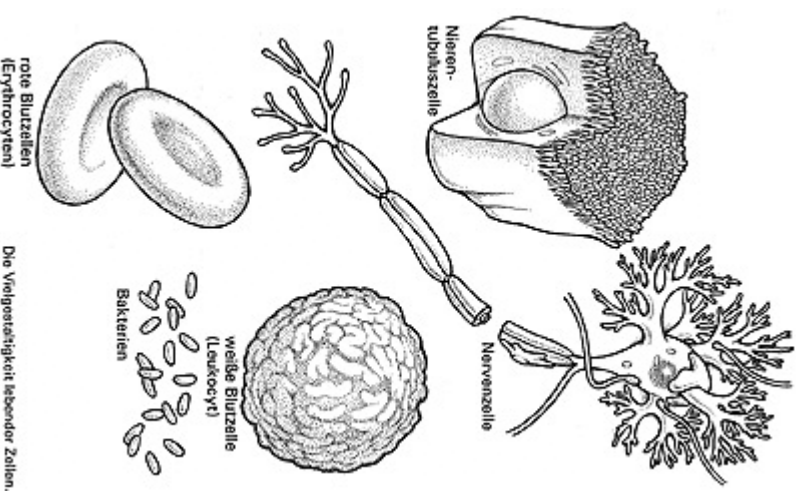


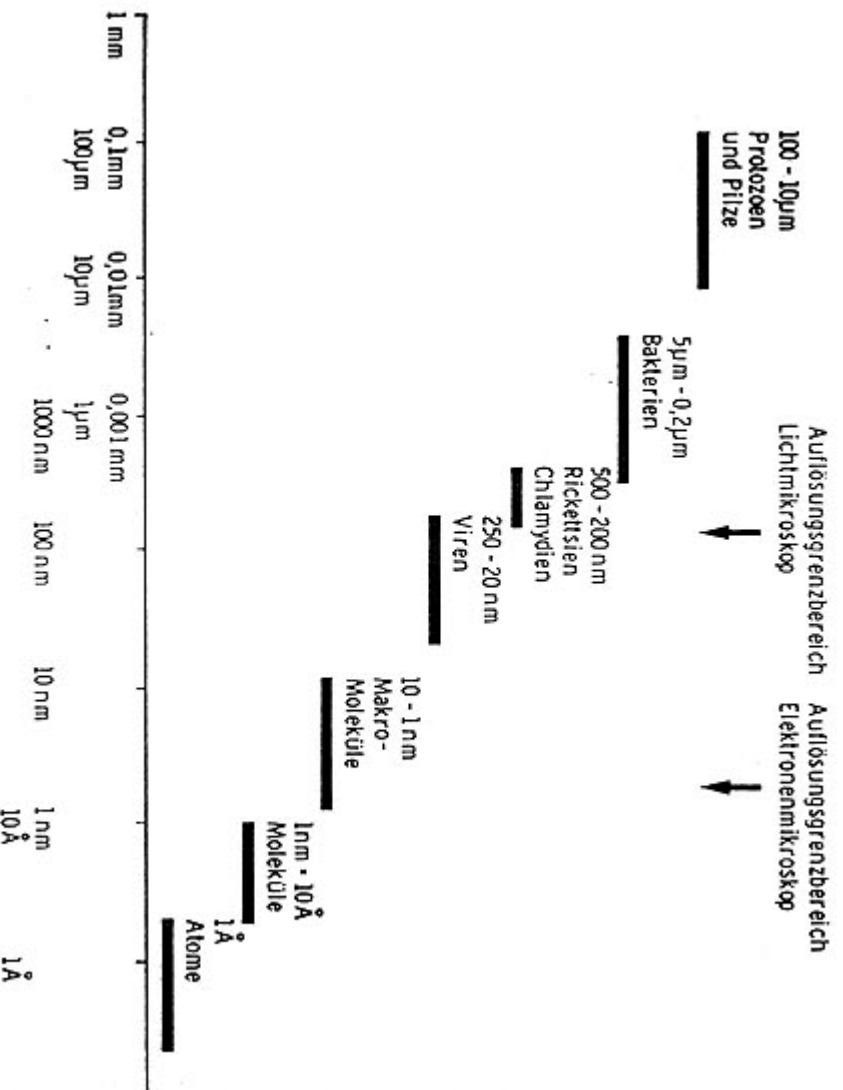
Die Organisationsstufen biologischer Systeme am Beispiel der Pflanzen. Jede Stufe symbolisiert ein Komplexitätsniveau. In der Biotechnologie interessieren wir uns für die Bereiche von den Makromolekülen bis zur Organisationsstufe der Zellen.

