



Fachwissen Biologie und Biotechnik

Claus-Dieter Paul Alexander Rotthues Eva Kaufmann

4. 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 Eppstein/Taunus Oberursel

Lektorat:

Walter Bierwerth, Dipl.-Ingenieur, Studiendirektor

Eppstein/Taunus

Bildbearbeitung:

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

4. Auflage 2022

Druck 5 4 3 2 1

Alle Drucke derselben Auflage sind parallel einsetzbar, da sie bis auf die Korrektur von Druckfehlern identisch sind.

ISBN 978-3-7585-7256-2

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

© 2022 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: Plump Druck & Medien GmbH, 53619 Rheinbreitbach

Vorwort 3

Vorwort zur 4. 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, erweiterte (und korrigierte) 4. 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).

Sommer 2022 Autoren und Verlag

	Grundlagen der Biologie		2.2	Gentechnik – Erzeugung gentechnisch	
1	Eigenschaften und Merkmale lebendiger			veränderter Organismen zur Nutzung in biotechnischen Verfahren	82
	Systeme	7	2.2.1	Gentechnik – Überblick	82
1.1	Kennzeichen des Lebens	7		Nukleinsäureisolierung	84
1.2	Elemente des Lebens	8		Nukleinsäuredetektion	86
1.2.1	Proteine (Eiweißstoffe)	9	2.2.4		88
1.2.2	Enzyme (katalytische Proteine)	12	2.2.5	DNA Banken	90
1.2.3	Nukleinsäure DNA	14	2.2.6	DNA-Sequenzierung	93
1.2.4	Nukleinsäure RNA	16	2.2.7	Klonierung	94
1.2.5	Kohlenhydrate	16	2.2.8	Gentechnikgesetz	98
1.2.6	Lipide (Fette)	18	3	Umgang mit biotechnisch wichtigen	
2	Zusammenhang zwischen Bau und Funktion		ŭ	Mikroorganismen und Zellen	100
	von Zellen	19	3.1	Mikroorganismen und Zellen als biologische	
2.1	Prozyten und Euzyten	19		Arbeitsstoffe	100
2.2	Aufbau von Zellen	19	3.2	Grundregeln guter mikrobiologischer Technik	102
2.2.1	Zellplasma	19	3.3	Schutz- und Sicherheitsstufen im Labor und in	
2.2.2	Biomembranen	20		der Produktion	104
2.2.3	3 3 1	22	3.4	Sterilisation und Desinfektion	105
2.2.4	Chromatin und Chromosomen	27	3.5	Sterilisationsverfahren	106
2.3	Zellteilung	30	3.5.1	Feuchte Hitze	106
2.4	Veränderungen des Erbgutes (Mutationen)	32	3.5.2	Trockene Hitze	108
3	Stoffwechselvorgänge in Zellen	36	3.5.3	Gase	108
3.1	Stoffwechseldefinition	36	3.5.4	Ionisierende Strahlung	109
3.2	ATP und ADP	37	3.5.5	Sterilfiltration	
3.3	Fotosynthese	38	3.6	Desinfektionsverfahren	
3.4	Biologische Oxidation	40	3.6.1	Physikalische Desinfektionsverfahren	112
3.5	Alkoholische Gärung	41	3.6.2	Chemische Desinfektionsmittel und	
3.6	Proteinbiosynthese	42		Desinfektionsverfahren	112
	·		3.7	Entsorgung von biologisch kontaminiertem Material	111
4	Systematik der Lebewesen	44	2.0	Biotechnische Labore	
4.1	Systematische Einheiten	44	3.8 3.9		110
4.2	Stammbäume der Lebewesen	45	3.9	Stammhaltung und Konservierung von Mikroorganismen und Zellen	119
Ш	Mikrobiologie		4	· ·	
				Kultivierung biotechnisch wichtiger	
	_		•		122
1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von	46	4.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und	122
	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen	46 47		Mikroorganismen und Zellen	
1.1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen	47		Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und	122
1.1 1.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen	47 48	4.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung	122 123
1.1 1.2 1.2.1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen	47	4.1 4.1.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium	122 123 126
1.1 1.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen	47 48 48	4.1.1 4.1.2	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur	122 123 126 126
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen	47 48	4.1.1 4.1.2 4.1.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert	122 123 126 126 127
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise	47 48 48 50	4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und	122 123 126 126 127
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise	47 48 48 50 53	4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen	122 123 126 126 127 128
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise	47 48 48 50 53 59 63	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium	122 123 126 126 127 128
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen	47 48 48 50 53 59	4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium	122 123 126 126 127 128 130 132
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das	47 48 48 50 53 59 63 66	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium	122 123 126 126 127 128 130 132
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde	47 48 48 50 53 59 63	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren	122 123 126 126 127 128 130 132
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das	47 48 48 50 53 59 63 66	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren	122 123 126 126 127 128 130 132
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den	47 48 48 50 53 59 63 66	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger	47 48 48 50 53 59 63 66 66	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsphasen und Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 136
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 136
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Krankheitserreger	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe	122 123 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber Mikroorganismen als Verursacher von	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71	4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.3.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktorenlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors	122 123 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4,5.4.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 144
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion Biotechnik Biotechnik Biotechnik und Gentechnik	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71 72	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4,1 5.4.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation Durchmischung und Begasung	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 144
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71 72	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4 5.4.1 5.4.2 5.4.3	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation Durchmischung und Begasung Schaum und Schaumbekämpfung	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 144
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion Biotechnik Biotechnik und Gentechnik Geschichte der Biotechnik und Gentechnik Vorteile biotechnischer Verfahren	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71 72	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4,1 5.4.1	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation Durchmischung und Begasung Schaum und Schaumbekämpfung Prozesskontrolle in einem Rührkessel-	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 144 148 152
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion Biotechnik Biotechnik und Gentechnik Geschichte der Biotechnik und Gentechnik Vorteile biotechnischer Verfahren Biotechnisch wichtige Mikroorganismen und	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71 72 75 76 78	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4 5.4.1 5.4.2 5.4.3 5.5	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation Durchmischung und Begasung Schaum und Schaumbekämpfung Prozesskontrolle in einem Rührkessel-Bioreaktor	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 148 152
1.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.2.3 1.2.4 1.2.5 2 2.1 2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3	Erscheinungsformen und Eigenschaften von Mikroorganismen Lebewesen des mikrobiologischen Bereichs Eigenschaften der Mikroorganismen Natürliche Vorkommen und Verbreitung Äußere Gestalt und Größenverhältnisse von Mikroorganismen Bakterien – Bau und Lebensweise Pilze – Bau und Lebensweise Viren – Bau und Lebensweise Bedeutung der Mikroorganismen Bedeutung der Mikroorganismen für das Leben auf der Erde Bedeutung der Mikroorganismen für den Menschen Mikroorganismen als Krankheitserreger Mikroorganismen als Lebensmittelverderber Mikroorganismen als Verursacher von Korrosion Biotechnik Biotechnik und Gentechnik Geschichte der Biotechnik und Gentechnik Vorteile biotechnischer Verfahren	47 48 48 50 53 59 63 66 66 68 68 71 72 75 76 78	4.1 4.1.1 4.1.2 4.1.3 4.1.4 4.2 4.3 4.4 5 5.1 5.2 5.3 5.3.1 5.3.2 5.3.3 5.4 5.4.1 5.4.2 5.4.3 5.5	Mikroorganismen und Zellen Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung Nährmedium Temperatur pH-Wert Sauerstoff Wachstumsgeschwindigkeit Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstumsgeschwindigkeit im flüssigen Nährmedium Wachstum auf festem Nährmedium Bioreaktoren Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen Rührkessel-Bioreaktoren Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors Komponenten zur Erhaltung der Bioreaktoranlagensterilität Werkstoffe Betrieb eines Rührkessel-Bioreaktors Reinigung und Sterilisation Durchmischung und Begasung Schaum und Schaumbekämpfung Prozesskontrolle in einem Rührkessel-	122 123 126 126 127 128 130 132 134 135 136 137 140 142 144 148 152 154 155

