

# Einführung in Biotechnologie

## Literatur:

Antranikian: Angewandte Mikrobiologie, Springer 2006

Renneberg: Biotechnologie für Einsteiger, Elsevier Spektrum, 2006

Thieman, Paladino: Biotechnologie, Pearson Studium, 2007

Brock: Mikrobiologie, Pearson Studium, 2007

## Unterlagen:

# Biotechnologie

**Produkte mit lebenden Organismen  
oder Teilen davon herstellen**

## **Enge Definition**

- ◆ Industrielle Produktion in Bioreaktoren - Mikroorganismen, Zellkulturen
- ◆ Enzymtechnik und Biokatalyse - Enzyme

## **Breitere Definition**

- ◆ Spezifisch modifizierte Pflanzen und Tiere als Produzenten (Transgene Organismen)
- ◆ Direkte medizinische Applikationen (z.B. Gentherapie)
- ◆ Bio-Nanostrukturen

**B  
I  
O  
T  
E  
C  
H  
N  
O  
L  
O  
G  
I  
E**

**Molekulare Biotechnologie**  
Engineering von Biosystemen

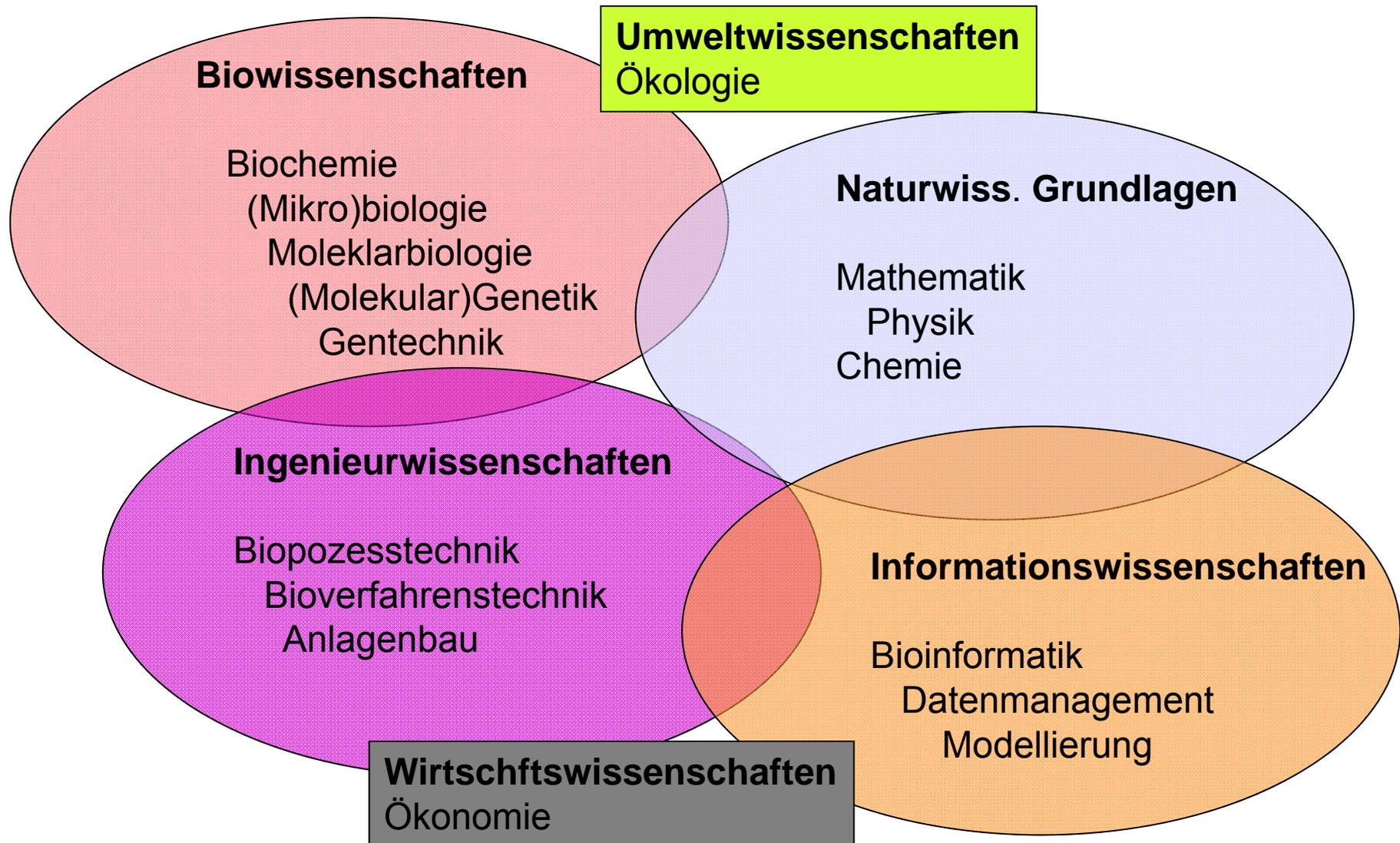
Zell-Engineering  
Stoffwechsel-Engineering  
Protein-Engineering

Integrierte Vernetzung

**Bioprozesstechnik**  
Engineering von Produktionsverfahren

Prozessentwicklung  
Reaktionstechnik  
Aufarbeitungstechnik

# Biotechnologie – Interdisziplinäre Wissenschaft



Innovationsfelder  
Moderner Technologien

Elektronik

Software

Neue Materialien

Nanotechnologie

Bio-  
techno-  
logie

Biotechnologie - Frontfelder

Gentechnik

Zellkultur- & Zellfusionstechnik

Bioprozesstechnik

Biosensorik

Strukturbiologie  
Mol. Modeling

Gen-  
Prote- **omics**  
Metabol-

**Systems  
Biotechnology**

Zell-  
Protein- **Engineering**

**Synthetic  
Biotechnology**

# Geschichte der Biotechnologie

- **Prä-Pasteur-Ära**(vor 1865)

- unbewusste Nutzung v. Mikroorganismen bei der Nahrungsmittelherstellung [Gärungen –Wein, Bier, Essig, Käse, Sauerteig, Joghurt]

- **Pasteur-Ära**(1865 –1940)

- Verfahren ohne absoluten Ausschluss von Fremdkeimen [Fermentation (Butanol, Aceton, Ethanol), Oberflächenkultur (Citronensäure), Biomasse (Bäckerhefe, Futterhefe)]

- **Antibiotika-Ära**(1940 –1960)

- Steriltechnik und selektionierte Stämme [Submers-Verfahren (Penicillin), tier. Zellkultur [Virus-Impfstoffe], Biotransformationen [Cortison, Vitamin B12, Ovulationshemmer]]

- **Post-Antibiotika-Ära**(1960 –1975)

- Bioprozesstechnik (Reaktorform, Immobilisierung, Steuerung, etc) [SCP, Enzyme (Waschmittel), Polysaccharide (Xanthan), Fructosesirup, Biogas, Industrie-Alkohol]

- **Neue Biotechnologie**(1975 -)

- Gezielte Optimierung von Biosystemen [Hybridoma-Technik (MAK); rekombinante Proteine (Insulin, Impfstoffe), etc.]

## Klassische Biotechnologie



Empirie  
Gefühl  
Erfahrung

# Geschichte der Biotechnologie

## •Prä-Pasteur-Ära(vor 1865)

- unbewusste Nutzung v. Mikroorganismen bei der Nahrungsmittelherstellung [Gärungen –Wein, Bier, Essig, Käse, Sauerteig, Joghurt]

## •Pasteur-Ära(1865 –1940)

- Verfahren ohne absoluten Ausschluss von Fremdkeimen [Fermentation (Butanol,Aceton, Ethanol), Oberflächenkultur (Citronensäure), Biomasse (Bäckerhefe, Futterhefe)]

## •Antibiotika-Ära(1940 –1960)

- Steriltechnik und selektionierte Stämme [Submers-Verfahren (Penicillin), tier. Zellkultur [Virus-Impfstoffe], Biotransformationen [Cortison, Vitamin B12, Ovulationshemmer]]

## •Post-Antibiotika-Ära(1960 –1975)

- Bioprozesstechnik (Reaktorform, Immobilisierung, Steuerung, etc) [SCP, Enzyme (Waschmittel), Polysaccharide (Xanthan), Fructosesirup, Biogas, Industrie-Alkohol]