Welche biologischen Agenzien werden genutzt?

- Viren
- Bakterien
- Pilze
- Algen
- Pflanzliche Zellen
- Tierische Zellen (animalische Zellen)
- Menschliche Zellen
- Teile von Zellen: Organellen, Enzyme, Antikörper, DNS etc.



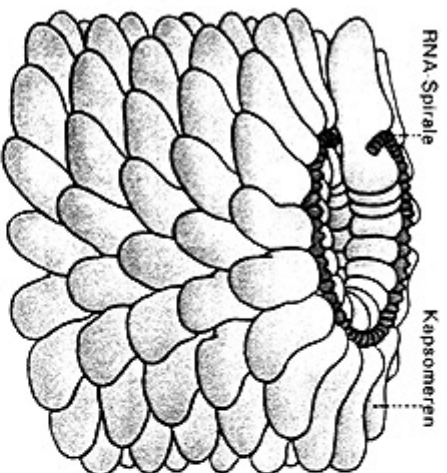
Grössenvergleich



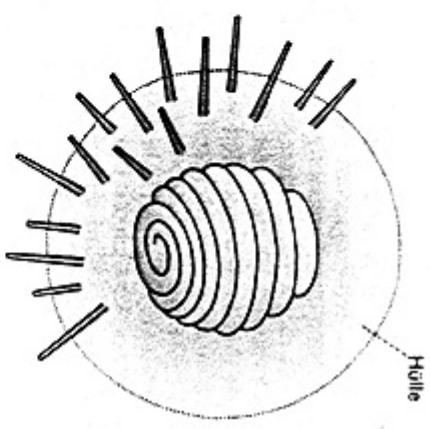
Mikrobielle Lebensformen (Mikroorganismen)

- **Plasmide und Viren sind keine selbstständigen Lebensformen**
 - Plasmide («nackte DNS»)
 - Viren («verpackte DNS»)
- **Prokaryonten:**
 - Bakterien (inkl. Blaualgen)
- **Eukaryonten:**
 - Pilze
 - Protozoen
 - Algen
- **In der Biotechnologie ebenfalls genutzt** (gehören nicht zu den Mikroorganismen)
 - einzelne Zellen von Pflanzen, Tieren und Mensch

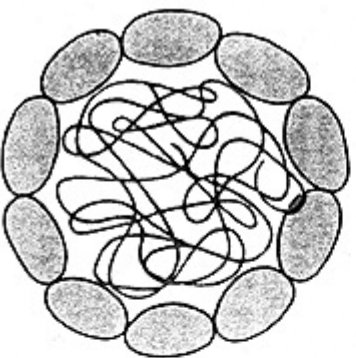
Verschiedene Formen von Viren



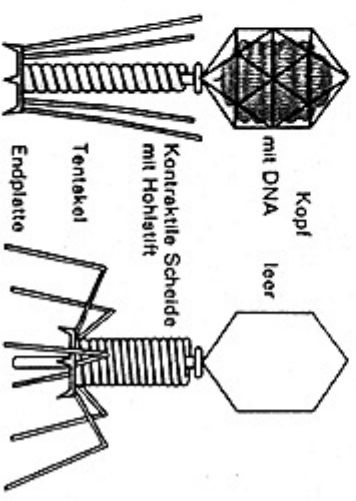
A Modell des Tabakmosaikvirus



B Myxovirus (innen Kapsid)