5.6.1	Nicht gerührte Bioreaktoren		3.1.2	Dampfförmige Luftschadstoffe (ausgewählte Beispiele)	252
5.6.2	Geschüttelte Bioreaktoren		3.1.3	• •	
	Blasensäulen-Bioreaktor und Airlift-	100		(ausgewählte Beispiele)	253
	Schlaufenbioreaktor	169		Weltweite Probleme durch Luftbelastungen .	254
	${\sf Festbett\text{-}Bioreaktor}\ und\ {\sf Flie} \& {\sf bett\text{-}Bioreaktor}\ .$		3.1.5	Räumlich begrenzte Probleme durch Luftbelastungen	256
5.6.5	Membran-Bioreaktoren	171	3.2	Bodenbelastungen	
6	Biotechnische Produktionsprozesse	172		Allgemeine Bodenbelastungen (ausgewählte	250
3.1	Schema eines biotechnischen		O.L.I	Beispiele)	258
	Produktionsprozesses	173	3.2.2	Bodenbelastungen durch die Landwirtschaft	258
5.2	Vorbereitung des Ausgangsmaterials	174		Bodenbelastungen durch Abfälle	
5.2.1	(Upstream-Processing)		3.3	Wasserbelastungen	262
5.2.1	=	174	3.3.1		202
J. Z. Z	Nährmediums	174	3.3.2	Trinkwassergewinnung	
5.2.3	Impfgutanzucht (Inokulumherstellung)	175		Gewässerbelastungen durch die Tätigkeit des	200
5.3	$Fermentation (Stoffumwandlung) \dots \dots \dots$	176		Menschen	264
5.3.1	Diskontinuierliche Prozessführung bei der		4	Umgang mit Umweltbelastungen	266
	Fermentation	176	4.1	Umweltschutz	
5.3.2	Kontinuierliche Prozessführung bei der Fermentation	179	4.2	Vorschriften im Rahmen des Umweltschutzes	267
6.4	Aufarbeitung (Downstream-Processing)		4.3	Umweltschutz und Arbeitsschutz	268
5.4.1			4.4	Produktionsintegrierter Umweltschutz	270
	Zellaufschluss		4.5	Vermindern von Umweltbelastungen am	
5.4.3	Produktanreicherung	190		Beispiel des Rheins	271
5.4.4	Produktreinigung und		W	Vertiefungsteil	
	Produktkonfektionierung	192	V		
7	Anwendungsschwerpunkte der Biotechnik .		1	Vertiefung Biologie	
7.1	Weiße Biotechnik	198	1.1	Proteine und Ernährung	
7.1.1	Biotechnik in der Lebensmittel- und	100	1.2 1.3	Enzymklassen Enzymkinetik	
7.1.2	Getränkeindustrie Biotechnik in der chemischen Industrie		1.3	Antikörper	
7.1.2 7.2	Graue Biotechnik		1.5	Monoklonale Antikörper	
7.2.1	Biologische Bodensanierung		1.6		
		/1/		Immunologische lestverfahren	
7.2.2			1.7	Immunologische Testverfahren	2/0
	Biologische Abluftreinigung	218		Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	
7.2.2	Biologische Abluftreinigung	218 220		Mikroskope zur Untersuchung biologischer	280
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1	Biologische Abluftreinigung	218 220 225 225	1.7	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe	218 220 225 225 230	1.7 1.8	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik	218 220 225 225 230 233	1.7 1.8 2	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe	218 220 225 225 230 233	1.7 1.8 2 2.1 2.2	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion	218 220 225 225 230 233	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie	218 220 225 225 230 233	1.7 1.8 2 2.1 2.2	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen	218 220 225 225 230 233 233	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt	218 220 225 225 230 233 233 236	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie	218 220 225 225 230 233 233 233 236 237	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren	218 220 225 225 230 233 233 233 236 237 239	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292 294 297
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 239	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292 294 297
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 239 243	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292 294 297
7.2.2 7.2.3 7.3.1 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV II.1 1.2 1.2.1 1.2.1	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 239 243	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292 294 297 297
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 239 243 244	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 289 292 294 297 297
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV III.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.3 2	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten	218 220 225 225 230 233 233 233 236 237 239 243 244 246 246	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 299 292 294 297 297 300 303
7.2.2 7.2.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV III.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.3 2	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe	218 220 225 225 230 233 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247 248	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV II.1 1.2 1.2.1 1.2.2 1.3 2	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff	218 220 225 225 230 233 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247 248 248	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304 311 314
7.2.2 7.2.3 7.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff Stickstoffkreislauf	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247 248 248 248	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3 4	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304 311 314 314
7.2.2 7.2.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff Stickstoffkreislauf Eingriffe des Menschen in Ökosysteme	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247 248 248 248 248 250	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3 4	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen Aufbau von Pflanzenzellen Vertiefung Biotechnik Genome-Editing: CRISPR/Cas Nukleinsäureisolierung von genomischer DNA Vertiefung Sterilisationsverfahren Nachweis von Mikroorganismen mit der Agarplatte Biotechnischer Produktionsprozess am Beispiel Humaninsulin Vertiefung Ökologie Beurteilung von Gewässerbelastungen Überprüfen von Kenntnissen Grundlagen der Biologie Mikrobiologie Biotechnik Ökologie Vertiefungsteil Vertiefung Biologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biotechnik	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304 311 314 314 315
7.2.2 7.2.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff Stickstoffkreislauf Eingriffe des Menschen in Ökosysteme	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 243 244 246 246 247 248 248 248 248 250	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3 4 5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen Aufbau von Pflanzenzellen Vertiefung Biotechnik Genome-Editing: CRISPR/Cas Nukleinsäureisolierung von genomischer DNA Vertiefung Sterilisationsverfahren Nachweis von Mikroorganismen mit der Agarplatte Biotechnischer Produktionsprozess am Beispiel Humaninsulin Vertiefung Ökologie Beurteilung von Gewässerbelastungen Überprüfen von Kenntnissen Grundlagen der Biologie Mikrobiologie Biotechnik Ökologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biotechnik Vertiefung Ökologie	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304 311 314 315 315
7.2.2 7.2.3 7.3.1 7.3.2 7.4 7.4.1 IV I I I I I I I I I I I I I I I I I I	Biologische Abluftreinigung Biologische Abwasserreinigung Rote Biotechnik Biopharmazeutika Impfstoffe Grüne Biotechnik Biomasse- und Inhaltsstoffproduktion Ökologie Wechselbeziehungen zwischen Lebewesen und Umwelt Grundbegriffe der Ökologie Abiotische Umweltfaktoren Klima Boden Biotische Umweltfaktoren Nahrungsbeziehungen und Stoffproduktion in Ökosystemen Produzenten, Konsumenten und Destruenten Nahrungsketten Stoffkreisläufe Kreisläufe von Kohlenstoff und Sauerstoff Stickstoffkreislauf Eingriffe des Menschen in Ökosysteme	218 220 225 225 230 233 233 236 237 239 243 244 246 247 248 248 248 248 250 250	1.7 1.8 2 2.1 2.2 2.3 2.4 2.5 3 3.1 VI 1 2 3 4 5	Mikroskope zur Untersuchung biologischer Strukturen Aufbau von Pflanzenzellen Vertiefung Biotechnik Genome-Editing: CRISPR/Cas Nukleinsäureisolierung von genomischer DNA Vertiefung Sterilisationsverfahren Nachweis von Mikroorganismen mit der Agarplatte Biotechnischer Produktionsprozess am Beispiel Humaninsulin Vertiefung Ökologie Beurteilung von Gewässerbelastungen Überprüfen von Kenntnissen Grundlagen der Biologie Mikrobiologie Biotechnik Ökologie Vertiefungsteil Vertiefung Biologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biologie Vertiefung Biotechnik	280 282 284 284 288 292 294 297 297 300 303 304 311 314 315 315 316

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).