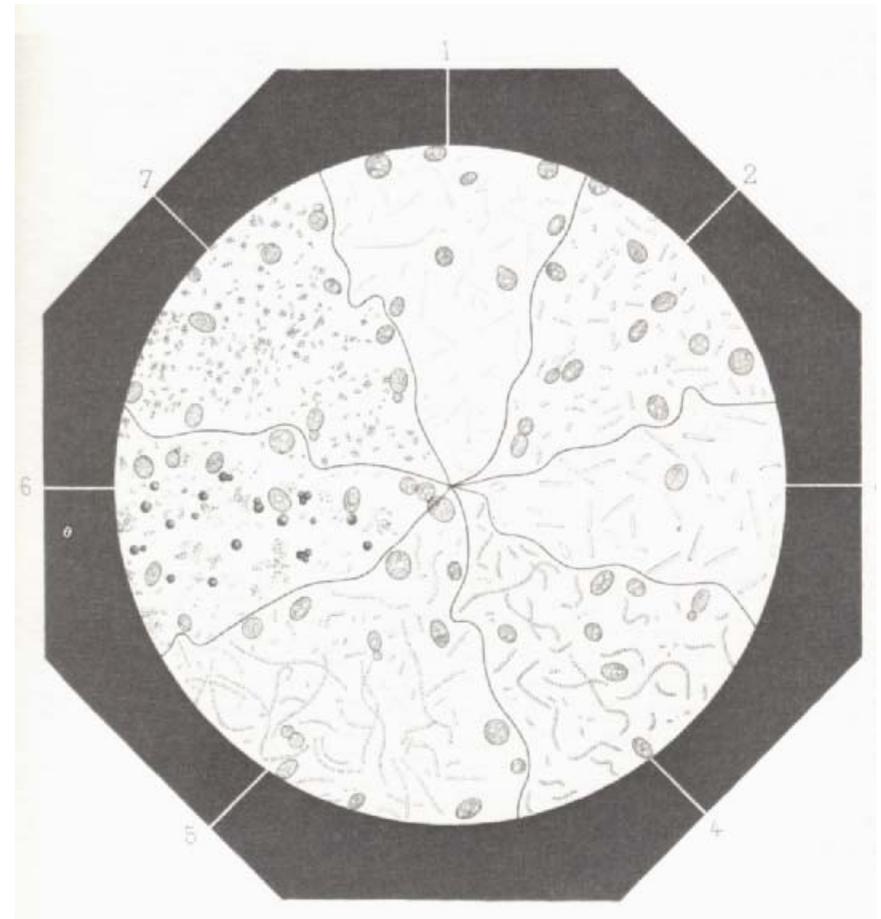
## •Neue Biotechnologie(1975 -)

- Gezielte Optimierung von Biosystemen [Hybridoma-Technik (MAK); rekombinante Proteine (Insulin, Impfstoffe), etc.]

**Luis Pasteur**  
1884



**Mikroorganismen  
sind für Gärvorgänge  
verantwortlich**



# Geschichte der Biotechnologie

## •Prä-Pasteur-Ära(vor 1865)

– unbewusste Nutzung v. Mikroorganismen bei der Nahrungsmittelherstellung [Gärungen –Wein, Bier, Essig, Käse, Sauerteig, Joghurt]

## •Pasteur-Ära(1865 –1940)

– Verfahren ohne absoluten Ausschluss von Fremdkeimen [Fermentation (Butanol,Aceton, Ethanol), Oberflächenkultur (Citronensäure), Biomasse (Bäckerhefe, Futterhefe)]

## •Antibiotika-Ära(1940 –1960)

– Steriltechnik und selektionierte Stämme [Submers-Verfahren (Penicillin), tier. Zellkultur [Virus-Impfstoffe], Biotransformationen [Cortison, Vitamin B12, Ovulationshemmer]]

## •Post-Antibiotika-Ära(1960 –1975)

– Bioprozesstechnik (Reaktorform, Immobilisierung, Steuerung, etc) [SCP, Enzyme (Waschmittel), Polysaccharide (Xanthan), Fructosesirup, Biogas, Industrie-Alkohol]

## •Neue Biotechnologie(1975 -)

– Gezielte Optimierung von Biosystemen [Hybridoma-Technik (MAK); rekombinante Proteine (Insulin, Impfstoffe), etc.]

**Gregor Mendel**  
Um 1860



**Gene bestimmen  
Eigenschaften  
von Lebewesen**



# Geschichte der Biotechnologie

- **Prä-Pasteur-Ära**(vor 1865)
  - unbewusste Nutzung v. Mikroorganismen bei der Nahrungsmittelherstellung [Gärungen –Wein, Bier, Essig, Käse, Sauerteig, Joghurt]
- **Pasteur-Ära**(1865 –1940)
  - Verfahren ohne absoluten Ausschluss von Fremdkeimen [Fermentation (Butanol, Aceton, Ethanol), Oberflächenkultur (Citronensäure), Biomasse (Bäckerhefe, Futterhefe)]
- **Antibiotika-Ära**(1940 –1960)
  - Steriltechnik und selektionierte Stämme [Submers-Verfahren (Penicillin), tier. Zellkultur [Virus-Impfstoffe], Biotransformationen [Cortison, Vitamin B12, Ovulationshemmer]]
- **Post-Antibiotika-Ära**(1960 –1975)
  - Bioprozesstechnik (Reaktorform, Immobilisierung, Steuerung, etc) [SCP, Enzyme (Waschmittel), Polysaccharide (Xanthan), Fructosesirup, Biogas, Industrie-Alkohol]
- **Neue Biotechnologie**(1975 -)
  - Gezielte Optimierung von Biosystemen [Hybridoma-Technik (MAK); rekombinante Proteine (Insulin, Impfstoffe), etc.]

## Marktzahlen einiger Bioprodukte (um 2000)

	~ Menge	~ Wert	
Bier	130000000 t	330 Mrd. €	2,50 €/kg
Ethanol	19000000 t	5 Mrd. €	0,25 €/kg
Glutaminsäure	800000 t	800 Mio. €	1,00 €/kg
Citronensäure	700000 t	700 Mio. €	1,00 €/kg
Waschmittelprotease	100000 t	300 Mio. €	3,00 €/kg
Cephalosporine	-	4,5 Mrd. €	-
Aspartam	10000 t	50 Mio. €	5,00 €/kg
Tetracycline	5000 t	250 Mio. €	50,00 €/kg
Insulin	8 t	1 Mrd. €	125,00 €/kg
Erythropoietin	-	4 Mrd. €	-

## Biotechnologie in Österreich

<b>Firma</b>	<b>Größe</b>	<b>Produkte</b>
Baxter AG	>500	Impfstoffe, therap. Proteine
Berglandmilch	>500	Sauermilchprodukte, Käse
Biochemie Sandoz	>500	Antibiotika, Alkaloide, rekomb. Proteine
Boehringer Ingelheim	>500	rekomb. Proteine; Gentherapeutika
Brau Union	>500	Bier (8 Braustätten)
Altec Umwelttechnik	> 50	biol. Bodensanierung
Centeon Pharma	> 50	Blutplasmaderivate
Jungbunzlauer	> 50	Citronensäure, Xanthan
STAMAG	> 50	Braumalz; Backhilfsmittel
Vogelbusch	> 50	Apparatebau
Intercell	> 100	Gentechnische Impfstoffe



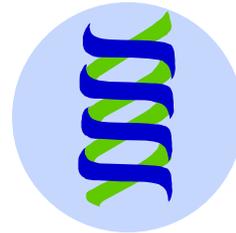
Bier (Österreich) 8,6 Mio hl; 960 Mio €; 115 Braustätten; 4400 Beschäft.

Wein (Österreich) 2,2 Mio hl; 35.000 Betriebe

# Moderne Biotechnologie → Knowledge based

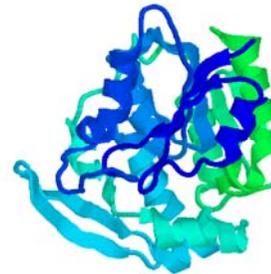
## ORGANISMEN

**GENOM**

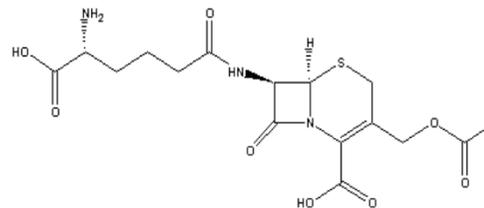


**TRANSKRIPOM**

**PROTEOM**



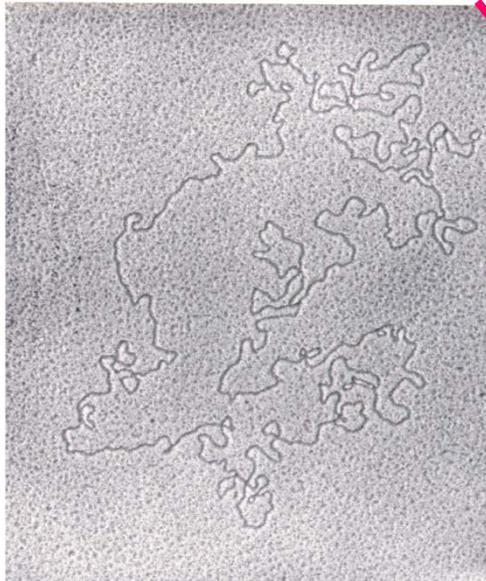
**METABOLOM**



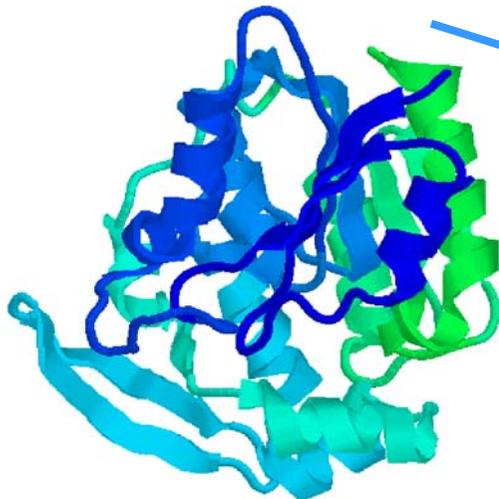
Moderne Biotechnologie → Knowledge based