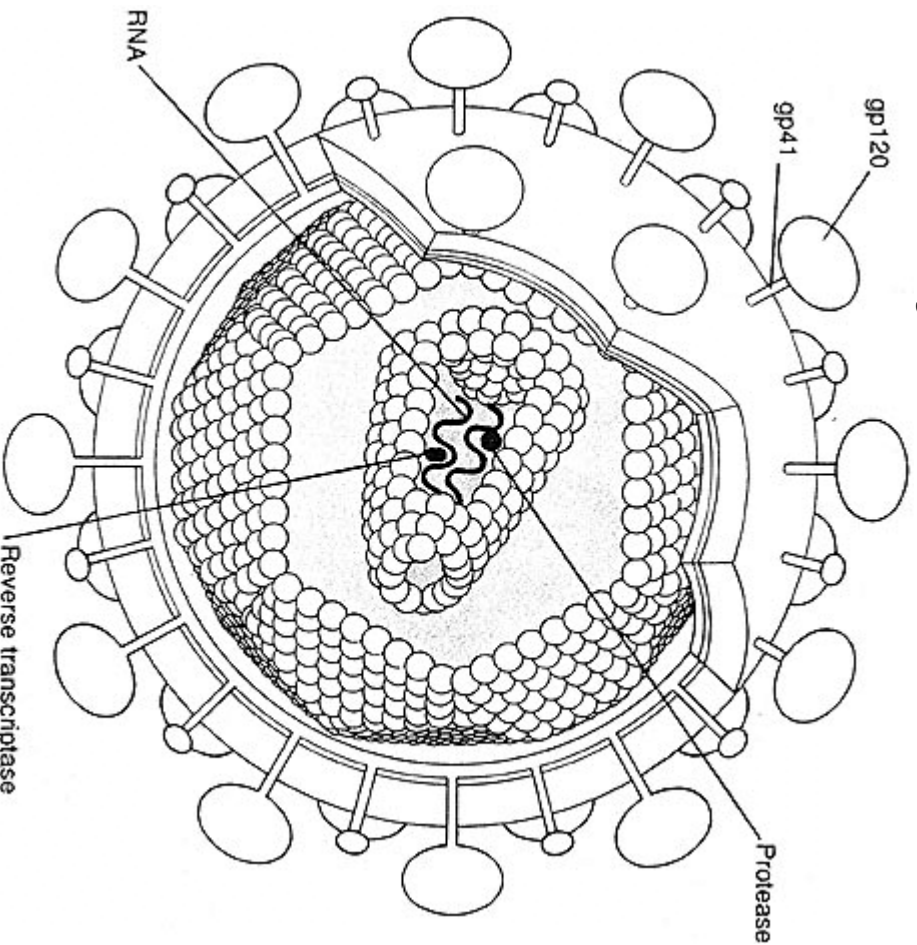


C Querschnitt durch ein Picornavirus
ETH zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder



D Modell des Bakteriophagen T2
(links mit DNA, rechts nach der DNA-Injektion)

Human Immunodeficiency Virus, HIV



01.04.2001

7

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

8

Ausgewählte Viren

RNA-Viren		DNA-Viren			
Virusgruppe	Grösse nm	Symptom/Krankheit	Virusgruppe	Grösse nm	Symptom/Krankheit
Pflanzenviren	130x25 300x18 730x15 1250x10 2000x10	Gerstenstreifenmosaik Tabakmosaik Kartoffel-Y-Mosaik Rübenvergilbung Citrus-Tristeza	Pockenviren	140-380 x 170-270	Echte Pocken (Variolavirus) Kuhpocken, Vakzinia Kaninchennyxotose
Tollwutviren	300x80	Tollwut	Herpesviren	100-150	Herpes simplex, Windpocken
Myxoviren	150-220 80-120	Mumps, Masern, Röteln Grippe (Typ A, B, C)	Adenoviren	70-85	Nasen- / Rachenentzündungen Bronchialkatarrh
Reoviren	60-70	Harmlose Infekte mit Schnupfen, Erbrechen, Durchfall	Papovaviren	40-55	Bindehautentzündung Papillome (Warzen)
Arboviren	20-50 20-30 20-25	A-Gruppe: Enzephalomyelitis B-Gruppe: Gelbfieber Pappataci-Fieber	Bakteriophagen (Bakteriophagen)	20-30 750x5 200x70	Kugelphagen Stabförmige Phagen T-Phagen
Picornaviren	20-35	Rhinoviren: Schnupfen Enzephalomyokarditis-Virus MKS-Viren: Maul- und Klauenseuche Enteroviren: Polioylitis, ECHO			

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

9

Biotechnologische Anwendungen von Viren

- Massenzüchtung
 - Herstellung von Impfstoffen
 - Herstellung von Diagnostika (Medizin)
- Gentechnologie, Gentherapie
 - Verwendung für den Gentransfer (Vektor)
- Schädlingsbekämpfung
 - Verwendung als biologisches Gift