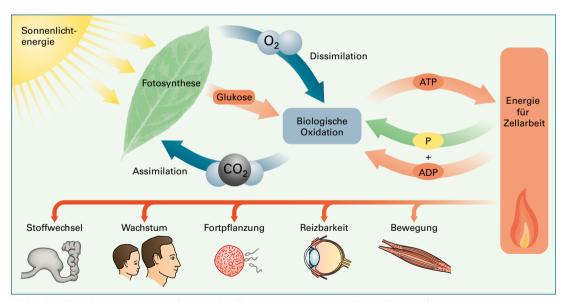


Bild 1: Stoffwechselvorgänge am Beispiel der Energieumsetzungen in Zellen (Schema)

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 vielen 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 PO₄³⁻ unter Energiefreisetzung enzymatisch leicht abgespalten werden.

Bild 1: ATP-Molekül

Energiefreisetzungsreaktion: ATP + $H_2O \rightarrow ADP + PO_4^{3-} + Energie$

 $\Delta G \approx -30 \text{ kJ/mol}$

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 energie- ärmere 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).

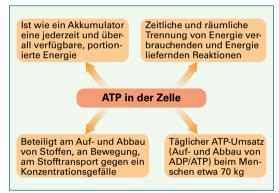


Bild 2: ATP als Energieüberträger in der Zelle

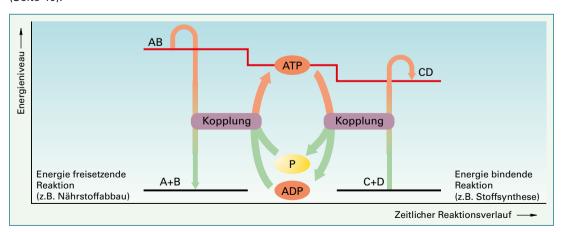


Bild 3: Energieübertragung durch das ATP-ADP-System (Schema)

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 Ableseenderegion (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.

Da Proteine in ihren Ketten 20 verschiedene Aminosäuren enthalten, sind zu ihrer Verschlüsselung auch 20 informatorische 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 Triplett bzw. Codon zu informatorischen 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)	J	С	Α	G	(3'-Ende)
U	Phe F Phe F Leu L Leu L	Ser S Ser S Ser S Ser S	TyrY TyrY STOPP STOPP	Cys C Cys C STOPP Trp W	U C A G
С	Leu L Leu L Leu L Leu L	Pro P Pro P Pro P Pro P	His H His H GIn Q GIn Q	Arg R Arg R Arg R Arg R	U C A G
A	Ile I Ile I Ile I Met M/ Start	Thr T Thr T Thr T Thr T	Asn N Asn N Lys K Lys K	Ser S Ser S Arg R Arg R	U C A G
G	Val V Val V Val V Val V	Ala A Ala A Ala A Ala A	Asp D Asp D Glu E Glu E	Gly G Gly G Gly G Gly G	U C A 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 entstehende Aminosäurekette löst sich von der tRNA und verbindet sich mit der neu herangebrachten Aminosäure. 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).

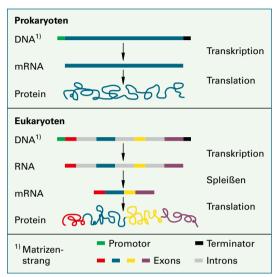


Bild 1: Aufbau von Genen

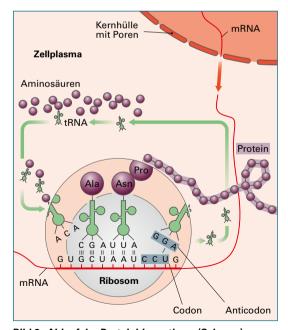


Bild 2: Ablauf der Proteinbiosynthese (Schema)

2 Biotechnisch wichtige Mikroorganismen und Zellen

In der biotechnischer Forschung, Entwicklung und Produktion wird nach wie vor vorteilhaft mit **Mikro-organismen** 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

Tabelle 1: Ausgewählte Produktions- mikroorganismen				
Organismen	Produktbeispiele			
Bakterien				
Bacillus subtilis*	Vitamin B ₂ , technische Enzyme			
Bacillus coagulans*	Enzym: Glukose-Isomerase			
Bacillus licheniformis*	technische Enzyme: Protease, Amylase			
Bacillus thuringiensis (Bt)	Bt-Toxin (biologisches Schädlingsbekämpfungs- mittel)			
Clostridium acetobutylicum	Lösemittel: Butanol, Aceton			
Corynebacterium	Aminosäuren: Glutamin-			
glutamicum*	säure, Lysin			
Escherichia coli*	menschliches Insulin, therapeutische Enzyme			
Lactobacillus casei	Milchsäure			
Pseudomonas putida*	Aspartase für Süßstoff Aspartam			
Xanthomonas campestris*	Xanthan (hochviskoses Polysaccharid für die Lebensmittelindustrie und Erdölförderung)			
Zymomonas mobilis	Ethanol			
Hefen und				
Schimmelpilze				
Saccharomyces	Backhefe, Ethanol,			
cerevisiae*	rekombinante Proteine			
Pichia pastoris*	rekombinante Proteine			
Penicillium chrysogenum	Antibiotika: Penicillin			
Aspergillus niger*	Zitronensäure, mikro- bielles "Labenzym"			
* auch als GVO verwendet				

(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.

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 (C hinese h amster o vary)		
BHK-Zelllinie	Säugerzelllinie aus Nierengewebe des syrischen Hamsters (Baby hamster kidney)		
MDCK- Zelllinie	Säugerzelllinie aus Nierengewebe des Hundes (M adin- D arby c anine k idney)		
Sf-9-Zelllinie	Insektenzelllinie aus dem Eierstock einer Nachtfalterart		
Nicotiana tabacum BY-2	Pflanzenzelllinie aus der Tabak- pflanze		

Tabelle 2: Standardzellen zur Produktion von Biopharmazeutika in Bioreaktoren					
Produktionsorganismus	Eigenschaften				
Escherichia coli (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, Somatropin), Signalstoffe (Zytokine) wie α-Interferon, Blutgerinnselauflösende Wirkstoffe (Fibrinolytika) 				
Saccharomyces cerevisiae (Hefe)	 generell nicht krankheitserregend schnelles Wachstum im Bioreaktor (aber langsamer im Vergleich zu E. coli) 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, Blutgerinnselauflösende 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, Matrize) erforderlich, also mindestens ein doppelsträngiges DNA-Molekül (dsDNA), das aus

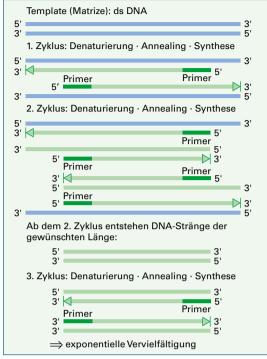


Bild 1: Polymerasekettenreaktion PCR

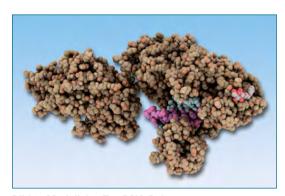


Bild 2: Modell der Taq-DNA-Polymerase

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 d**A**TP, d**C**TP, d**G**TP und d**T**TP 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.

Denaturierung. In diesem ersten Reaktionsschritt wird der zu vervielfältigende DNA-Doppelstrang thermisch bei 95 °C in zwei Einzelstränge getrennt.

Annealing. Für den zweiten Reaktionsschritt wird die Temperatur je nach Primerstruktur (siehe unten) auf ca. 50 °C gesenkt, damit sich die Primer an die Einzelstränge basenkomplementär anlagern können. Die Annealing-Temperatur hängt von der Länge und der Basenzusammensetzung der Primer ab.

