essigsäure Methan bilden – ein wichtiger biotechnologischer Schritt bei der anaeroben Schlammbildung (→288). Von den Eubakterien unterscheiden sie sich durch strukturelle und genetische Merkmale, beispielsweise durch den Aufbau ihrer Zellmembranen aus Etherlipiden anstelle der sonst üblichen Phospholipide. Die Funktion ihrer Enzyme ist oft an extreme Standorte angepasst, was man in der Technik ausnutzen kann. So wird eine DNA-Polymerase aus einem Tiefseebakterium (*Pyrococcus furiosus*) für besonders fehlerarme PCR-Reaktionen eingesetzt (→50).

**Hefen und Pilze.** Alle Hefen und Pilze (ca. 70 000 Stämme) sind Eukaryoten. Im Gegensatz zu den Bakterien ist ihre Zellwand aus Chitin, selten auch aus Cellulose aufgebaut. Fast alle Pilze sind heterotroph und leben aerob. Die großen Unterschiede in ihrer Vermehrung bieten den besten Ansatz zu ihrer Klassifizierung. Der Vegetationskörper der Pilze ist ein aus *Hyphen* bestehendes Fadengeflecht (*Myzel*), das sich asexuell oder sexuell vermehren kann. Die asexuelle Vermehrung geschieht meist durch Sporenbildung, gelegentlich auch