# Die Zellfabrik

Steuerzentrale

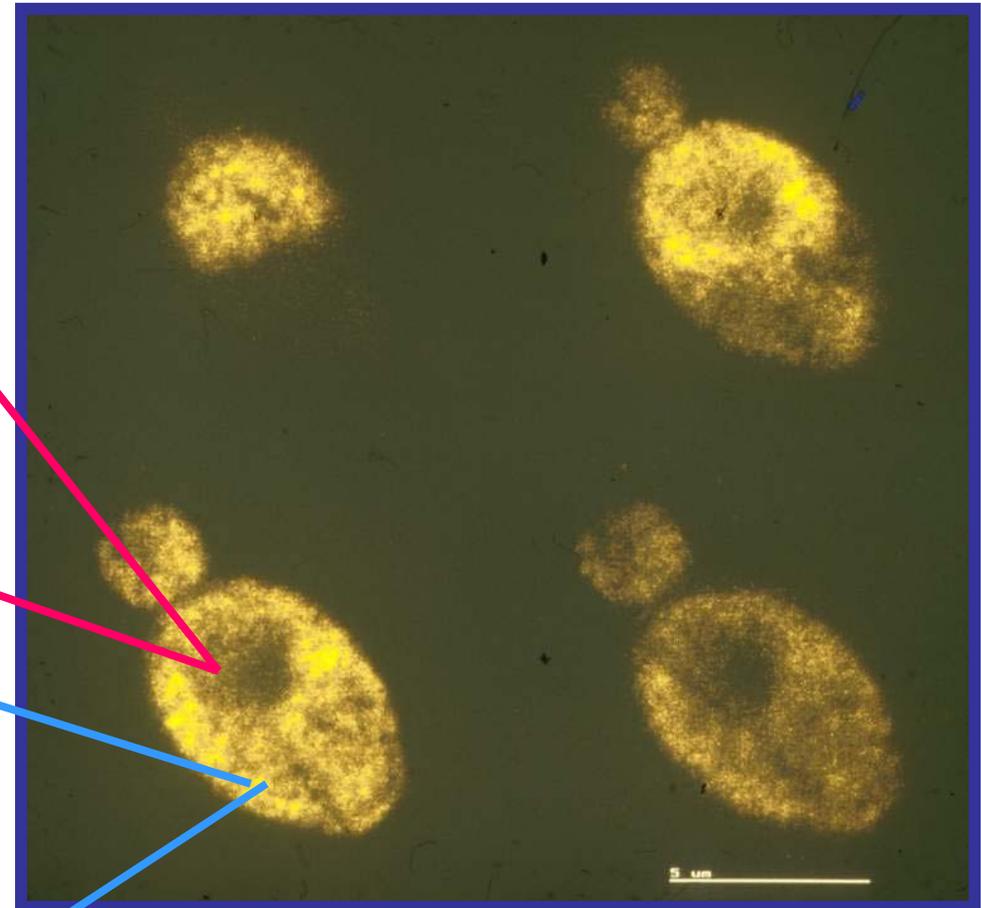


DNA



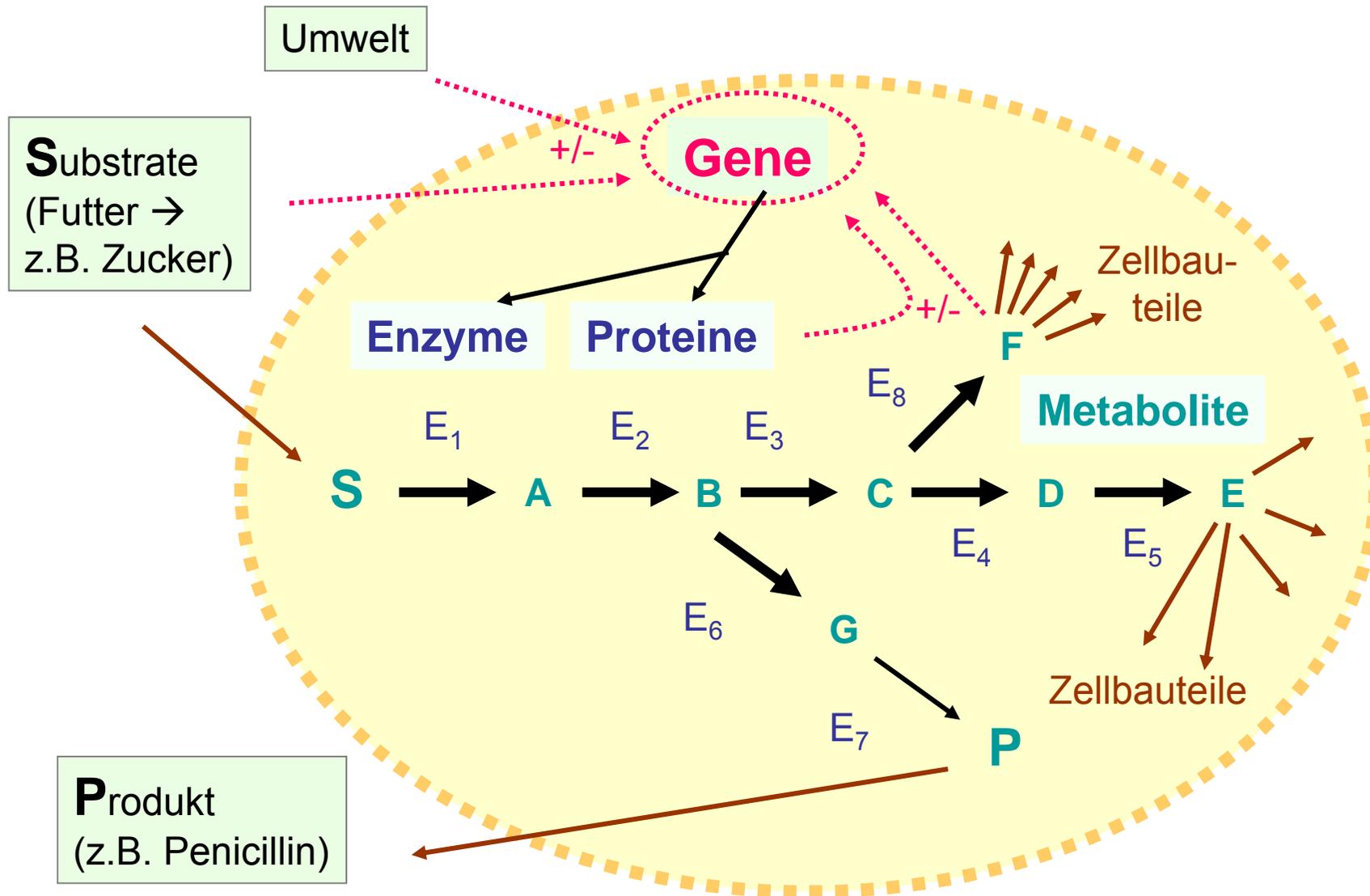
Proteine  
Enzyme

Produktionsstätte



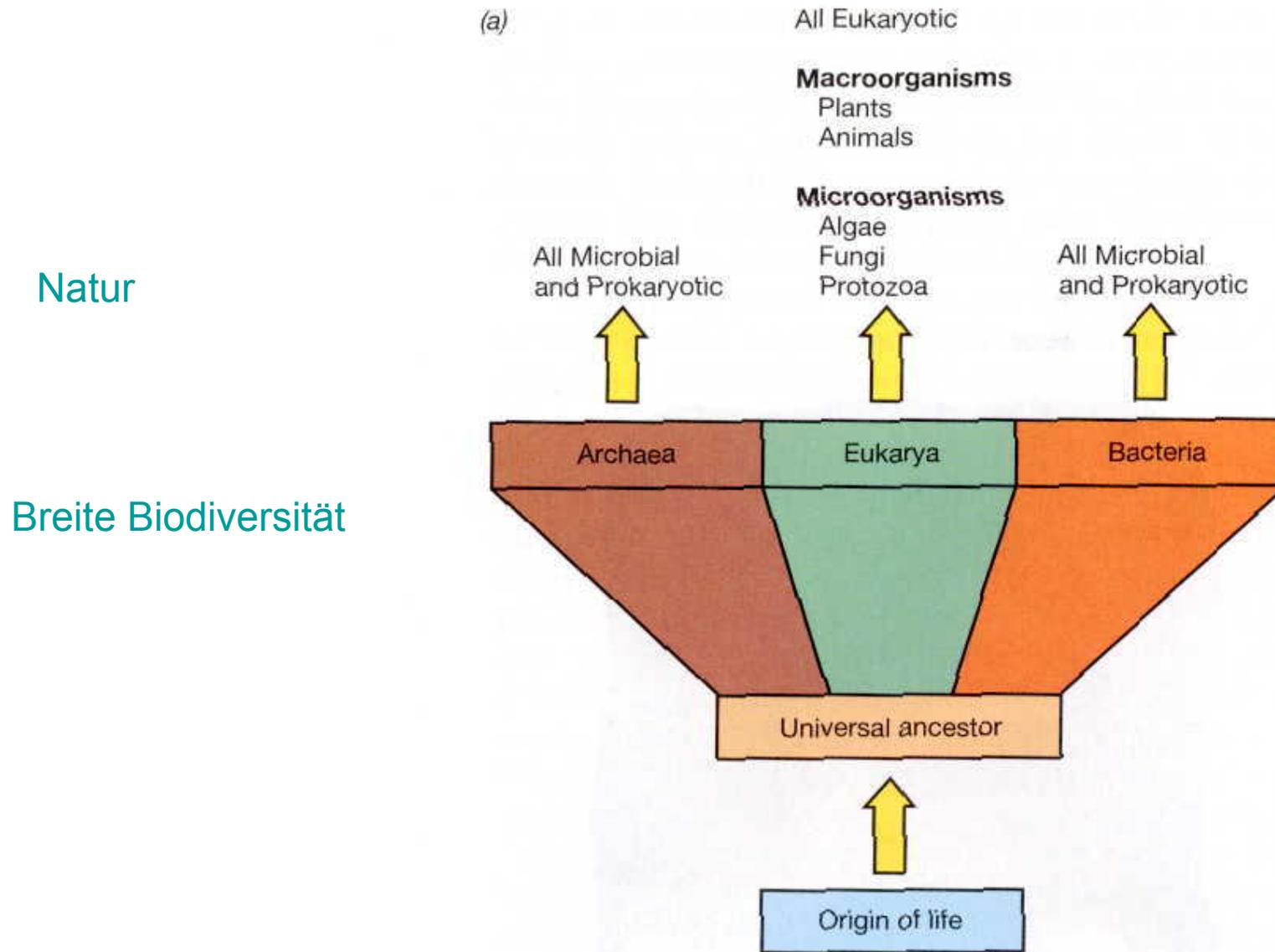
# Moderne Biotechnologie → Knowledge based

## Zelle - Funktion



# 1. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

## Suche nach geeigneten Organismen in der Biodiversität der Natur



# 1. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

## Suche nach geeigneten Organismen in der Biodiversität der Natur

### Genutzte Biosysteme in der Biotechnologie

#### Mikroorganismen

##### Bakterien

*Milchsäurebakterien*  
*Corynebakterien*  
*Streptomyceten*  
*Bacilli*  
*Escherichia coli*

##### Pilze

Hefen  
(*S. cerevisiae*, *P.pastoris*)  
Filamentöse Pilze  
(*Aspergillus* sp.,  
*Penicillium chrysogenum*)

##### Algen

#### Pflanzen

Zellkulturen  
Kalluskulturen  
Transgene Pflanzen

#### Tiere

Zellkulturen  
Insektenzellen  
Säugerzellen (CHO)  
Transgene Tiere

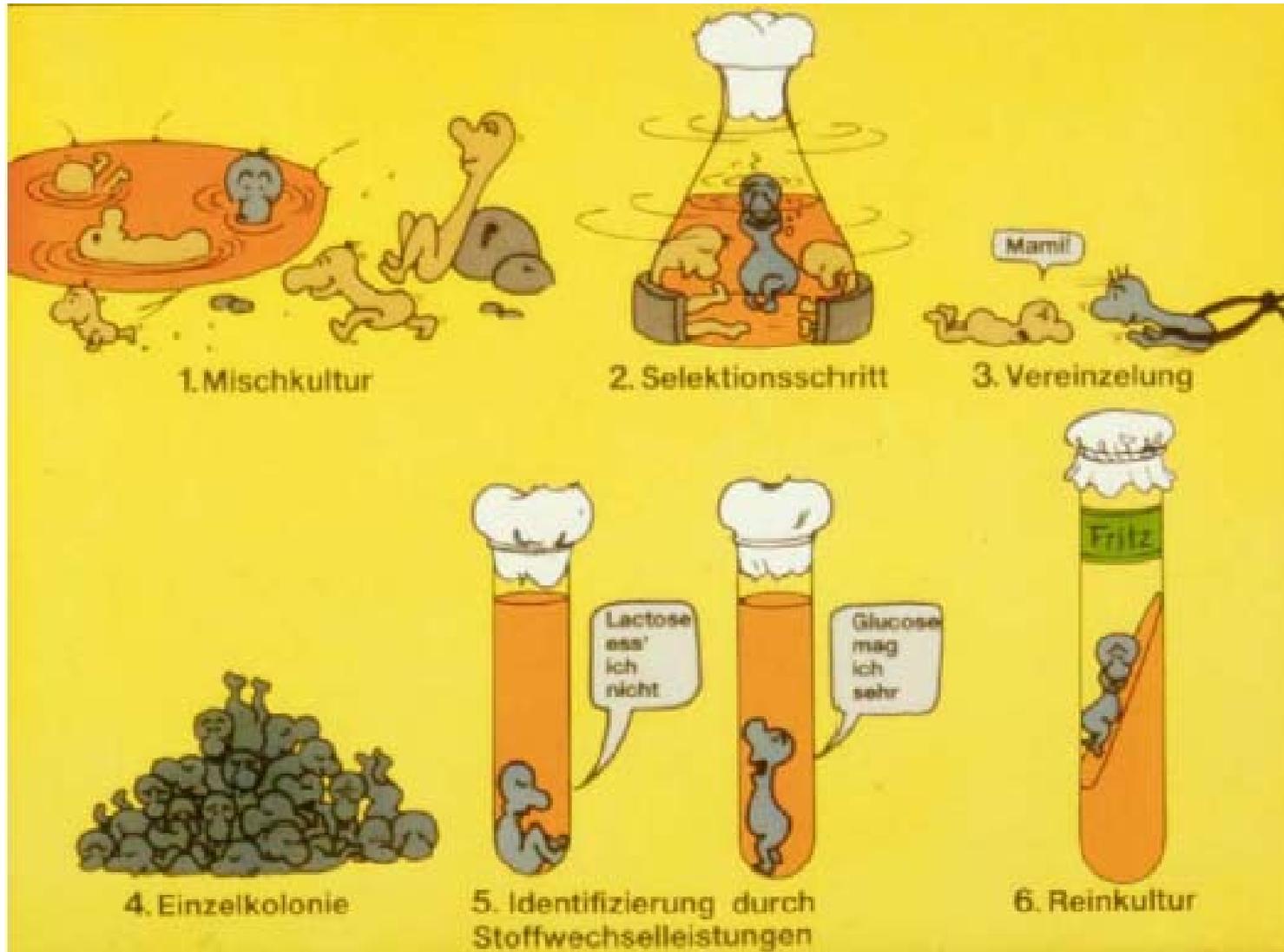
#### Enzyme → Enzymtechnik & Biokatalyse

Isolierte Enzyme

# 1. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

## Suche nach geeigneten Organismen in der Biodiversität der Natur

→ Definierte Biologie = Reinkulturen



## 2. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

### Entwicklung des biologischen Systems

Aus der Natur isolierte Stämme sind zwar fähig,  
gewünschtes Produkt herzustellen

→ aber meist sind viele Parameter nicht zufriedenstellend

z.B.:

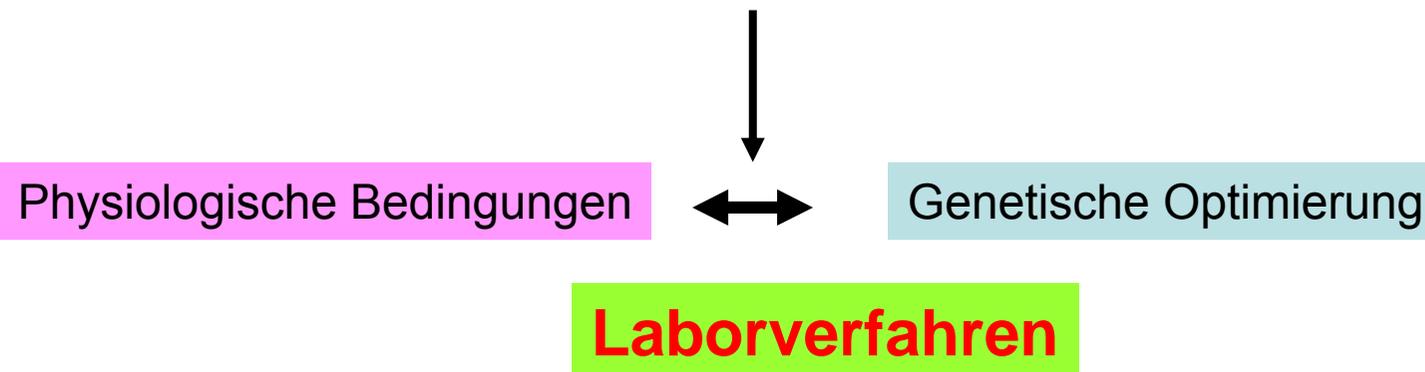
Wachstumsverhalten

Produktbildung

Verwertung von Nährstoffen

Bildung von Nebenprodukten

Generelle Prozesseigenschaften



### 3. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

#### Prozessentwicklung

##### Upstream Prozesse

Medienaufbereitung  
Sterilisation  
Impfgutherstellung

##### Bioreaktor

##### Bioprozess

##### Downstream Prozesse

Zellabtrennung  
Zellaufschluss  
Produktisolierung  
Produktreinigung  
Konfektionierung

##### Nebenprozesse

Kühlsysteme  
Luftversorgung  
Lagerhaltung

#### Scale – up

Laborverfahren



Pilot Plant



Produktionsanlage

# Abfolge eines Bioprozesses

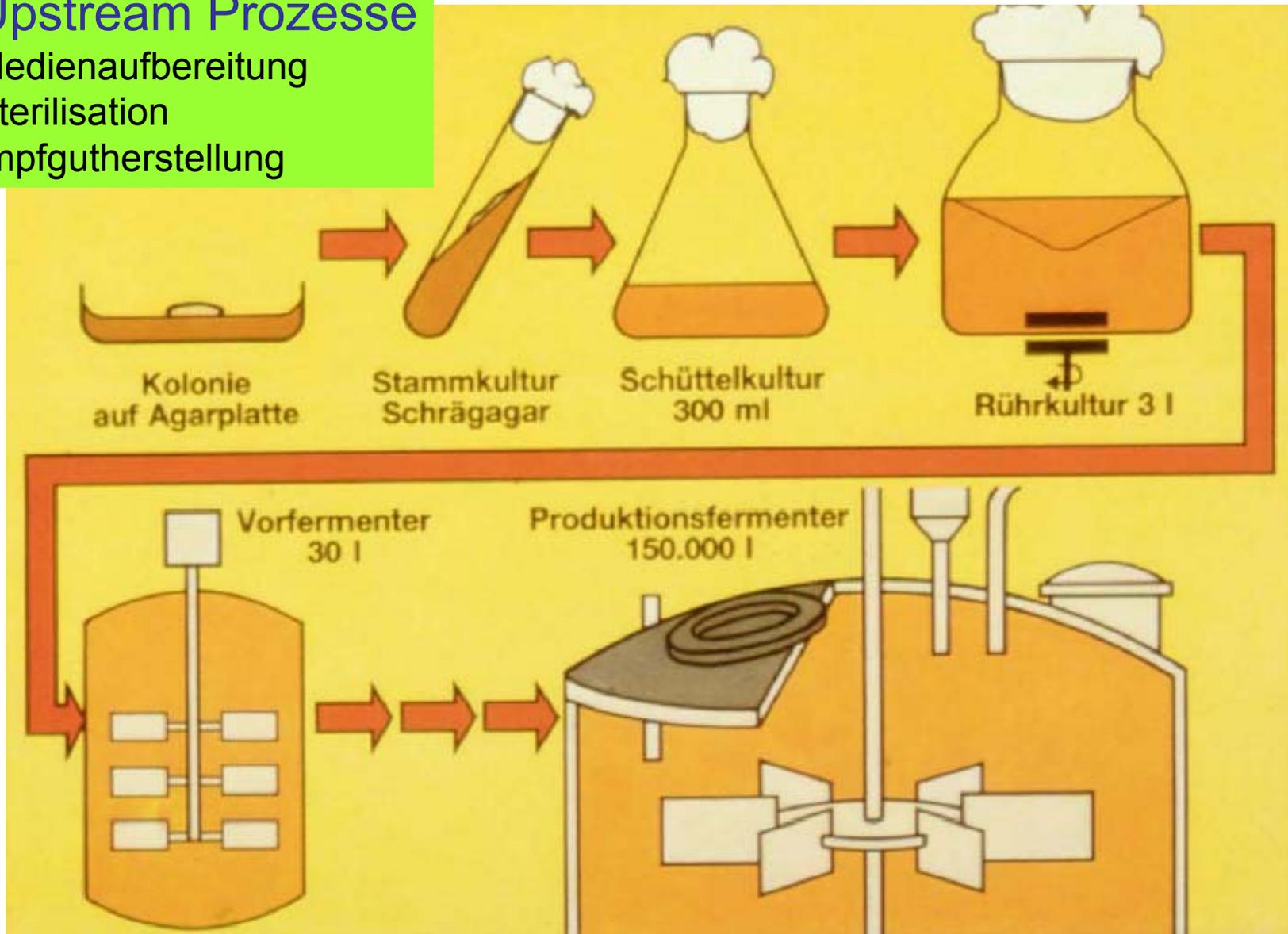
Kulturführung

## Upstream Prozesse

Medienaufbereitung

Sterilisation

Impfgutherstellung



### 3. Schritt zur Etablierung eines Biotechnologischen Prozesses

#### Prozessentwicklung

##### Upstream Prozesse

Medienaufbereitung  
Sterilisation  
Impfgutherstellung

##### Bioreaktor

##### Bioprozess

##### Downstream Prozesse

Zellabtrennung  
Zellaufschluss  
Produktisolierung  
Produktreinigung  
Konfektionierung

##### Nebenprozesse

Kühlsysteme  
Luftversorgung  
Lagerhaltung

#### Scale – up

Laborverfahren



Pilot Plant

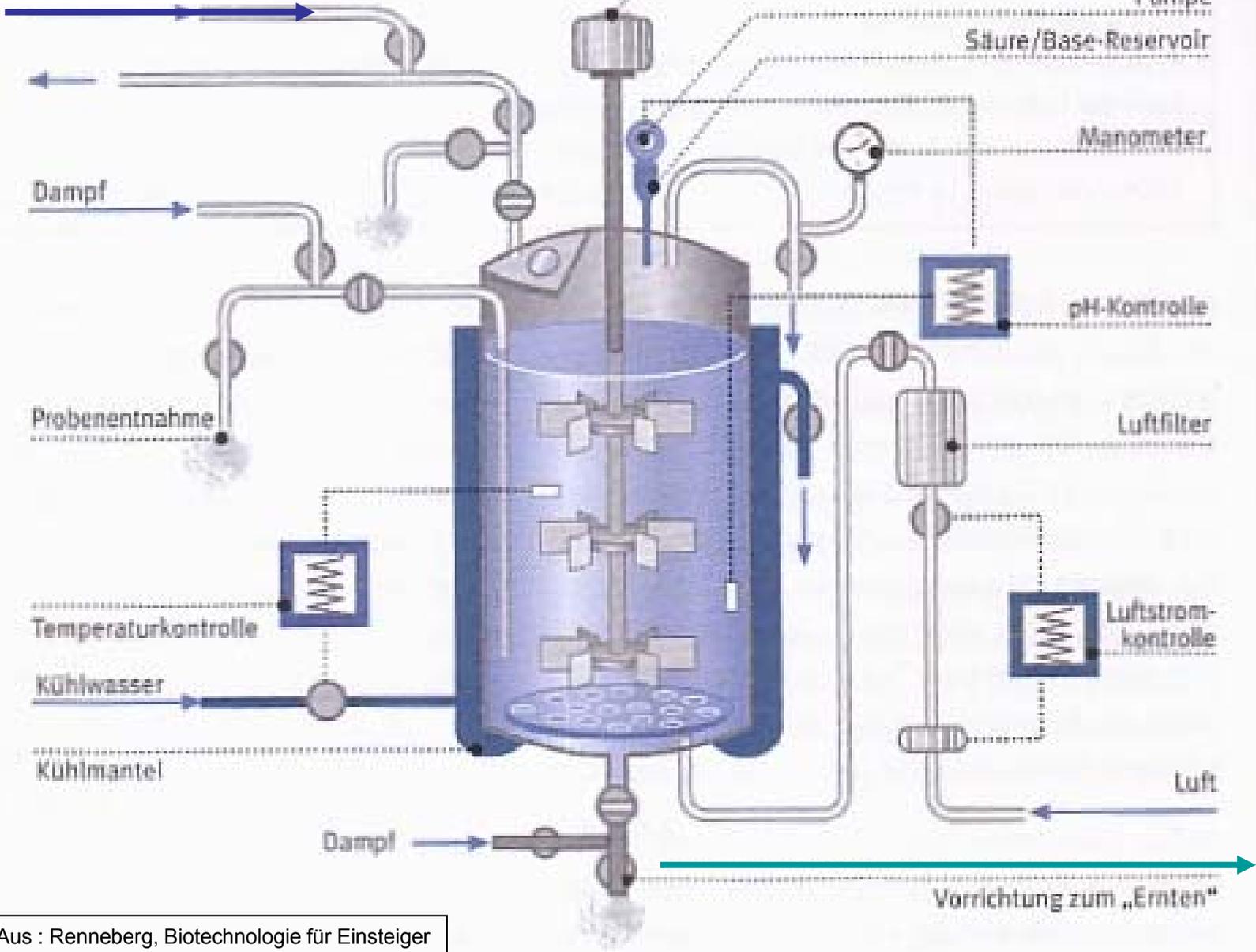


Produktionsanlage

# Bioreaktor – System zur kontrollierten Züchtung von Mikroorganismen und Zellkulturen

Upstream

Nährstoffe, Impfgut



Motor

Pumpe

Säure/Base-Reservoir

Manometer

pH-Kontrolle

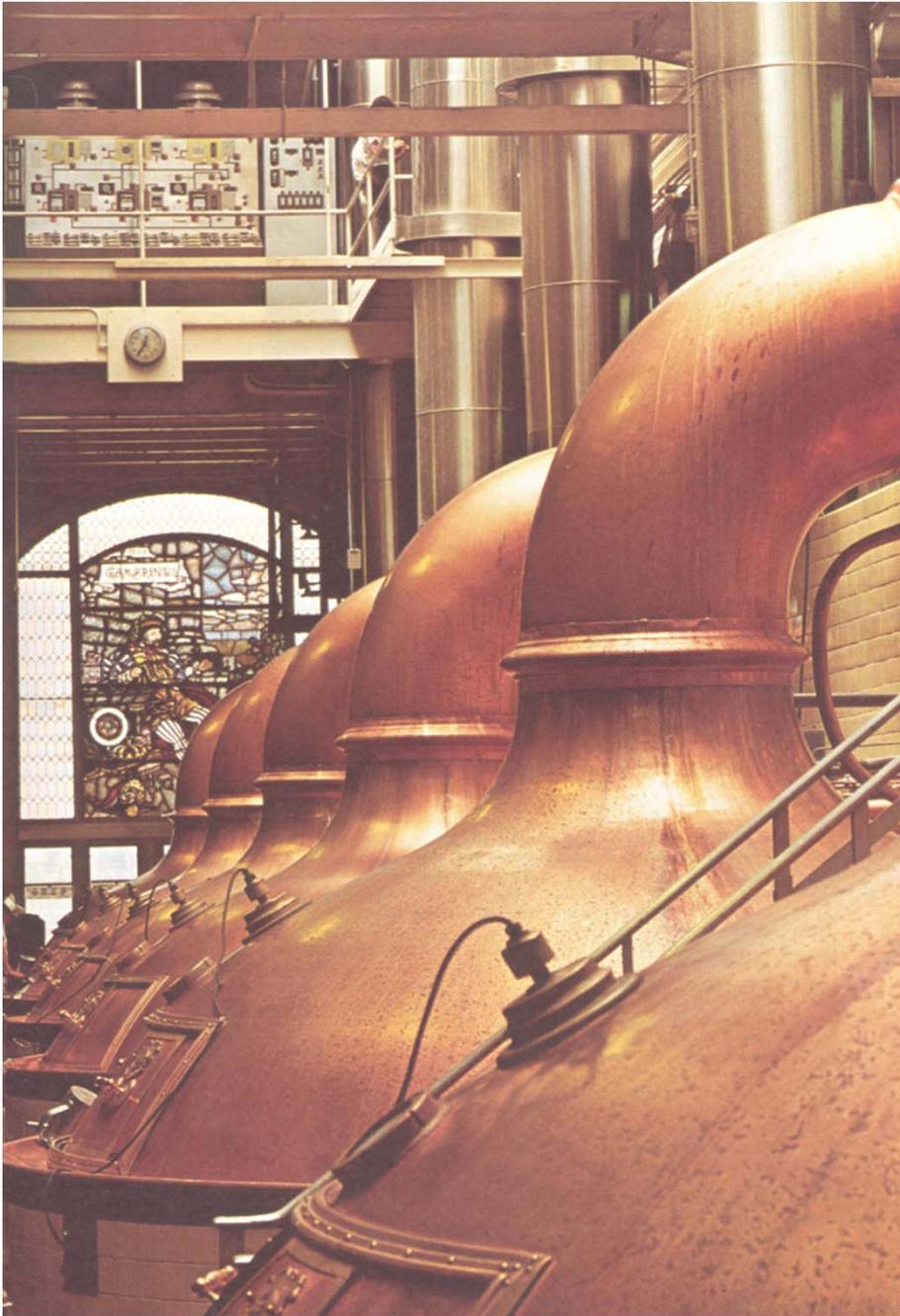
Luftfilter

Luftstromkontrolle

Luft

Vorrichtung zum „Ernten“

Downstream



## Downstream Prozesse

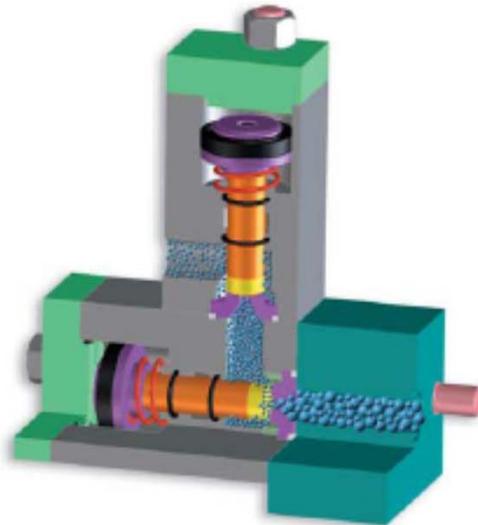
Zellabtrennung  
Zellaufschluss  
Produktisolierung  
Produktreinigung  
Konfektionierung

Zellabtrennung

Filtration  
Zentrifugation



Zellaufschluss  
Hochdruckhomogenisatoren



# Für den Bioprozess wichtige Phasen im Biosystem

Wachstum von Mikroorganismen → Produktion der Biomasse

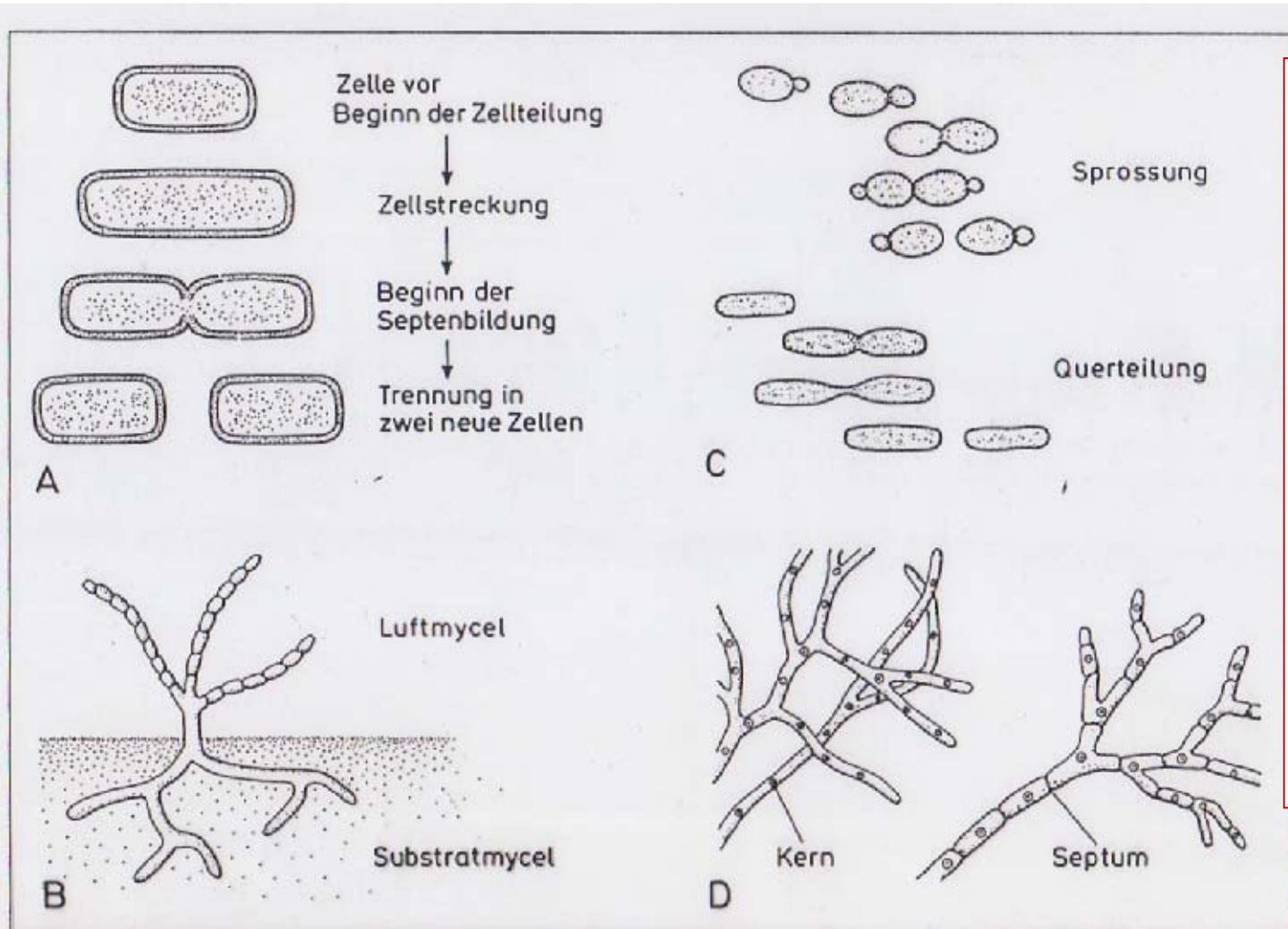
Biomasse → Produkt

Biomasse → biokatalytische Kapazität

Produktbildung

Metabolische Fähigkeiten  
Genexpression

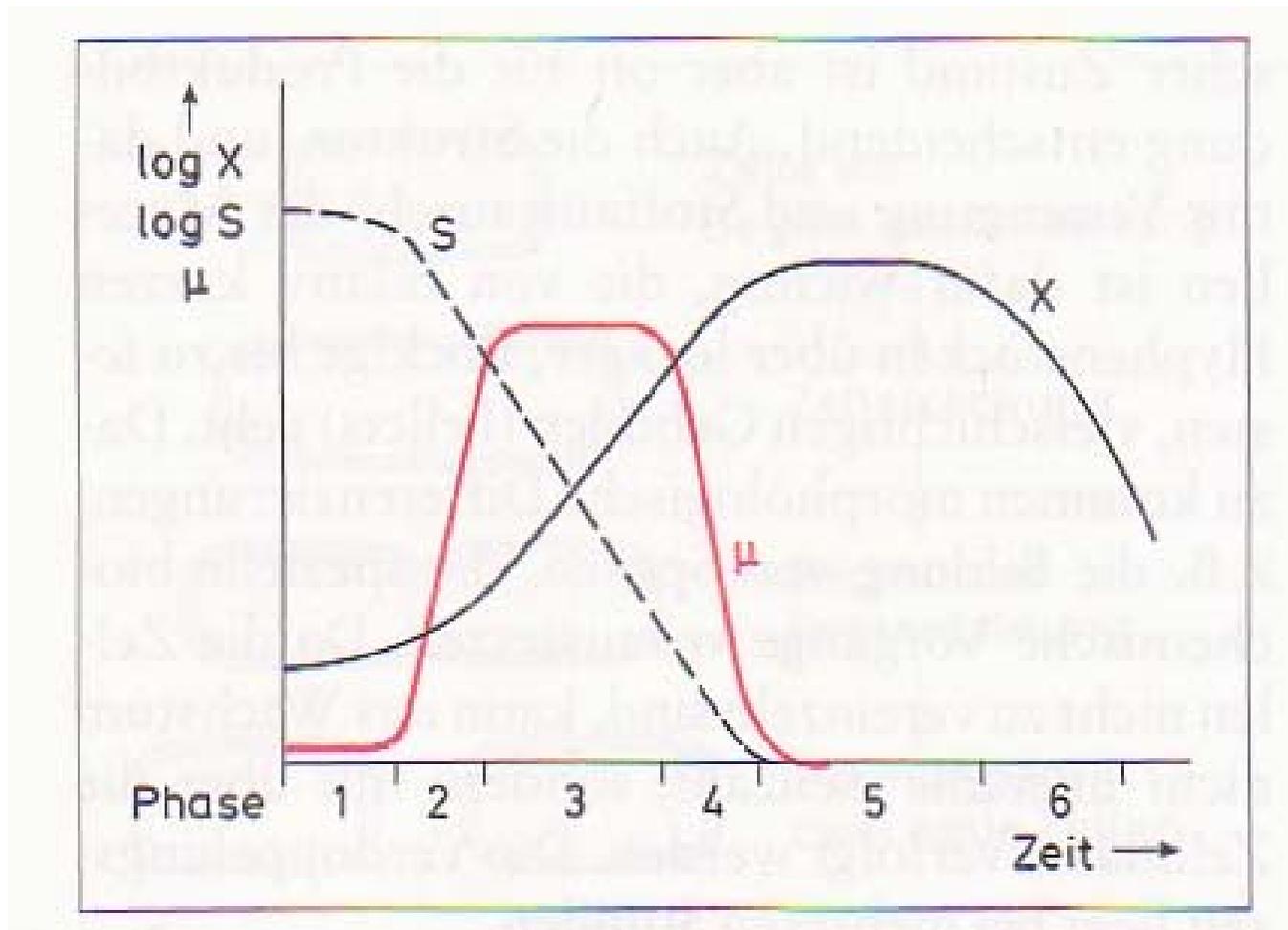
## Wachstum von Mikroorganismen



- Einzellig
  - symmetrisch
  - asymmetrisch
  - Kettenwachstum
- Hyphenwachstum
  - mehrkernig
  - septiert
- Flockenbildung
- Pelletbildung
- Biofilme

**Abb. 2-46.** Vermehrung von Mikroorganismen-Zellen. **A:** Querteilung bei Bakterien. **B:** Substrat- und Luftmycel bei Streptomyceten. **C:** Sprossung (z. B. *Saccharomyces*) und Querteilung (z. B. *Schizosaccharomyces*) bei Hefen. **D:** Längenwachstum und Verzweigungen bei septierten und nicht-septierten mycelbildenden Pilzen.

## Wachstum von Mikroorganismen



**Abb. 2–47.** Verlauf einer Satz- (*batch*) Kultur.  $X$  = Zelldichte (Trockenmasse/Volumen),  $S$  = Substratkonzentration,  $\mu$  = spezifische Wachstumsrate, 1 = lag-Phase, 3 = exponentielle Phase, 2 und 4 = Übergangsphasen, 5 = stationäre Phase, 6 = Absterbephase.

# Wachstum von Mikroorganismen

## Exponentielles Wachstum

$$\frac{dN}{dt} = \mu N$$

X = Biomasse  
N = Zellzahl  
 $\mu$  = spez. Wachstumsrate

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu$$

### Integration

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu \cdot t$$

$$X = X_0 \cdot e^{\mu \cdot t}$$

### Verdoppelungszeit

$$\ln \frac{2 X_0}{X_0} = \mu \cdot \tau$$

$$\frac{\ln 2}{\mu} = \tau$$

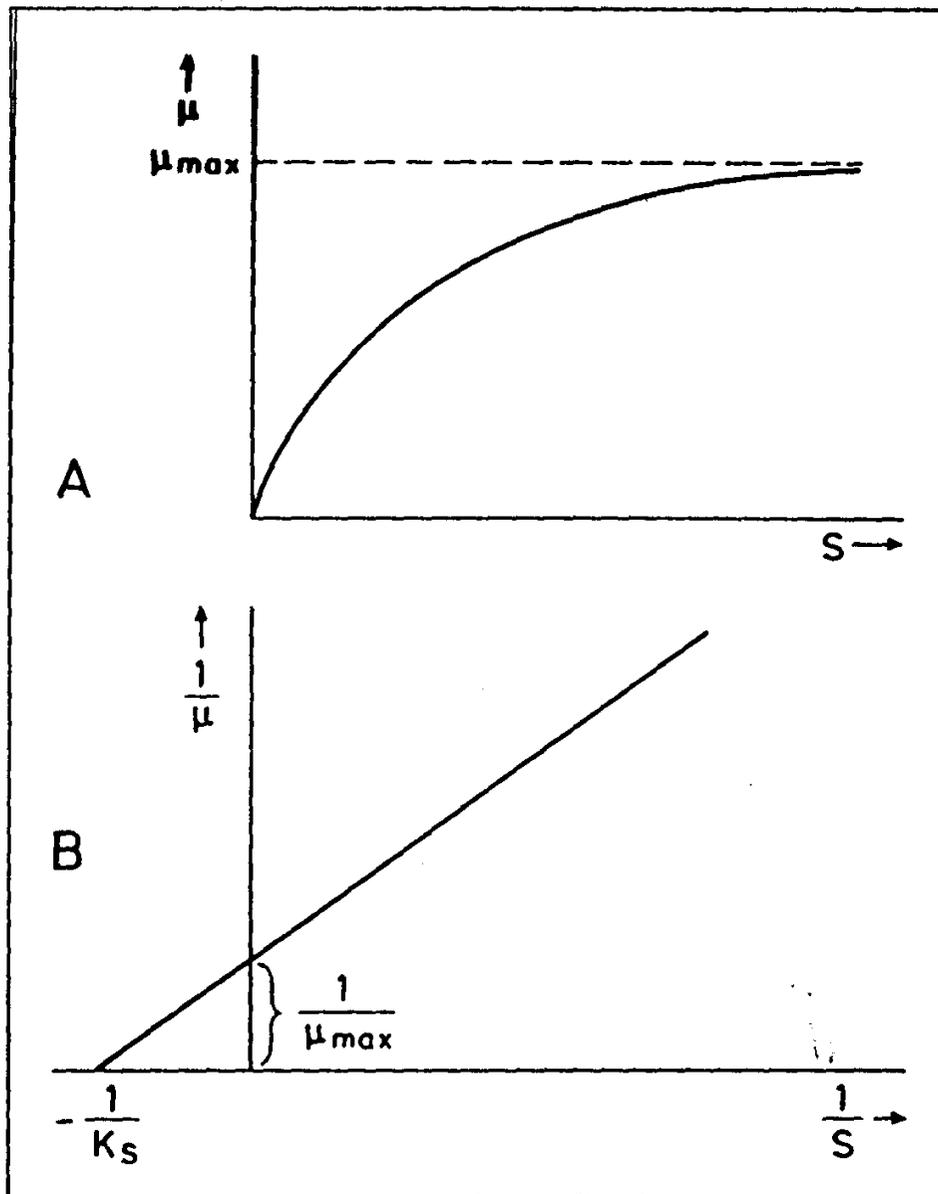
## Substrat-limitiertes Wachstum

### Monod

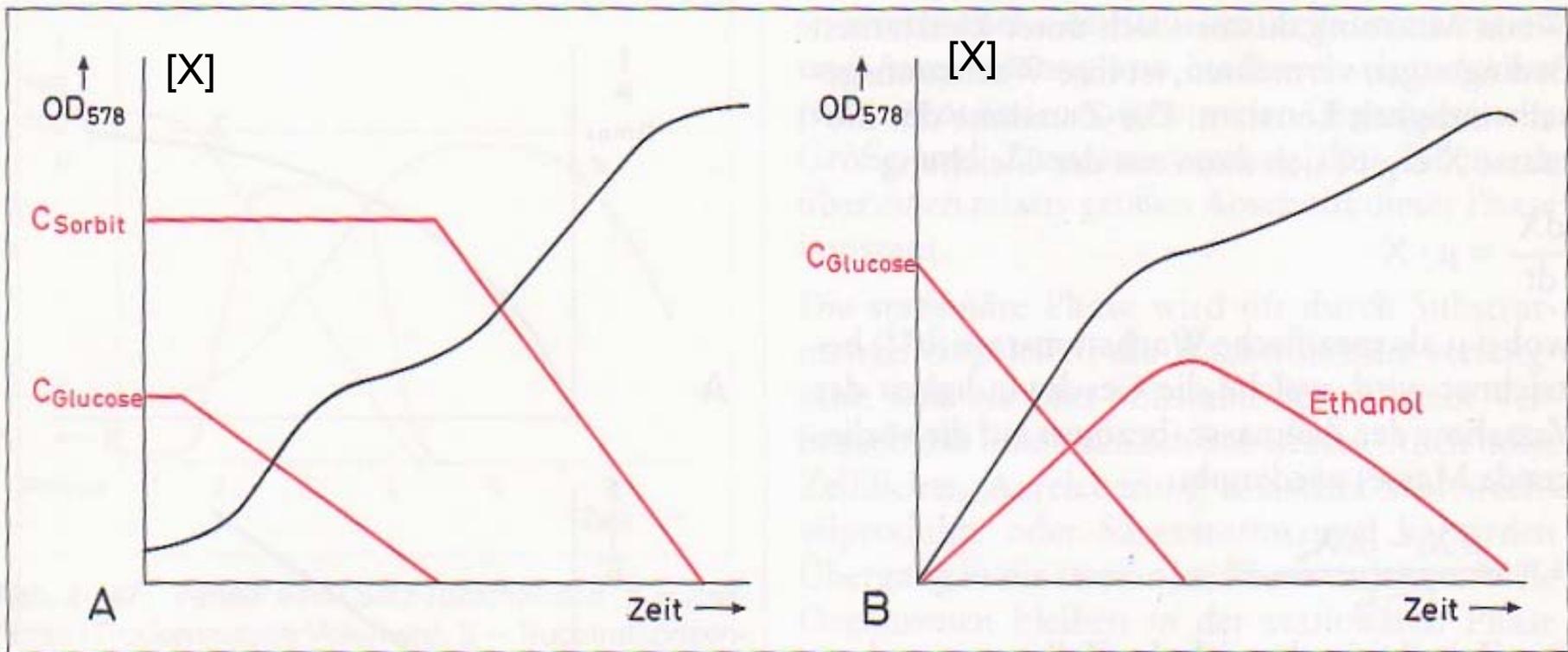
$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{S + K_s}$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \mu \cdot X$$

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S}$$



**Abb. 2-48.** Wachstum als Funktion der Substratkonzentration. **A:** Die spezifische Wachstumsrate  $\mu$  nähert sich mit zunehmender Substratkonzentration  $\mu_{max}$ . **B:** Grafische Bestimmung der Substratsättigungskonstante  $K_S$ .



**Abb. 2-49.** Zweiphasiges Wachstum. **A:** *Escherichia coli* auf Glucose: Sorbit = 1:2. **B:** *Saccharomyces cerevisiae* auf Glucose. Zweite Wachstumsphase durch Abbau des (bei hohen Glucose-Konzentrationen) in der ersten Phase gebildeten Ethanols.

# Wachstum – Temperaturabhängigkeit

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \alpha X$$

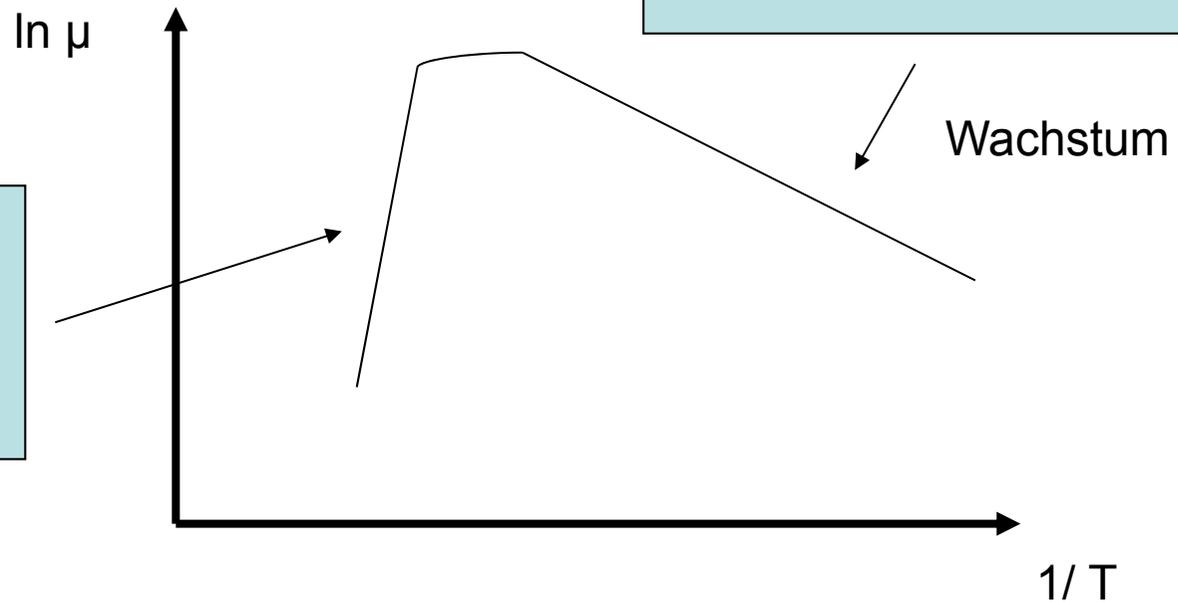
Zuwachs - Absterben

$\alpha$  = spez. Absterberate

$$\mu = A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

Absterben

$$\alpha = A^* \cdot e^{-\frac{E_a^*}{RT}}$$



# Wachstum von Mikroorganismen

## Experimentelle Bestimmung

**Zellzahl** (nur einzellige Organismen)  
Thoma Zählkammer (mikroskopisch)  
Cell Counter  
CFU (colony forming units)

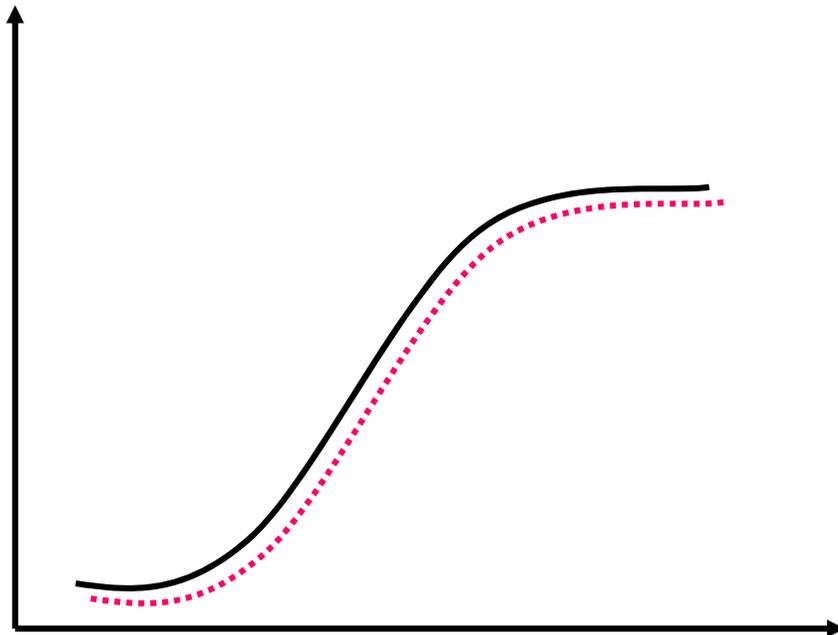
**Biomasse** (direkte Verfahren)  
ZTM (Zelltrockenmasse)  
ZFM (Zellfeuchtmasse)  
Frischvolumen (Zentrifugation)  
**Probleme: Feststoffe in Medium**

**Biomasse** (indirekte Verfahren)  
Optische Dichte (Trübungsmessung)  
Stoffwechselfparameter (z.B.  $dO_2/dt$ ,  $dCO_2/dt$ ,  $dpH/dt$  etc.)  
Zellinhaltsstoffe (z.B. DNA, RNA, ATP, N-Gehalt, Proteingehalt etc.)  
**Probleme: Abhängigkeit von physiolog. Zustand der Biomasse**

Produktbildung

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{P/S}}$$

Wachstumsassoziiert



Nicht assoziiert