Je länger die Primer sind und je höher der GC-Gehalt ist, desto höher kann die Annealing-Temperatur gewählt werden. Mit zunehmender Annealing-Temperatur steigt auch die Spezifität der Vervielfältigung.

Bei zu niedrigen Annealing-Temperaturen kann es passieren, dass die Primer auch an unspezifischen DNA-Abschnitten binden. Dann werden neben dem gewünschten Abschnitt auch noch andere Abschnitte vervielfältigt, die PCR wird unspezifisch. Die Annealing-Temperatur kann näherungsweise über die Formel $\vartheta_{M} = 2 \cdot (Anzahl Adenin + Anzahl Thymin) + 4 \cdot (Anzahl Guanin + Anzahl Cytosin) berechnet$ werden. In der Praxis empfiehlt es sich aber, auf Software zurückzugreifen, die nach Eingabe der Primer-Sequenz eine Annealing-Temperatur nach komplexeren Algorithmen berechnet (z.B. Primer3).

Synthese. Dieser dritte Reaktionsschritt erfolgt bei 72 °C. Bei dieser Temperatur arbeitet die Taq-Polymerase optimal und beginnt damit, an die Einzelstränge einen komplementären Doppelstrang zu synthetisieren. Hierzu verwendet sie die im Reaktionsansatz befindlichen DNA-Nukleotide. Die Synthese beginnt jeweils am 3'-Ende der Primer-DNA (Seite 14).

Nach Abschluss der Synthese-Phase beginnt der nächste Zyklus wieder mit der Denaturierung usw. Aus mathematischer Sicht erfolgt also in jedem Schritt eine Verdopplung des zu vervielfältigenden Abschnitts (Anzahl der vervielfältigten Moleküle = 2ⁿ, mit n = Anzahl der Zyklen). Eine PCR mit 25 Zyklen liefert theoretisch bei nur einem Template-Molekül 2²⁵ Moleküle (= 33554432). Die Theorie ist hier sehr optimistisch, in der Praxis ist der Vervielfältigungsfaktor kleiner und liegt bei ca. 1,7ⁿ und nicht bei 2ⁿ. Dabei beginnt die PCR selten mit nur einem Template-Molekül; in der Regel liegen viel höhere Molekülzahlen zu Beginn vor.





Bild 1: PCR-Arbeitsplatz



Bild 2: PCR-Maschine (Thermocycler)

Beim Pipettieren des PCR-Reaktionsansatzes ist darauf zu achten, dass keine Kontaminationen in den Ansatz gelangen (Bild 1). Die sich wiederholenden Temperaturintervalle im Laufe einer PCR-Reaktion werden von einer PCR-Maschine (Thermocycler) automatisch gesteuert (Bild 2).

Die PCR hat viele Sonderformen hervorgebracht, die der einschlägigen Literatur entnommen werden können (z.B. iPCR, qPCR, Multiplex PCR, Reverse Transkriptions PCR etc.).

Die PCR dient der In-vitro-Vervielfältigung von DNA-Molekülen. Für eine PCR-Reaktion werden Template, Primer, Puffer, Nukleotide und eine hitzestabile Polymerase benötigt. Ein PCR-Zyklus ist in die drei Phasen: Denaturierung, Annealing und Synthese gegliedert. Eine PCR-Reaktion umfasst ca. 25 Zyklen.

4 Kultivierung biotechnisch wichtiger Mikroorganismen und Zellen

4.1 Einflussfaktoren für Wachstum und Vermehrung

Wachstum und Vermehrung. Als Wachstum bezeichnet man die Biomassezunahme einer Zelle. Zum Wachstum gehört auch die Vermehrung der Zellzahl, da sich die Zellen sowohl bei Mikroorganismen als auch bei pflanzlichen und tierischen Zellen, die in Zellkulturen vereinzelt gezüchtet werden, beim Erreichen einer optimalen Größe teilen. Bei jedem Teilungsschritt verdoppeln sich also die Zellzahl und die Biomasse, was einem exponentiellen Wachstum entspricht (Seite 128). Die Dynamik dieses Wachstums lässt sich in einem Diagramm mit linearer Achseneinteilung schlecht für einen größeren Zeit-Bereich darstellen. Deshalb trägt man die Werte für die Zellzahl oder Zellmasse logarithmisch gegen eine lineare Zeitachse auf. Durch diese Umformung (halblogarithmische Auftragung) ergibt sich für die Dauer der exponentiellen Zellzunahme eine Gerade (Bild 1 und Seite 130).

Bedingt durch ihren intensiven Stoffwechsel erfolgen Wachstum und Vermehrung bei Mikroorganismen sehr viel rascher als bei tierischen und pflanzlichen Zellen. Viele Bakterienarten können sich zwei- bis dreimal pro Stunde teilen. Mit solchen Teilungsgeschwindigkeiten sind Mikroorganismen allen anderen Lebewesen überlegen und vollbringen dabei enorme Leistungen in der Bildung von Biomolekülen (Seite 57).

Deswegen setzt die Biotechnik bevorzugt dann Mikroorganismen ein, wenn große Mengen Biomasse, Aminosäuren, Alkohol, Antibiotika, Enzyme, Hormone u.a. wirtschaftlich zu produzieren sind (Bild 2).

Könnten sich Bakterien ständig ungehindert alle

20 Minuten zweiteilen, würden sich 1000 g Bakterienmasse innerhalb von dreieinhalb Stunden auf rund eine Tonne vervielfachen. Nach sieben Stunden wären es bereits mehr als tausend, nach zehn Stunden dann fast eine Million Tonnen.

Die Voraussetzungen für eine solche Vermehrung sind allerdings unbegrenzt **optimale Wachstumsbedingungen** für jede einzelne Zelle. In der freien Natur kommt das praktisch nie vor, sonst wäre die Erde innerhalb kürzester Zeit von Mikroorganismen überwuchert.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Kultivierung von Zellen in einem **Bioreaktor**. Hier vermehren sich Mikroorganismen sowie pflanzliche und tierische Zellen einer Zellkultur ungehindert, solange alle Wachstumsbedingungen optimal eingestellt werden können. Diese sind vor allem:

- Nährmedium,
- Temperatur,
- pH-Wert und gegebenenfalls
- Sauerstoff.

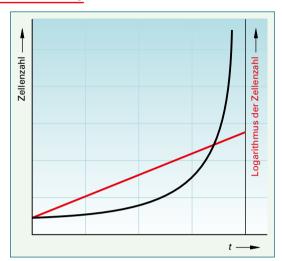


Bild 1: Exponentielle Vermehrung von Zellen



Bild 2: Aminosäureproduktion mit Bakterien

4.1.1 Nährmedium

Nährmedien, auch Kulturmedien genannt, sind die Nahrung für Mikroorganismen sowie für pflanzliche und tierische Zellen in der Zellkultur (**Bild 1**). Sie müssen **steril** sein und enthalten in wässriger Lösung die für Wachstum, Vermehrung und Zelldifferenzierung erforderlichen Bestandteile, wie eine

- Kohlenstoff- und Energiequelle (Substrat),
- Mineralstoffe (als Stickstoff-, Phosphor- und Schwefelquelle),
- Spurenelemente (Mineralstoffe im mg-Bereich) und
- Wachstumsfaktoren (z. B. Vitamine und Hormone sowie Aminosäuren bei Zellkulturmedien).
- Substrat. Die Kohlenstoff- und Energiequelle macht in der Regel den größten Anteil eines Nährmediums aus und wird als Substrat bezeichnet. Mikroorganismen und Säugerzellen bevorzugen vor allem Kohlenhydrate, wobei die direkt verstoffwechselbare Glukose (Traubenzucker) in mehr als 90 % aller Nährmedien verwendet wird (Tabelle 1, nächste Seite). Je nach Art verwerten Mikroorganismen auch andere Kohlenhydrate sowie Öle und Fette, Aminosäuren und Proteine, seltener Alkohole, Methan und Kohlenwasserstoffe (Tabelle 1).