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

10

Bakterien

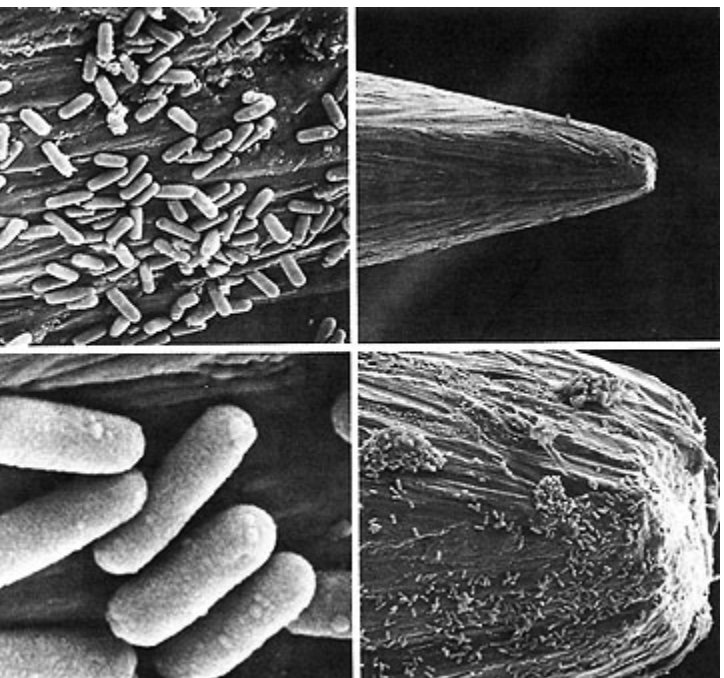
- Wichtigste Charakteristika von Bakterien
 - Einzeller
 - Grösse 0.5 bis 20 μm (Rekord: ca. 1 mm)
 - Kein Zellkern
 - Keine oder nur geringe interne Gliederung (Organellen, Kompartimente)
 - Kein Cytoskelett
 - DNS ist ringförmiges Fadenmolekül
 - Unterschiede bei der Transskription und Translation im Vergleich zu den Eukaryonten
 - Einfachere Kontrollsysteme zur Regulation der Genaktivität im Vergleich zu den Eukaryonten
 - Vermehrung durch Teilung
 - Kurze Generationszeiten (Minuten)
 - Extrachromosomales Erbmateriale vorhanden: Plasmide
 - Zellwand mit Zellmembran und Mureinschicht

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

11

Bakterien auf der Nadelspitze



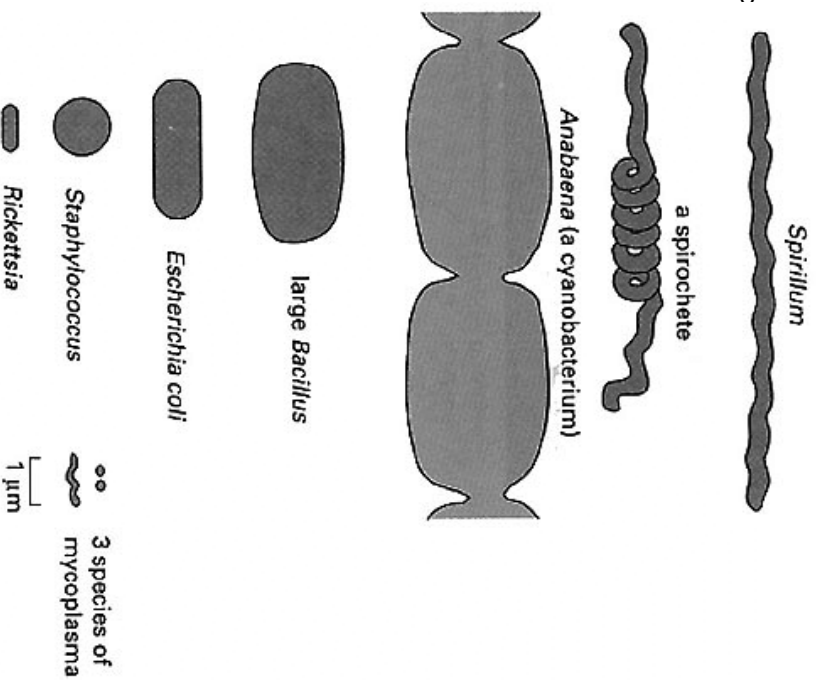
01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