Nährmedien unterscheiden sich in der Art ihrer Bestandteile sowie ihrem Verwendungszweck. Hinsichtlich der Bestandteile unterteilt man in komplexe und synthetische Nährmedien.

▶ Komplexe Nährmedien enthalten als Hauptquelle für Kohlenstoff, Stickstoff, Spurenelemente und Vitamine natürliche biologische Bestandteile, z. B. komplexe Kohlenhydrate, Pepton (enzymatisch abgebaute Proteine), Fleischextrakt (wässrige Auszüge aus enzymatisch abgebautem Muskelfleisch), Hefeextrakt, Maisquellwasser und Blutserum. Diese Medienbestandteile sind chemisch nicht definiert und unterliegen chargenspezifischen Schwankungen. Allerdings enthalten Komplexmedien als Komplettmedien alle notwendigen Bestandteile, sodass das Zellwachstum garantiert ist, aber nicht immer optimal. Komplexmedien sind einfach herzustellen und meist als Fertigmedien erhältlich.

Technische Nährmedien werden zur biotechnischen Produktion im Großmaßstab eingesetzt, sind komplex und sollen möglichst preiswert sein. Sie enthalten oft Bestandteile, die Nebenprodukte anderer Industrieproduktionen sind.

Melasse. Diese komplexe Kohlenhydratquelle ist eine der am häufigsten eingesetzten Substratquel-

Tabelle 1: Wichtige Kohlenstoffquellen				
Kohlenstoffquelle	Beispiel			
Kohlenhydrate (definiert)	Glukose, Saccharose (Rüben- zucker), Laktose (Milch- zucker), Stärke, Zellulose			
Kohlenhydrate (komplex)	Zuckerrübenmelasse, Malzextrakt, Molke			
Alkohole	Ethanol, Methanol, Glyzerin			
Öle Pflanzliche Öle und Fette				
Kohlenwasserstoffe Paraffin, Methan				



Bild 1: Angesetzte Nährmedien vor einem Großraumautoklaven

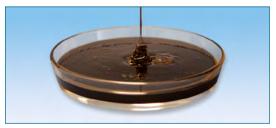


Bild 2: Melasse als Kohlenstoffquelle für die Fermentation im Bioreaktor

len für die Fermentation, insbesondere bei der Backhefeherstellung (**Bild 2**). Das preiswerte Nebenprodukt der Zuckerherstellung enthält neben Stickstoff, Spurenelementen und Vitaminen noch bis zu 50 % Saccharose, die allerdings stofflich gebunden ist und deshalb nicht mehr als verkaufsfähiger Kristallzucker gewonnen werden kann.

Maisquellwasser (Cornsteep-Lösung) ist eine komplexe Stickstoffquelle. Die hellgelbe Suspension ist besonders eiweiß-, mineralstoff- und vitaminreich. Maisquellwasser ist ein Nebenprodukt der industriellen Gewinnung von Maisstärke und wird vor allem bei der Antibiotikaherstellung durch Schimmelpilze als preiswerter Nährmediumsbestandteil verwendet.

> Synthetische Nährmedien (definierte Nährmedien). Ihre Zusammensetzung ist genau bekannt, da sie nur aus definierten chemischen Verbindungen bestehen, die auf den jeweiligen Mikroorganismus oder Säugerzellen zugeschnitten sind. Die durch aufwendige Medienoptimierung entwickelten Nährmedien enthalten als sogenannte Minimalmedien nur unverzichtbare Bestandteile und ermöglichen damit optimales Wachstum und optimale Produktbildung. Synthetische Nährmedien enthalten umso mehr Stoffe, je höher entwickelt der zu kultivierende Organismus ist. So sind die Nährmedienansprüche der Bakterien meist geringer als die von Pilzen (Tabelle 1). Am anspruchvollsten sind Säugerzellen, deren Zellkulturmedien aus vielen Einzelstoffen bestehen.

Die aufwendige Herstellung und die erforderliche Reinheit der Einzelstoffe machen synthetische Nährmedien teuer. Sie werden daher vor allem im biotechnischen Labor für Forschungs- und Entwicklungszwecke verwendet sowie für die großtechnische Produktion besonders wertvoller Produkte, z.B. von Pharmaproteinen (Insulin, monoklonale Antikörper, Impfstoffe u.Ä.).

Tabelle 1: Beispiele für Nährmedien – geeignet zur Kultivierung von Bakterien und Pilzen					
Nährmedientyp			Menge pro Liter		
Komplexes Nährmedium		Glukose	1,0	g	
für Bakterien		Hefeextrakt	3,0	g	
		Pepton	15,0	g	
		Natriumchlorid	6,0	g	
Technisches Nährmedium		Laktose	35,0	g	
für Pilze		Glukose	10,0	g	
		Maisquellwasser	35,0	g	
		Kaliumdihydrogenphosphat	4,0	g	
		Calciumcarbonat	10,0	g	
		Sojaöl	2,5	g	
Synthetisches Nährmedium	Kohlenstoff- und Energieguelle	Glukose	10,0	g	
für Bakterien	Mineralstoffe	Ammoniumsulfat	1,0	g	
	(als Stickstoff-, Phosphor-	Kaliumdihydrogenphosphat	1,0	g	
	und Schwefelguelle)	Magnesiumsulfat	0,2	g	
	Mineralstoffe im mg-Bereich	Calciumchlorid	10,0	mg	
	(Spurenelemente)	Eisen(II)-sulfat	10,0	mg	
Synthetisches Nährmedium	Kohlenstoff- und Energieguelle	Glukose	10,0	g	
für Pilze	Mineralstoffe	Ammoniumsulfat	2,0	g	
	(als Stickstoff-, Phosphor-	Ammoniumhydrogenphosphat	0,64	_	
	und Schwefelquelle)	Kaliumchlorid	0,3	g	
	·	Magnesiumsulfat	0,15	g	
		Calciumchlorid	0,09	g	
	Mineralstoffe im mg-Bereich	Kupfersulfat	0,8	mg	
	(Spurenelemente)	Zinksulfat	3,0	mg	
		Mangansulfat	3,5	mg	
		Eisen(III)-chlorid	4,8	mg	
	Wachstumsfaktoren	Inosit	20,0	mg	
	(Vitamine und Hormone)	Pantothensäure	10,0	mg	
		Vitamin B ₁	2,0	mg	
		Vitamin B ₆	0,5	mg	
		Biotin (Vitamin H)	0,01	mg	

Entsprechend dem Verwendungszweck unterscheidet man:

- ▶ Universalnährmedien, die zur Isolierung einer Vielzahl unterschiedlicher Mikroorganismen verwendet werden können und wie die bekannte Standard I-Nährbouillon als Komplexmedium lediglich Glukose, Pepton, Hefeextrakt und Natriumchlorid enthalten.
- Nährböden. Das sind durch Agar verfestigte Nährmedien wie beispielsweise die Standard I-Nährbouillon oder Blutmedium. Agar ist ein aus Meeresalgen gewonnenes Geliermittel, das von den Mikroorganismen selbst nicht als Nährstoff verwertet werden kann. Nährböden werden häufig zu Analysezwecken wie der Keimzahlbestimmung verwendet (Bild 1 und Seite 132).



Bild 1: Nährböden in Form von Nähragarplatten, wie z.B. Blutagarplatten

- ▶ Spezialnährmedien, die jeweils besonderen Zwecken dienen: Selektivmedien enthalten spezifische Nährstoffe, die nur von bestimmten Mikroorganismenarten verwertet werden können und andere Mikroorganismenarten im Wachstum hemmen. Differenzierungsmedien ermöglichen die Unterscheidung unterschiedlicher Mikroorganismenarten. Weitere Nährmedientypen dienen dem Nachweis, der Anreicherung oder der Aufbewahrung von Mikroorganismen und Zellen.
- Fermentationsnährmedien dienen als technische oder synthetische Medien zur Kultivierung von Mikroorganismen und Zellen zu Forschungszwecken im biotechnischen Labor sowie für die biotechnische Produktion im Betrieb (Bild 2).

Synthetische Fermentationsnährmedien werden nach Möglichkeit für jede Mikroorganismenart oder jeden Zelltyp einer Zellkultur speziell entwickelt, wobei die erforderliche Konzentration jedes einzelnen Nährmedienbestandteils im Rahmen der Medienoptimierung durch umfangreiche Versuche ermittelt wird. Bei der großtechnischen Produktion der als Geschmacksverstärker verwendeten Glutaminsäure durch das Bakterium Corynebacterium glutamicum zeigt sich beispielhaft die Abhängigkeit der Produktbildung von der Konzentration des Wachstumsfaktors Biotin (Bild 3). Entsprechende Abhängigkeiten ergeben sich praktisch für alle Medienbestandteile.

Die Substratkonzentration, meist von Glukose, wird für die Fermentation im Bioreaktor vorteilhaft so gewählt, dass sie die wachstumsbegrenzende (limitierende) Größe ist. Ist das Substrat verbraucht, endet das Wachstum, obwohl alle anderen Nährstoffbestandteile noch in geringem Überschuss vorhanden sind (Seite 177).



Bild 2: Fermentationsnährmedientanks in der biotechnischen Produktion

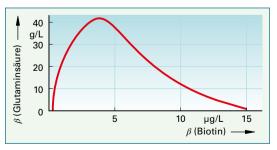


Bild 3: Einfluss der Konzentration eines Nährmedienbestandteils auf die Produktion

5 Bioreaktoren

- ▶ Bioreaktoren sind Behälter mit Nährmedien zur Züchtung von Mikroorganismen sowie pflanzlichen und tierischen Zellen (Zellkultur) unter kontrollierten Bedingungen. Bioreaktoren werden häufig auch als Fermenter bezeichnet, weil in ihnen die Fermentation stattfindet. Damit bezeichnet man die biotechnische Umsetzung durch den Stoffwechsel der Zellen, wodurch das gewünschte Produkt hergestellt wird. Bioprozesse in Bioreaktoren ermöglichen unter anderem (Bild 1):
- die Produktion unterschiedlicher Zellen,
- die Produktion der verschiedensten Stoffe des Primär- und Sekundärstoffwechsels von Zellen,
- Stoffumwandlungen organischer Stoffe durch Zellen (Biotransformationen) oder isolierte Enzyme (Biokatalyse), die chemisch sonst nicht möglich oder sehr teuer sind und
- den Abbau umweltbelastender Stoffe durch Zellen in den biologischen Stufen der Abwasserreinigungsanlagen.

Einsatzstoffe	Bioprozess im Bioreaktor	Bioprodukte	Produktionsorganismen
Produktion von Zellen als Zell- bzw. Biomasse	Backhefe, Futterhefe	Hefen (Pilze)	
	Starterkulturen, z.B. für Käse- und Milchprodukte	Bakterien, Pilze	
		Einzellerprotein (SCP = single cell protein) zur Ernährung	Bakterien
	Produktion von Zellstoff-	Ethanol (Bier, Wein)	Hefen (Pilze)
	wechselprodukten	Treibstoffalkohol (Biosprit)	Hefen (Pilze)
		Methan (Bestandteil von Biogas)	Bakterien, Archaeen
		Wasserstoff	Algen, Bakterien
		Essigsäure	Bakterien
		Aminosäuren	Bakterien
		Zitronensäure	Bakterien
Nährmedium -		Milchsäure	Bakterien
ivanrmedium ~		Antibiotika	Pilze, Bakterien
Zellen -		Vitamine	Bakterien
Zellen		Enzyme	Bakterien, Pilze
		Aromastoffe	Bakterien, Pilze
		Antikörper	Säugerzellen
		körpereigene Wirkstoffe (Pharmaproteine)	Bakterien, Säugerzellen
		Lösemittel (Butanol, Aceton)	Bakterien
		Polysaccharide (Dextran, Xanthan)	Bakterien
	Stoffumwandlung durch den Zellstoffwechsel	Sexualhormone und entzündungshem- mende Wirkstoffe aus natürlichen Grund- strukturen (Steroide)	Bakterien, Pilze
	Stoffabbau durch den Zellstoffwechsel	Abwasserreinigung: biologische Klärstufe, Hochbiologiesysteme	Bakterien, Pilze, Einzeller

Bild 1: Beispiele für Bioprodukte, die man in Bioreaktoren im Rahmen der roten und weißen Biotechnik herstellen kann

Entsprechend ihrem Einsatz in Forschung und Entwicklung oder in der industriellen Produktion und in Abhängigkeit vom Bioprodukt kommen Bioreaktoren in einer Vielzahl von Konstruktionen und Größen vor.

Mikrobioreaktoren haben ein Fassungsvermögen von nur wenigen µL. Abwasserbioreaktoren als die größten Bioreaktoren können ein Flüssigkeitsvolumen von mehr als 20000 m³ erreichen (**Tabelle 1**).

Tabelle 1: Flüssigkeitsvolumen von Bioreaktoren			
Einsatzbereich	Volumenbereich in m ³		
Labor	0,001 0,01		
Technikum	0,01 0,3		
Industrielle Produktion			
rekombinante Proteine	0,5 80		
technische Enzyme,	80 1500		
Antibiotika, Aminosäuren,			
Ethanol, Backhefe			
Abwasserreinigung	> 20000		

5.1 Bioreaktoren – Aufgaben und Anforderungen

Bioreaktoren sollen gewährleisten, dass die Bioprozesse mit größtmöglicher Sicherheit für Prozess und Umwelt und mit der größtmöglichen Produktivität ablaufen. Deshalb müssen für die Produktionsorganismen in den Bioreaktoren jeweils optimale Produktionsbedingungen eingestellt werden (Bild 1). Folgende allgemeinen Anforderungen an Bioreaktoren sind dabei von besonderer Bedeutung:

- Anlagensterilität. Das Eindringen von Fremdkeimen muss durch eine entsprechende Steriltechnik verhindert werden, damit sich nur der Produktionsorganismus im Bioreaktor befindet (monoseptischer Betrieb),
- Materialauswahl. Weder die Produktionsorganismen noch die Produktbildung bzw. Produkte dürfen durch die verwendeten Materialien beeinträchtigt werden,

Bild 1: Bioreaktoranlage in der Pharmaproduktion unter GMP-Bedingungen

- Durchmischung des Bioreaktorinhaltes. Es muss gewährleistet werden, dass alle Zellen zu jedem Zeitpunkt und an jedem Ort im Bioreaktor optimal mit Nährstoffen und bedarfsweise Sauerstoff versorgt und von Abfallstoffen entsorgt werden,
- Begasung mit Luft. Die überwiegende Zahl der aeroben Produktionsmikroorganismen hat einen hohen Sauerstoffbedarf. Ebenso benötigen tierische Zellen in Zellkulturen Sauerstoff,
- Temperierung. Durch Heizen oder Kühlen müssen die erforderlichen Kultivierungstemperaturen wegen des oft eng begrenzten optimalen Temperaturbereichs exakt eingehalten werden und
- pH-Wert-Kontrolle. Durch Säure- oder Laugenzugabe müssen ebenfalls die erforderlichen pH-Werte wegen des oft eng begrenzten optimalen pH-Wert-Bereichs exakt eingehalten werden.

Möglichkeiten zur kontinuierlichen Messung und Regelung der wichtigsten Prozessgrößen sind Stand der Technik, genauso wie die Möglichkeit, neben Luft oder Sauerstoff auch andere Stoffe während des laufenden Prozesses steril nachzudosieren. Der hohe Automatisierungsgrad moderner Bioreaktoren ermöglicht damit die Führung der Bioprozesse über längere Zeit.