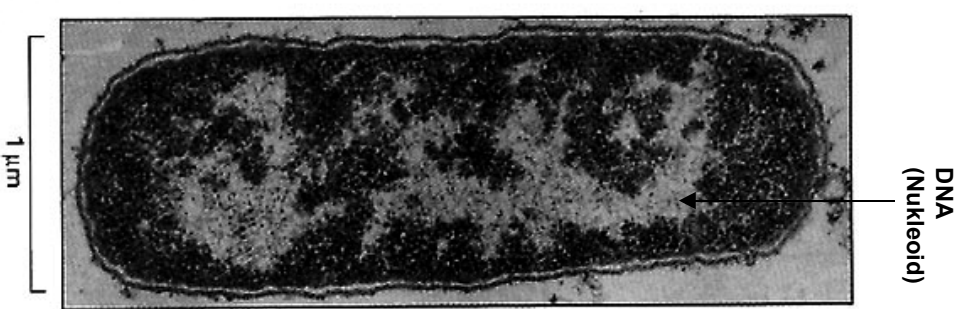
12

Formen und Struktur von Prokaryonten

Grössenvergleich (s. Massstäbe 1 µm) unc Formenvielfalt

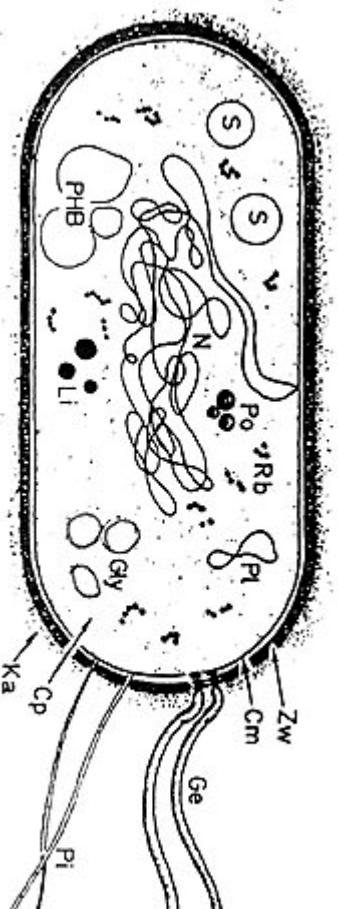


01.04.2001 ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder



13

Grundstruktur eines Bakteriums



- ZW = Zellwand
 - Cm = Zellmembran
 - Cp = Cytoplasma
 - Ge = Geissel
 - Gly = Glykogengranula
 - Ka = Kapsel
 - Rb = Ribosomen
- Li = Lipidtropfen
 - N = Nukleoid
 - PHB = Polyhydroxybuttersäure
 - Pi = Plasmid
 - Pl = Plasmid
 - Po = Phosphatgranula
 - S = Schwefeleinschlüsse

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

14

Das grösste Bakterium: Ein Exot unter Exoten

Das bisher grösste Bakterium N2-2

Verwertung von Schwefelwasserstoff 2.1.4.94

Es ist bis zu einem dreierTEL Millimeter gross, mit blossen Auge sichtbar und damit fast hundertmal grösser als der bisherige Spitzenreiter. Die Zellen des nun entdeckten grössten bekannten Bakteriums sind kugelförmig und von einer Schleimschicht umgeben, die die einzelnen Bakterien wie Perlen einer Kette miteinander verbindet. Es lebt in Isen, planktonreichen Sedimenten ungefähr 100 Meter unter der Wasseroberfläche vor der Küste Namibias. Seine Entdeckung erlaubte das bisher grösste unter den Kleinlebewesen *Thiomargarita namibiensis*.

Diesem Namen verdammt es nicht nur seinem Aussehen, sondern einer weiteren Eigenschaft: es lagert Schwefelabgabeleihen direkt unter der Zelloberfläche ab. Diese schimmern unter Lichtzufuhr weiss. Der Schwefel wird aus dem Schwefelwasserstoff der Umgebung gebildet. Durch diesen Prozess gewinnt *Thiomargarita* Energie für andere Stoffwechselvorgänge. Allerdings benötigt die Schwefelperle für diesen Prozess noch eine weitere Substanz, nämlich Nitrat. Knapp 98 Prozent ihres Volumens werden von einem Speicher in Anspruch genommen, in dem das Bakterium Nitrat hamstert. Der Standort nützt die faszinierende *Thiomargarita* dazu, einen derart grossen Nitrat-speicher anzulegen. Denn die Umgebung ist zwar reich an Schwefelwasserstoff – diesen hinterlassen andere Bakterien als Abfallprodukt beim Abbau von Phytoplankton – doch es fehlt dort an Nitrat. *Thiomargarita* ist also darauf angewiesen, dass ab und zu eine kräftige Strömung das Sediment aufwirbelt und nitratreiches Wasser heranführt.

Bereits seit längerem sind kleinere Bakterien bekannt, die ebenfalls durch die Kombination von Schwefel- und Nitratstoffwechsel ihren Energiebedarf decken. Diese leben unter ähnlichen Umweltbedingungen, sind jedoch beweglicher und benötigen, deshalb kennen sie immensen Nitrat-speicher wie die immobilen *Thiomargarita*.

Durch die Verwertung des Schwefelwasserstoffs liefert der neue entdeckte Bakterium einen wichtigen ökologischen Beitrag für seine Umgebung. Denn so werden die Abfallprodukte

anderer Bakterien verwertet, und der für diese Organismen in hohen Konzentration geflügelte Stoff wird entfernt. Die enorme Bedeutung der namibischen Schwefelperle zeigt sich daran, dass sie in grossen Mengen, nämlich mit einer Biomasse von 47 Gramm pro Quadratmeter, im Sediment vorkommt.

Auch am anderen Ende der Skala, bei den kleinsten Lebewesen, gibt es möglicherweise einen neuen Rekordhalter: Kürzlich berichteten Wissenschaftler aus Australien, sie hätten Organismen mit einem Durchmesser von nur 20 bis 150 Nanometern aufgespürt. Die Nanobien gefärbten Exemplare sind damit rund zehnmal kleiner als alle bisher bekannten Bakterien. Gefunden hat man sie in Sandsteinproben aus mehr als dreitausend Metern Wassertiefe vor der Westküste Australiens. Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen fadenförmige Gebilde mit einer Zellwand-ähnlichen Struktur. Farbmethoden haben einen Hinweis auf DNA gegeben. Unter Laborbedingungen, so ist der Publikation zu entnehmen, haben sich die Märis vermehrt. Diese und weitere Hinweise würden eindeutig dafür sprechen, so die Entdeckerin, dass die Nanobien neue Lebewesen und keine anorganische Materie oder Labor-Vermehrungsgegenstände seien.

Damit wäre die Diskussion erneut entzündet, ob derlei kleine Gebilde wirklich Lebewesen darstellen können. Denn nach heutigem Wissensstand benötigen Bakterien eine gewisse Minimalausstattung, um aus ihrer DNA die lebenswichtigen Proteine herzustellen. Und diese Menge passe nicht in die Nanobien, argumentieren Kritiker. Doch möglicherweise, so wird entgegnet, kann ein Lebewesen auch mit weniger auskommen. Sollten die Nanobien tatsächlich lebendige Organismen sein, so würde eines der Argumente entkräften, die in der Vergangenheit gegen die vermeintlichen Lebewespuren in den Marsmeteoriten «ALH 84001» vorgebracht wurden.

Syngnathic Lahter

Quelle: Science 264, 493-495 (1999), American Microscopist 63, 1541-1550 (1998).

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

Bakterien sind Lebenskünstler

NZZ 20.3.1996 Ist Leben auf dem Mars doch möglich?

Bakterienpopulation im Basalt

62. Fast alle uns bekannten Lebewesen auf der Erde, vom primitiven Archeobakterium bis zum Menschen, hängen in irgendeiner Form von der Sonne ab. Diese treibt die Photosynthese, welche in grünen Pflanzen und einigen Mikroorganismen aus den anorganischen Substanzen Kohlendioxid und Wasser organische Zucker entstehen lässt und als «Nebenprodukt» den Sauerstoff liefert. Auch Anaerobier, die definitionsgemäss keinen Sauerstoff brauchen, sind auf organischen Kohlenstoff angewiesen, den abgestorbene Mikroorganismen und Pflanzen in Sedimenten zurücklassen. Sind diese Vorräte verbrauch, kann die Bakterienpopulation in dieser Nische nicht weiter bestehen. Auf mehr als 1000 m Tiefe, im Basaltgestein des Columbia-Beckens im US-Staat Washington, ist man nun auf eine anaerobe Bakterienpopulation gestossen, die von Wasser und Stein zu Leben zehrt (Science: 270, 450-454, 1995). Bei der Synthese von Methan, der einfachsten organischen Kohlenstoffverbindung, benutzt sie Wasserstoff (H₂) als Energiequelle.

Wasserstoffverbrauchende Bakterien sind an und für sich nichts Neues. Sie benötigen jedoch entweder zusätzlichen Sauerstoff oder verwenden Wasserstoff, den andere, aerobe Bakterien zurückgelassen haben; sie sind also letztlich auch von der Sonne abhängig. Das Grundwasser im Basalt enthält hohe Konzentrationen von Wasserstoff und Methan und im Vergleich zur Zahl der autotrophen (autosschliesslich von anorganischer Materie lebenden) nur wenige heterotrophe Bakterien. Die Wasserstoffkonzentration war zum Teil drei Grössenordnungen höher als diejenige, welche bei der Vergärung organischen Materials entstehen könnte. Die im Basalt gefundene Bak-

terienpopulation besitzt deshalb den Wasserstoff wahrscheinlich aus einer geochemischen Reaktion und verwendet ihn als Energiequelle, um aus gelöstem Kohlendioxid Biomasse herzustellen und Methan als Nebenprodukt auszuscheiden. Eisenhaltige Silikate im Basalt könnten die Reduktion von Wasser zu Wasserstoff vorantreiben. Wie die Reaktion genau verläuft, ist nicht bekannt.

Abgepumptes Grundwasser und Basalt, der zur Vergrösserung der Oberfläche zermahlen wurde, reichen im Labor aus, um unter Ausschluss von Sauerstoff die Bakterien wachsen zu lassen. Heterotrophe Bakterien starben dabei mit der Zeit aus, und nur die autotrophen überlebten. Wurde Basalt mit steriler Lösung vermischt, wuchsen keine Bakterien. Es werden also nicht nur eingeschlossene Bakterien freigesetzt. War im Experiment kein Basalt vorhanden, konnten nach einigen Wochen keine lebenden Bakterien mehr gefunden werden. Der Basalt war also für die Bakterien eindeutig notwendig.

Anorganische Nährstoffe und Wasserstoff können durch geochemische Reaktionen tief im Inneren der Erde praktisch unbegrenzt freigesetzt werden. Damit könnten in diesen Nischen auch lithoautotrophe Bakterien unbegrenzt überleben. Basalt, flüssiges Wasser und anorganischen Kohlenstoff gibt es auch unter der kalifornische. Die Wissenschaftler sehen daher bereits eine Möglichkeit für Leben auf dem (oder besser im) Mars. Die ersten Lebewesen auf der Erde, vor der «Entdeckung» der Photosynthese und der Entstehung einer oxidierenden Atmosphäre vor 2,8 Milliarden Jahren, könnten ebenfalls solche lithoautotrophen Mikroorganismen gewesen sein.

NZZ 30.6.1999 Rätselhafte Mikroben der Tiefe

Bakterien in Hunderten von Metern tiefen Meeresedimenten

Die Gerüste am Meeresgrund gelten bis vor kurzem als unbefleht. Nun glauben Wissenschaftler, dort Bakterien gefunden zu haben. Man schätzt, dass diese Mikroben zehn Prozent der gesamten Biomasse ausmachen könnten. Ob das zutrifft und wovon diese Bakterien leben, ist allerdings noch unbekannt.

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

Wie klein darfs den sein, bitte schön?

Nachdem die NASA 1997 behauptet hatte in einem Marsmeteoriten Mikroben in der Grösse von 20 bis 50 nm gefunden zu haben, ging die Diskussion los, wie klein denn ein lebensfähiges Lebewesen(Bakterium) sein könnte, unter der Annahme, dass die Spielregeln der irdischen Biologie gelten. Ein Escherichia coli enthält etwa 1000 Gene. Man vermutet, dass etwa 400-500 zum Leben nötig sind. In einer Kugel von 50 nm Durchmesser würde dieses Genom bereits die Hälfte des Volumens ausmachen. Ob der übrige Platz reicht für alle Zellfunktionen? Seröse Wissenschaftler sind der Meinung, das unterhalb 200 nm „nichts mehr läuft“ [Stand des Wissens 1999].

Wolken – Lebensraum für Mikroorganismen

NZZ 24.1.2001

Fortpflanzung in grosser Höhe

69. An immer exotischeren Orten, so scheint es, findet man auf der Erde lebende Mikroorganismen. So berichtet eine Forschergruppe um Birgit Sattler vom Institut für Zoologie und Limnologie der Universität Innsbruck, dass sie in Wolkenröpfchen und Schneekristallen lebende Bakterien gefunden hat. An sich weiss man zwar schon seit längerem, dass Mikroorganismen in die Luft gewirbelt werden können und dann als Kondensationskerne für Wolkenröpfchen dienen. Doch dass Bakterien auch in den unterkühlten Wolken in grosser Höhe überleben und sich dort gar fortpflanzen, wusste man bisher nicht. Die Forscher kommen auf Grund von ihren Untersuchungen zum Schluss, Wolken stellen einen bisher zwar noch kaum beachteten, aber dennoch ernst zu nehmenden Lebensraum für solche Lebewesen dar.

Sattlers Gruppe hat beim Observatorium auf dem Sonnblick, einem Berg in der Nähe von Salzburg, Wolkenröpfchen sowie frisch gefallenen Schnee und Graupeln untersucht. 1500 Keime pro Milliliter Flüssigkeit fanden die Forscher im Schnitt in den eingefangenen Wolkenröpfchen, im Schnee und in den Graupeln durchschnittlich gar 11 000 Bakterien pro Milliliter. Das ist, verglichen mit Wasser aus Oberflächengewässern, zwar recht bescheiden, aber innerhalb doch ähnlich viel, wie man im sauberen Grundwasser findet.

Bakterien stellen eine wichtige Ressource dar

Die Vielfalt der Bakterienarten, wahrscheinlich gibt es Millionen von Arten, ist eine wichtige Ressource für Stoffe, die in der Biotechnologie angewendet oder für nützliche Zwecke hergestellt werden können.

Beispiele für technisch interessante Bakterien und deren Produkte

Tab. 1.1 Beispiele für technisch interessante Bakterien und deren Produkte

Bakterienname	Charakteristische Eigenschaften	Technische Nutzung/Produkte
<i>Methanosarcina barkeri</i>	Gram-positiv oder Gram-negativ, Stäbchen, Kokken, obligat anaerob	zweite Stufe der anaeroben Abwasserreinigung; Methan
<i>Acetobacter aceti</i>	Gram-negativ, Stäbchen, begeißelt, säuretolerant, Schleimbildner, aerob	Essigsäure
<i>Lactobacillus spec.</i>	Gram-positiv, Stäbchen, homo- u. heterofermentativ	Milchsäure
<i>Propionibacterium</i>	Gram-positiv, Stäbchen, anaerob	Propionsäure
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Gram-positiv, Stäbchen, sporenbildend, anaerob	Butanol, Aceton, Buttersäure
<i>Zymomonas mobilis</i>	Gram-negativ, Stäbchen, fakultativ anaerob	Ethanol
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram-negativ, Stäbchen, polar begeißelt, aerob	Rhamnolipide
<i>Xanthomonas campestris</i>	Gram-negativ, Stäbchen, polar begeißelt, aerob	Xanthan
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Gram-positiv, Stäbchen, aerob	Aminosäuren
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Gram-positiv, Stäbchen	Exoenzyme, Amylase
<i>Streptomyces tendae</i>	Mycelbildner, Lufthyphen mit exogenen Sporen, aerob, Gram-positiv	Nikkomycin
<i>Escherichia coli</i>	Gram-negativ, Stäbchen, fakultativ anaerob	«Arbeitsstier» des Biotechnikers (Genetik), Herstellung gentechnisch gewonnener Produkte (z. B. Insulin)

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Urmuner

17

Biotechnologische Anwendungen von Bakterien

- Klassische Verfahren
 - Sauerteig-Brot, Essig, Joghurt, Käse, Kefir
- Moderne Verfahren
 - Antibiotikaproduktion (Bacillus, Streptomyceten)
 - Leaching-Verfahren zur Erzgewinnung (Thiobazillus)
 - Umweltechniken (Pseudomonaden, Mykobakterien, Nocardien)
 - Methanproduktion (methanogene Bakterien)
 - Dextranproduktion (Verdickungsmittel: Leuconostoc)
 - Butanol-, Aceton-, Buttersäureproduktion (Clostridien)
 - Milchsäureproduktion (Laktobazillen)

01.04.2001

ETH Zürich / D-MAVT / Einführung in die Biotechnologie / Felix Gmünder

18