Entsprechend den Anforderungen in Forschung, Entwicklung oder Produktion sowie den unterschiedlichen Bedürfnissen der zu kultivierenden Mikroorganismen und Zellen werden verschiedene Bioreaktortypen eingesetzt (Bild 2). Wichtige Beispiele sind:

- Rührkessel-Bioreaktor (Seite 136)
- Blasensäulen-Bioreaktor und Airlift-Bioreaktor (Seite 169)
- Festbett-Bioreaktor und Fließbett-Bioreaktor (Seite 170)

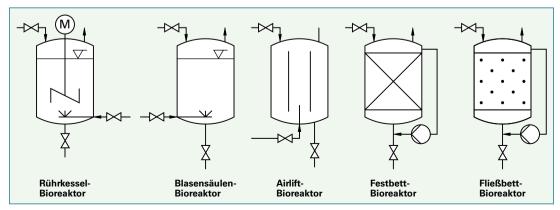


Bild 2: Beispiele für verschiedene Bioreaktortypen

5.2 Rührkessel-Bioreaktoren

▶ Rührkessel-Bioreaktoren bzw. Rührkesselfermenter sind der wichtigste Bioreaktortyp und werden zu mehr als 90 % im Labor-, Technikums- und Produktionsbereich eingesetzt. Rührkessel-Bioreaktoren leiten sich technisch von den in der chemischen Verfahrenstechnik entwickelten und häufig verwendeten Rührkesselreaktoren (engl. Stirred Tank Reactor STR) ab. Entsprechend ihrer speziellen Verwendung in der Biotechnik zeigen sie aber eine Reihe eigener Konstruktionsmerkmale.

Rührkessel-Bioreaktoren gibt es in allen Größen. Im Laborbereich haben sie bis 10 L oder mehr Nutzvolumen. Pilotanlagen im Technikum reichen bis zu 3000 L. Im Produktionsbereich beträgt das Fassungsvermögen gerührter Bioreaktoren zur Massenproduktion von Antibiotika oder organischen Säuren durch Mikroorganismen bis zu 500 m³ und mehr.

Rührkessel-Bioreaktoren zeichnen sich besonders aus durch:

- flexible Einsatzmöglichkeiten durch Verwendung unterschiedlicher Rührertypen,
- Eignung für Bioprozesse mit Zellen, die Sauerstoff benötigen,
- Eignung für Fermentationen mit höher bis hochviskosen Fermentationsmedien und
- lange Tradition im Einsatz, daher sind umfangreiche Auslegungsunterlagen verfügbar.

5.3 Aufbau eines Rührkessel-Bioreaktors

Unabhängig von der Bioreaktorgröße ist der prinzipielle Aufbau von Rührkessel-Bioreaktoren weitgehend gleich und soll am Beispiel eines Bioreaktors erläutert werden, der gleichermaßen für Forschung, Prozessentwicklung und Produktion im kleinen Maßstab eingesetzt werden kann (Bild 1).

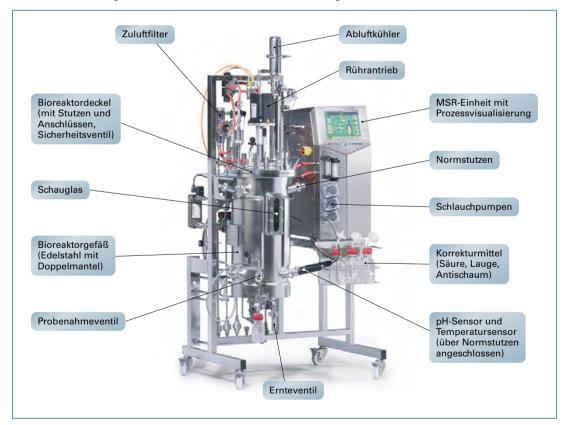


Bild 1: Kompakter Bioreaktor mit 20 L Arbeitsvolumen (an Ort und Stelle sterilisierbar)

Rührkessel-Bioreaktoren gelten als Standard in der biotechnischen Produktion.

5.3.1 Komponenten eines Rührkessel-Bioreaktors

▶ Bioreaktorkessel. Im Labor zur Forschung und Ausbildung eingesetzte Rührkessel-Bioreaktoren haben im Allgemeinen ein Nutzvolumen zwischen 1 L und 10 L. Der Bioreaktorkessel ist aus Glas (Borosilikatglas), während der Bioreaktordeckel aus Edelstahl besteht und meist als Flachdeckel ausgebildet ist (Bild 1).

Größere Rührkessel-Bioreaktoren in Technikum und Betrieb besitzen aus Sicherheitsgründen zylindrische Reaktorkessel aus Edelstahl mit einem Klöpper-, Korbbogen- oder Halbkugelboden (Rundboden), in dem sich ein Bodenablassventil als Ernteventil befindet (Bild 2).

Für die Kultivierung von Mikroorganismen mit robusten Zellwänden ist ein Höhen/Durchmesser-Verhältnis des Bioreaktorkessels von 3:1 typisch (Bild 2). Ein Höhen/Durchmesser-Verhältnis von 2:1 bis 1:1 ist dagegen für die Kultivierung von Säugerzellen üblich, da diese Zellen wegen des Fehlens von Zellwänden sehr empfindlich sind und keine hohen hydrostatischen Drücke vertragen.

In der Regel dient ein **Doppelmantel** als Einrichtung für das Heizen, Kühlen und Sterilisieren mit Wasser und Dampf.

Zur optimalen Durchmischung sind auf der Rührerwelle z. B. drei 6-Blatt-Scheibenrührer übereinander angebracht. Prallbleche an der Kesselinnenwand erhöhen als Stromstörer die Turbulenz und unterstützen die Durchmischung.

Der Rührantrieb ist über eine **Keilriemenscheibe** als Untenantrieb ausgeführt. Dadurch ist der Deckelbereich frei nutzbar und die Deckelmontage wird vereinfacht. Außerdem wird die Rührwellendichtung, eine meist doppelt wirkende **Gleitringdichtung**, gekühlt und zusätzlich geschont, weil das Schwingungsverhalten eines Untenantriebs eher unproblematisch ist. Alternativ sind **Magnetrührwerke** ohne erforderliche Abdichtung im Einsatz.

Kleinere Bioreaktoren aus Glas, sowie sehr große Bioreaktoren, besitzen dagegen häufig einen Obenantrieb, was u.a. den Vorteil hat, dass bei Leckagen an der Gleitringdichtung der Bioreaktorinhalt nicht ausläuft.

Zur Begasung wird bei aeroben Bioprozessen die Sterilluft über die **Zuluftleitung** eingeleitet und strömt über den **Begasungsring** mit Bohrungen von etwa 1 mm unterhalb des untersten Rührers in die Flüssigkeit ein.



Bild 1: Laborbioreaktor mit Glasbehälter

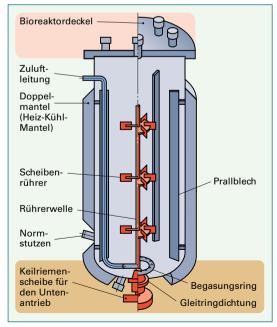


Bild 2: Schema eines Edelstahl-Bioreaktorkessels (entsprechend Bild 1, vorhergehende Seite)

4.3 Umweltschutz und Arbeitsschutz

Umweltschutzmaßnahmen sollen die Menschen vor gefährlichen Stoffen schützen, die durch die menschliche Tätigkeit in die Umwelt gelangen und über die Luft, die Lebensmittel und das Trinkwasser wieder zum Menschen zurückkommen und durch Einatmen, Verschlucken und durch die Haut in den Körper aufgenommen werden können (Bild 1).

▶ Arbeitsschutz. Am Arbeitsplatz sind Tätigkeiten mit gefährlichen Stoffen ein gesundheitliches Risiko, weil die Beschäftigten einer andauernden Einwirkung dieser Stoffe ausgesetzt sind. Daher sehen u.a. das Arbeitsschutzgesetz, das Chemikaliengesetz mit dazugehöriger Gefahrstoffverordnung GefStoffV im Sinne eines umfassenden Arbeitsschutzes besondere Regelungen vor.

Dazu gehören u.a. technische Schutzmaßnahmen, organisatorische Maßnahmen, persönliche Schutzausrüstungen, Arbeitsschutzvorschriften, Betriebsanweisungen und Grenzwerte für die Luft am Arbeitsplatz.

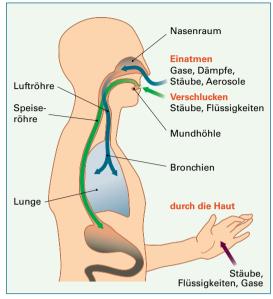


Bild 1: Aufnahme von Stoffen in den Körper

- ▶ Gefährliche Stoffe oder Zubereitungen können gemäß GefStoffV bei Einatmen, Verschlucken oder Aufnahme über die Haut folgende Stoffeigenschaften haben. Sie sind:
- sehr giftig oder giftig (toxisch), wenn sie in (sehr) geringer Menge zum Tod führen oder akute oder chronische Gesundheitsschäden verursachen können,
- gesundheitsschädlich, wenn sie zum Tod führen oder akute oder chronische Gesundheitsschäden verursachen können,
- ätzend, wenn sie lebende Gewebe bei Kontakt zerstören können,
- reizend, wenn sie ohne ätzend zu sein bei kurzzeitigem, länger andauerndem oder wiederholtem Kontakt mit Haut oder Schleimhaut eine Entzündung hervorrufen können,
- sensibilisierend, wenn sie Überempfindlichkeitsreaktionen hervorrufen k\u00f6nnen, sodass bei k\u00fcnftiger Exposition gegen\u00fcber dem Stoff oder der Zubereitung charakteristische St\u00f6rungen auftreten,
- krebserzeugend (kanzerogen), wenn sie Krebs hervorrufen oder die Krebshäufigkeit erhöhen können (Seite 35),
- fortpflanzungsgefährdend (reproduktionstoxisch), wenn sie nicht vererbbare Schäden der Nachkommenschaft hervorrufen oder die Häufigkeit solcher Schäden erhöhen (fruchtschädigend) oder
 wenn sie eine Beeinträchtigung der männlichen oder weiblichen Fortpflanzungsfunktionen oder der
 Fortpflanzungsfähigkeit zur Folge haben können (fruchtbarkeitsgefährdend),
- erbgutverändernd (mutagen), wenn sie vererbbare genetische Schäden zur Folge haben oder deren Häufigkeit erhöhen können (Seite 35).
- ▶ Kennzeichnung von Gefahrstoffen. Sie erfolgt nach dem weltweiten GHS (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals), das in der EU durch die CLP-Verordnung über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (Regulation on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures) umgesetzt ist. So ist eine Gefahrstoffverpackung mit der chemischen Bezeichnung des Stoffes, dem Handelsnamen oder der Bezeichnung der Zubereitung, entsprechenden Gefahrenpiktogrammen, Gefahrenhinweisen (H-Sätze), Sicherheitshinweisen (P-Sätze) sowie der Herstellerangabe zu kennzeichnen (Bild 1, nachfolgende Seite).

▶ Vorsorgender Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz. Die GefStoffV legt für gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe Luftgrenzwerte als Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW) und biologische Grenzwerte (BGW) für die höchstzulässige Belastung am Arbeitsplatz in den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS 900) fest. Diese Werte gelten für Stoffe, für die es nach dem Stand der Technik, Arbeitsmedizin und Arbeitshygiene eine ungefährliche Schwellendosis gibt. Sie sind auf eine täglich achtstündige Einwirkung bei einer Wochenarbeitszeit von 40 Stunden (in Schichtbetrieb 42 Stunden) bezogen und gelten für gesunde Personen im erwerbsfähigen Alter.



Bild 1: GHS-Piktogramm für Gesundheitsgefahr

- ▶ AGW (Arbeitsplatzgrenzwert). Er ist der Grenzwert für die zeitlich gewichtete durchschnittliche Konzentration eines Stoffes als Gas, Dampf oder Schwebstoff in der Luft am Arbeitsplatz in Bezug auf den oben genannten Zeitraum. Er gibt an, bei welcher Konzentration eines Stoffes akute oder chronische schädliche Auswirkungen auf die Gesundheit im Allgemeinen nicht zu erwarten sind. Da diese Definition des AGW weitgehend dem bis 2005 gültigen MAK-Wert (Maximale Arbeitsplatz-Konzentration) entspricht, sind die Einzelwerte meist ähnlich geblieben. Für mehr als 350 Gefahrstoffe bestehen derzeit Arbeitsplatzgrenzwerte (Tabelle 1).
- ▶ BGW (Biologischer Grenzwert). Diese Werte gelten für Stoffe, die vom Beschäftigten durch Einatmen, über die Haut oder durch Verschlucken aufgenommen werden und dann im biologischen Material (z.B. Blut oder Urin) durch Untersuchungen, das sogenannte Biomonitoring, nachweisbar sind. Definiert wird der BGW als der Grenzwert für die toxikologisch-arbeitsmedizinisch abgeleitete Konzentration

eines Stoffes im entsprechenden biologischen Material, bei dem im Allgemeinen die Gesundheit eines Beschäftigten noch nicht beeinträchtigt wird. Mit dieser Definition entspricht der BGW weitgehend dem bis 2005 gültigen BAT-Wert (Biologischer Arbeitsstoff-Toleranzwert), sodass die bisherigen Werte übernommen wurden (Tabelle 1). Werden Arbeitsplatzgrenzwerte oder biologische Grenzwerte trotz entsprechender technischen Schutzmaßnahmen überschritten, ist für die Beschäftigten eine persönliche Schutzausrüstung vorgeschrieben.

Die für krebserzeugende Stoffe bisher festgelegten TRK-Werte (Technische Richt-Konzentration) existieren nicht mehr und dienen lediglich bei aktuellen Überwachungs- und Beobachtungsverfahren zur Orientierung. Sie werden zukünftig durch risikobasierte AGW für krebserzeugende Arbeitsstoffe ersetzt. Für einige, wie Acrylamid, Asbest und Ethylenoxid existieren sie bereits, allerdings noch ohne Rechtsverbindlichkeit.

Hinweis: Die Werte bieten für gesundheitlich Vorgeschädigte und Jugendliche unter Umständen keinen sicheren Schutz. Sie gelten außerdem nicht bei kombinierter Einwirkung mehrerer gesundheitsschädlicher Stoffe.

Tabelle 1: AGW und BGW 2020 (Beispiele)				
Gefahrstoff	AGW (mg/m ³)	BGW		
Aceton	1200,0	80 mg/L (Urin)		
Allg. Staubgrenzwert	1,25			
Anilin		0,5 mg/L (Urin)		
Ameisensäure	9,5			
Blei		150 μg/L (Blut)		
Chlor	1,5			
Diethylether	1200,0			
1,4 Dioxan	73,0			
Essigsäure	25,0			
Ethanol	380,0			
Formaldehyd	0,37			
n-Hexan	180,0	5 mg/L (Urin)		
Kohlenstoffdioxid	9100,0			
Kohlenstoffmonooxid	35,0	5 % (Blut)		
Methanol	130,0	15 mg/L (Urin)		
Natriumazid	0,2			
Polyethylenglykol	200,0			
Propan-2-ol	500,0			
Quecksilber (anorg).	0,02	25 μg/g (Urin)		
Salpetersäure	2,6			
Schwefeldioxid	2,7			
Toluol	190,0	600 μg/L (Urin)		
Trichlormethan	2,5			
Xylol	220,0	2000 mg/L		
		(Urin)		

Die strikte Beachtung von Betriebsanweisungen ist der beste Schutz vor den Gefahren gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe.