Extremophile

http://extremophile.oncampus.de

Stand 18.04.2017 17:52

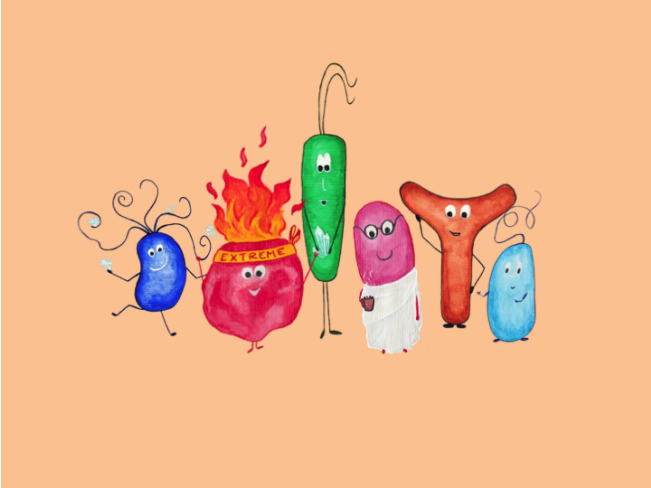
Inhalt

Extremophile ... 3
1 Extremes Leben ... 5
1.1 Was sind Extremophile? ... 6
1.2 Wo finden wir Extremophile? ... 12
1.3 Extremophilen-Quiz ... 12
2 Extremes Leben im Labor ... 14
2.1 Wie gedeihen Extremophile? ... 15
2.2 Wie reichern wir Extremophile an? ... 18
2.3 Labor-Quiz ... 20
3 Extremes Werkzeug ... 22
3.1 Was sind Enzyme? ... 22
3.2 Wie bauen Enzyme Biomasse ab? ... 25
3.3 Enzym-Quiz ... 31
4 Extremes Werkzeug im Labor ... 32
4.1 Wie finden wir neue Enzyme für industrielle Anwendungen? ... 33
4.2 Wie produzieren wir Enzyme für industrielle Anwendungen? ... 38
4.3 Labor-Enzym-Quiz ... 42
5 Extreme Anwendungen ... 44
5.1 Warum sind Extremophile nützlich für die Industrie? ... 45
5.2 Wie machen wir uns Extremophile bereits zunutze? ... 46
5.3 Industrie-Quiz ... 50

Anhang

I Abbildungsverzeichnis ... 51
II Medienverzeichnis ... 52
III Glossar ... 53

Extremophile



Hallo liebe Lernerinnen und Lerner,

Dieses Projekt im Rahmen der Hamburg Open Online University widmet sich der spannenden Welt der extremophilen Mikroorganismen, kurz: den Extremophilen. Hierzu stellen sich viele Fragen, z.B.
"Was sind überhaupt Extremophile?",
"Wo findet man Extremophile?",
"Wie kultiviert man Extremophile im Labor?" und
"Wie lassen sich durch Extremophile industrielle Prozesse optimieren?"
Auf diese und viele andere Fragen möchten wir euch hier Antworten liefern.

Wie ist dieses Projekt entstanden? - Wir, das Institut für Technische Mikrobiologie der Technischen Universität Hamburg, erforschen die Welt der Extremophilen schon lange und sind begeistert von ihren vielfältigen Einsatzmöglichkeiten. Um möglichst vielen diese kleinen "Alleskönner" näherzubringen, haben wir ein Online-Lernangebot entwickelt, zu dem unter anderem dieses für jeden frei zugängliche Wiki gehört.
Möchtet ihr uns ein Feedback zu einem Kapitel geben? - Gerne! Ab der Mitte jedes Kapitels findet ihr am rechten Rand eine Feedback-Box, über die ihr jedes einzelne Kapitel bewerten und uns ein Feedback geben könnt.

Wir wünschen viel Spaß bei der Erkundung der Extremophilen!

Euer Team vom Institut für Technische Mikrobiologie
(Technische Universität Hamburg)

Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

Mikroben im Einsatz

Wiki ist Bestandteil des Online-Lernprojektes "Mikroben im Einsatz". **Neugierig?**

1 Extremes Leben

In diesem Kapitel möchten wir euch in die Welt der Extremophile einführen. Wir erklären euch, was Extremophile überhaupt sind und welche besonderen Eigenschaften sie mitbringen. Außerdem zeigen wir euch, wo Extremophile leben. Zum Schluss könnt ihr in einem kleinen Quiz überprüfen, wieviel ihr nach dem ersten Kapitel schon über Extremophile wisst.

Gliederung

1 Extremes Leben
1.1 Was sind Extremophile?
1.2 Wo finden wir Extremophile?
1.3 Extremophilen-Quiz

Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.
<br /

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

1.1 Was sind Extremophile?

Als extremophile Mikroorganismen („die das Extreme lieben“) werden alle Lebewesen bezeichnet, die von einer menschlichen Sicht aus betrachtet, an extreme Umweltbedingungen angepasst sind. Das können extreme Temperaturen und pH-Werte, hoher Salzgehalt oder Druck sein.

Frage

Woher stammt das Wort **extremophil**? - Es ist eine Kombination aus dem lateinischen Wort **extremum** (das Äußerste) und dem griechischen Wort **philos** (Freund).

In heißen, salzhaltigen, basischen oder sauren Lebensräumen können vornehmlich sogenannte Prokaryoten überleben. Das sind zelluläre Lebewesen, die keinen Zellkern besitzen, also Bakterien und Archaeen. Nur einige kalte Standorte können auch von höheren eukaryotischen Organismen (Lebewesen mit Zellkern), wie Fische und Krebse in der Tiefsee, oder Schneealgen im ewigen Eis besiedelt werden.

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="DefinitionExtremophile_klein.mp4">
Was sind Extremophile?

Extremophile Mikroorganismen können eine Vorliebe für extreme Temperaturbereiche besitzen. **Cryophile** und **Psychrophile** sind Lebewesen, die kalte ökologische Nischen im negativen Temperaturbereich bis zum Gefrierpunkt von Wasser (Cryophile) sowie zwischen 0°C und 20°C (Psychrophile) besiedeln. **Mesophile** hingegen überdauern am besten im moderaten Temperaturbereich (etwa 10-50°C). **Thermophile** Mikroorganismen gedeihen in Lebensräumen mit Temperaturen zwischen 45°C und 80°C und **Hyperthermophile** bei Temperaturen bis etwa 120°C.

Salzliebende Mikroorgansimen werden als **Halophile** bezeichnet, wobei oftmals zwischen Halotoleranten (gemäßigt salzige Bedingungen) und echten Halophilen unterschieden wird. Letztere überleben selbst in nahezu gesättigten Salzlösungen, wie sie im Toten Meer vorherrschen.

Säureliebende Mikroorganismen werden als **Acidophile** und Laugeliebende Mikroorganismen als **Alkaliphile** bezeichnet. Sie benötigen also für ihr Wachstum einen niedrigen (Acidophil) oder hohen pH Wert (Alkaliphil).
Umgebungen mit hohen Drücken, wie zum Beispiel die Tiefsee, werden von den **Piezophilen** besiedelt. In Wassertiefen von 1000 Metern besteht ein Druck von circa 100 bar; das ist 100 Mal so viel, wie der Normaldruck auf der Erde.

Hinweis

Es wird oft von **radiophilen** Mikroorganismen gesprochen, welche unter hohen Dosen von ionisierender Strahlung wachsen können. Die meisten dieser Organismen tolerieren aber meist nur höhere Strahlungen und brauchen diese nicht für ihr Wachstum, sind also

eigentlich **radiotolerant** und nicht radiophil. Für einen echten Radiophilen ist Strahlung zum Wachsen nötig.

Es gibt auch Mikroorganismen, die an mehrere extreme Bedingungen gleichzeitig angepasst sind – sie sind also **polyextremophil**. Die Tiefsee zum Beispiel, weist nicht nur extreme Kälte auf, es herrscht dort auch ein erhöhter Druck. Somit sind Mikroorganismen, die diesen Lebensraum besiedeln Polyextremophile, nämlich piezo-psychrophil.

Beispiel

***Deinococcus radiodurans* - „Conan das Bakterium“** *Deinococcus radiodurans* ist einer der bekanntesten Polyextremophilen. Er besitzt einen Eintrag im Guiness Buch der Rekorde als resistentestes Bakterium der Welt. Deshalb wurde es „Conan das Bakterium“ getauft. Es gibt sogar einige Fan-Artikel dieses Superhelden-Bakteriums zu kaufen. Es überlebt eisige Kälte aber auch große Hitze, Trockenheit, Säure und darüber hinaus kann ihn auch eine intensive Strahlung nicht töten.

Menschen hatten eine solche Resistenz gegenüber extrem hohen Strahlen-Dosen nicht für möglich gehalten. *Deinococcus radiodurans* wurde eigentlich aus Versehen entdeckt, da er den Sterilisierungsprozess von Fleischkonserven überlebte und das Fleisch vergammelte. Dieses Super-Bakterium hat mehrere Kopien seines Genoms in der Zelle und besitzt zusätzlich noch Reparaturmechanismen, sodass er sein Erbgut reparieren kann, wenn dieses durch Strahlung zerstört wurde. In den letzten Jahren wurde intensiv

an diesem Bakterium geforscht und es wurden zahlreiche Mechanismen gefunden, die dazu beitragen, dass „Conan“ so resistent ist. Natürlich bringt diese Forschung Spekulationen mit sich, ob *Deinococcus radiodurans* aus dem Weltall auf die Erde gereist sei, oder ob „Conan“ auf dem Mars angesiedelt werden könnte. Auf jeden Fall wäre *Deinococcus radiodurans* als Weltrekord-Halter der vielversprechendste Kandidat für Ausflüge ins Weltall.

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="Deinococcus_klein.mp4">
Conan das Bakterium

Vertiefung

Pioniere der Forschung

Thomas Brock (*1926) ist einer der Pioniere der Forschung an Extremophilen. Mit der Entdeckung des thermophilen Bakteriums *Thermus aquaticus* startete der „Run“ auf dieses Wissenschaftsgebiet. Der Mikrobiologe Brock entdeckte diesen ersten thermophilen Mikroorgansimus in heißen Quellen des Yellowstone-Nationalparks (USA). *Thermus aquaticus* wächst optimal bei Temperaturen um 70° C und resultierte in der Hypothese, dass Leben überall dort möglich ist, wo Wasser in löslicher Form vorliegt, selbst an heißen Quellen von mehr als 100°C in der Tiefsee. Diese Entdeckung hatte großen Einfluss auf weitere Fachgebiete, da extremophile Mikroorgansimen und ihre Biokatalysatoren vielfältige Einsatzmöglichkeiten in der Schnittstellenwissenschaft der Biotechnologie bieten.

Koki Horikoshi (1932-2016) Der japanische Professor für Mikrobiologie machte sich vor allem durch die Entdeckung der Alkaliphilen einen Namen. Sein Team befasst sich mit der Erforschung von piezophilen Mikroorganismen, die am Grund der Tiefsee leben. Horikoshi unternahm zahlreiche Forschungsreisen, um diesem extrem kalten Hochdruckterrain seine Geheimnisse zu entlocken. Er setzte sich insbesondere für das Ansehen und die Verbreitung dieses relativ jungen Fachgebiets ein und war sowohl Gründungspräsident der Japanischen und der Internationalen Vereinigung für Extremophile (ISE – International Society of Extremophiles). Außerdem rief er die alle zwei Jahre stattfindende Internationale Konferenz der Extremophilen ins Leben. Horikoshi hat außerdem das renommierte wissenschaftliche Journal *Extremophiles* begründet und ist Herausgeber der ersten Auflage des Standardwerkes *Extremophiles Handbook*, welches einen nahezu vollständigen Überblick über das gesamte Themengebiet der Extremophilen gibt.

Wolfram Zillig (1925-2005) war ein deutscher Molekularbiologe, der für seine Arbeit mit verschiedenen extremophilen Archaeen wie *Sulfolobus sp.* und *Picrophilus sp.* sowie für die Untersuchung von archaellen Viren bekannt ist. Bereits in den 1950er Jahren entwickelte Zillig die noch immer genutzte Phenol-Extraktion zur Isolation von DNA und führte als einer der ersten die Proteinbiosynthese *in vitro*, also außerhalb einer Zelle, mit den isolierten dafür nötigen Komponenten durch. Durch seine Arbeit über RNA-Polymerasen aus extremophilen Archaeen unterstrich Zillig die durch Carl Woese sehr populär gewordene Hypothese der drei Reiche der Bakterien, Archaeen und Eukaryoten. Zillig zeigte, dass sich RNA-Polymerasen aus Archaeen deutlich von denen der Bakterien unterscheiden und eigentlich mit den entsprechenden Proteinen aus Eukaryoten näher verwandt sind. Ferner isolierte er zahlreiche neue thermophile *Archaea* und nahm Proben aus der ganzen Welt. Erwähnenswert ist hier noch die Isolation der thermoazidophilen Archaeen *Picrophilus torridus* und *Picrophilus oshimae*, die bei einem pH-Wert um 0 noch überleben.

Der Kühle

Mikroorganismus kommt aus der Tiefe (2.815 m) aus Sediment des Atlantiks vor der westafrikanischen Küste. Neugierig? **Dann klick hier!**

Der Lange

Bakterium ist unglaublich widerstandsfähig gegenüber hohen Salzkonzentrationen. '''Hier erfährst du mehr.'''

Der Anspruchsvolle

Mikroorganismus wurde in einer Tiefe von 6.278 m im Japangraben aus Sediment isoliert. Möchtest du mehr wissen? '''Dann klick hier!'''

Der flexible Dünnhäuter

Bakterium ist relativ dünnhäutig, dafür aber umso flexibler, was seine Anforderungen anbelangt. Näheres erfährst du **hier**.

Der Extremste

bei 113 °C noch lebt, trägt zu Recht den Namen "der Extremste". Wo er sich gerne aufhält, erfährst du **hier**.

Der mit der Toga

Bakterium wurde zum ersten Mal in Italien gesichtet und liebt heiße Quellen. Mehr über diesen Mikroorganismus findest du **hier.**

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

1.2 Wo finden wir Extremophile?

Extremophile Mikroorganismen können sich an die extremsten Umgebungen anpassen.

Extreme Umgebungen umfassen heiße und kalte Habitate oder saure und basische Habitate. Viele Habitate weisen sogar mehrere extreme Bedingungen auf. So ist die Tiefsee generell ein kaltes Habitat, was mit zunehmender Tiefe auch einen höheren Druck aufweist. Extremophile, die aus Sediment aus 6000 m Tiefe isoliert wurden, wachsen bei einem Druck von 600 bar. In der Tiefsee finden sich aber auch Habitate mit sehr hohen Temperaturen. Genauso gibt es auf der Erdoberfläche heiße und kalte Regionen.

Andere von Extremophilen bevorzugte Habitate sind:

- Heiße Quellen
- Schwefelquellen
- Vulkane
- Extrem salzhaltige Regionen (das Tote Meer, der Große Salzsee, etc.)

Natürlich gibt es auch vom Menschen geschaffene extreme Habitate wie zum Beispiel:

- Industrielle Prozesse mit extremen Temperaturen und/oder pH Werten
- Abfall-/Reststofflagerungen

Überall auf der Welt sind extreme Lebensräume zu finden. Schaut euch doch auf dieser Karte einmal um:

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein interaktives Element. Link zum Element: https://h5p.org/h5p/embed/56776

1.3 Extremophilen-Quiz

Hier könnt ihr euer Wissen über die Extremophilen testen. Viel Spaß!

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=pw9kzw65516

Urheberrecht

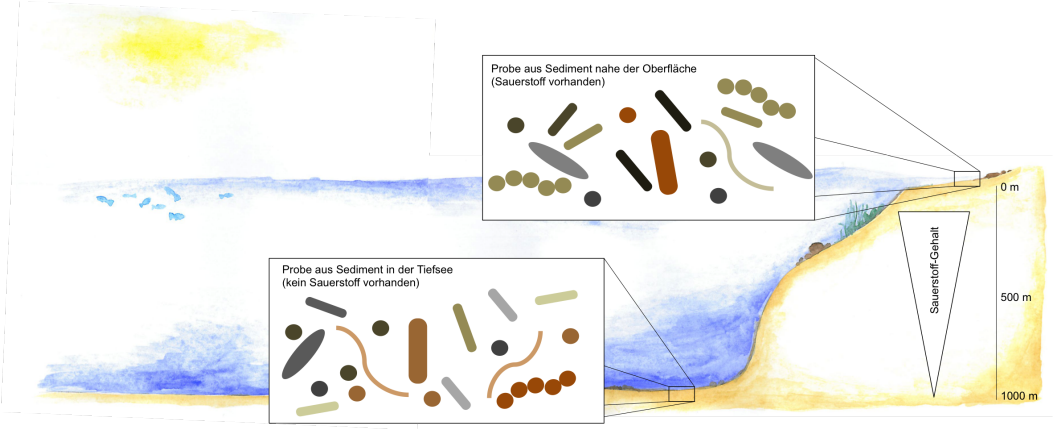
Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

2 Extremes Leben im Labor

In diesem Kapitel geht es ins Labor. Wir zeigen euch, wie Extremophile kultiviert werden und welche Nährmedien verwendet werden. Außerdem erklären wir euch den Unterschied bei der Anzucht von aeroben und anaeroben Mikroorganismen. Auch zeigen wir euch, wie wir anreichern und so nur die Mikroorganismen kultivieren, die die von uns gewünschten Eigenschaften besitzen. Testet euer neu gewonnenes Wissen am Ende des Kapitels in unserem Labor-Quiz!

Gliederung

2 Extremes Leben im Labor
2.1 Wie gedeihen Extremophile?
2.2 Wie reichern wir Extremophile an?
2.3 Labor-Quiz



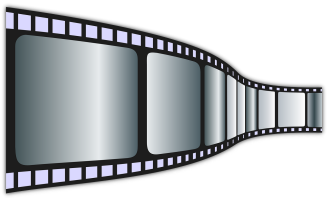
Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.
<br /

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

Besuch im Labor



Neulich hatte das Institut für Technische Mikrobiologie Besuch in seinem Labor. '''Schaut doch mal rein!'''

2.1 Wie gedeihen Extremophile?

Agar

Möchtest du wissen, was Agar überhaupt ist? Dann klick '''hier'''!
Mikroorganismen sind häufig an ihr Habitat angepasst. Mikroorganismen, die in der Tiefsee leben, sind also an andere Bedingungen angepasst als Mikroorganismen, die in Oberflächensediment leben.
Dementsprechend müssen wir im Labor die verschiedenen Bedingungen der Habitate so gut es geht nachahmen, damit die Mikroben sich „wie zu Hause“ fühlen.

Hinweis

Sehr viele Mikroorganismen können unter Labor-Bedingungen nicht wachsen. Es ist also nicht möglich alle Mikroorganismen, die in einer Probe präsent sind, im Labor zu kultivieren. In der Literatur ist oft die Rede davon, dass schätzungsweise nur **1 % aller Mikroorganismen** im Labor wachsen.

Wenn wir die Organismen aus einer Umweltprobe zum Wachsen bringen möchten, nennen wir dies kultivieren. Hierfür stellen wir zuerst ein Medium her, das möglichst die Nährstoffe des Habitats enthält. Für eine Meerwasserprobe würde zum Beispiel der Salzgehalt so ähnlich eingestellt wie der des Meerwassers. Auch erwarten wir von Mikroben aus der Tiefsee, dass sie anaerob, ohne Sauerstoff, wachsen. Denn in der Tiefsee ist kein Sauerstoff. Anders sieht es bei einer Probe aus Oberflächensediment aus. Diese Organismen würden aerob (mit Sauerstoff) wachsen.
Die Medienherstellung für Anaerobier ist etwas komplizierter als die für Aerobier. Das Medium muss gekocht und begast werden, damit kein Luft-Sauerstoff mehr gelöst ist. Als Gas wird oft Stickstoff (N_2) verwendet.

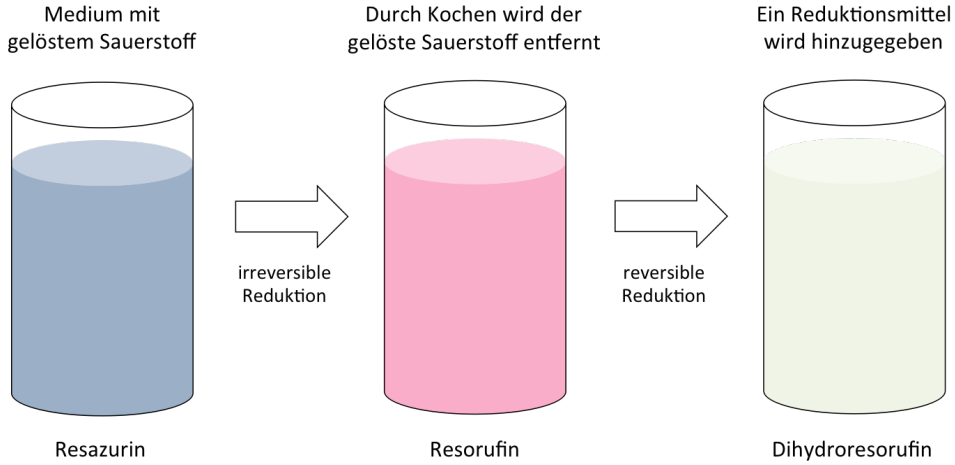
Frage

Wie geht das mit dem Kochen und dem Begasen?

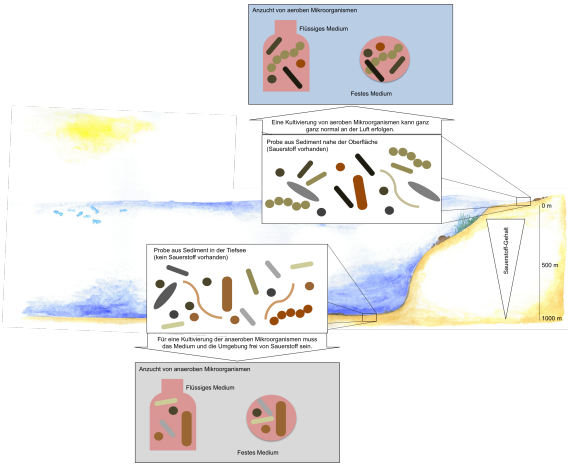
In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="NurBegasung_klein.mp4">

Medium für anaerobe Mikroorganismen kochen und begasen

Für das anoxische Arbeiten gibt es einen Indikator, Resazurin, der durch einen Farbumschlag die Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Sauerstoff anzeigt.



Generell muss ein Medium stets u.a. Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphat- haltige Verbindungen aufweisen, damit die DNA bei der Zellteilung repliziert werden kann.



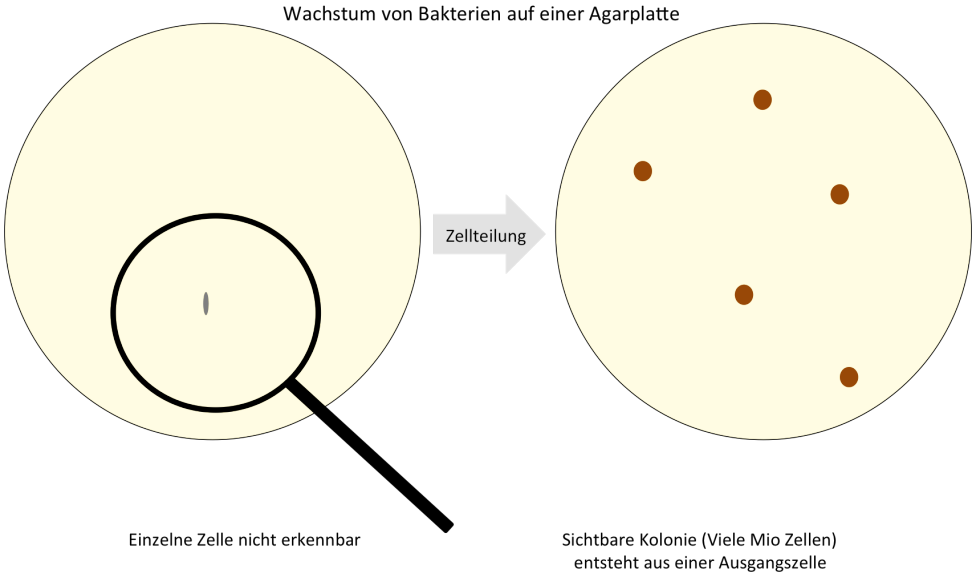
Kultivierung von aeroben und anaeroben Mikroorganismen

Das Nährmedium kann in flüssigem oder festen Zustand benutzt werden. Zum Beispiel wird für das Festmedium der Nährlösung ein zusätzlicher Bestandteil zugefügt, der Agar. Dieses Geliermittel wird aus den Zellwänden von Algen gewonnen. Bei hohen Temperaturen verflüssigt sich das Pulver und beim Abkühlen bildet es ein Gel aus.

Vertiefung

Agar
Agar ist ein Polysaccharid, das hauptsächlich aus Agarose (etwa 70 %) und Agaropektin (etwa 30 %) besteht. Es ist ein wichtiger Bestandteil in den Zellwänden verschiedener Rotalgen. Wollt ihr mehr über Agar wissen? Dann schaut doch einfach mal hier.

Dieses Gel kann man sich zu Nutze machen indem man Zellen auf der Oberfläche aufbringt. Die Mikroorganismen können die Nährstoffe aus dem gelierten Medium zum Wachsen aufnehmen, und durch die Zellteilungen entsteht aus einer mit dem Auge nicht sichtbaren Zelle eine sichtbare Kolonie auf der Oberfläche. Eine Kolonie besteht aus vielen Millionen Zellen.



Wenn Mikroorganismen in flüssigem Medium wachsen, sieht man eine Trübung des Mediums. Für Mikroorganismen, die Sauerstoff benötigen (die Aerobier), kann das Medium geschwenkt werden, damit eine bessere Durchmischung mit Sauerstoff stattfindet. Für eine anoxische Kultivierung, also die Kultivierung von anaeroben Organismen, darf die begaste Kultur nicht geöffnet werden. Für die Inkubation von Festmedium bedarf es einem speziellen Behältnis, damit die Agarplatten nicht in Kontakt mit Luftsauerstoff kommen.

Frage

Wie schnell vermehren sich eurer Meinung nach *E-coli*-Zellen? Schaut es euch in diesem Film an! Und lernt gleich noch etwas darüber, in welchem Tempo sich Elefanten fortpflanzen!

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.

<loop_video source="Legetrick_Elefant.mp4" image="Legetrick_Elefant_Vorschaubild.jpg" width="700" height="394">

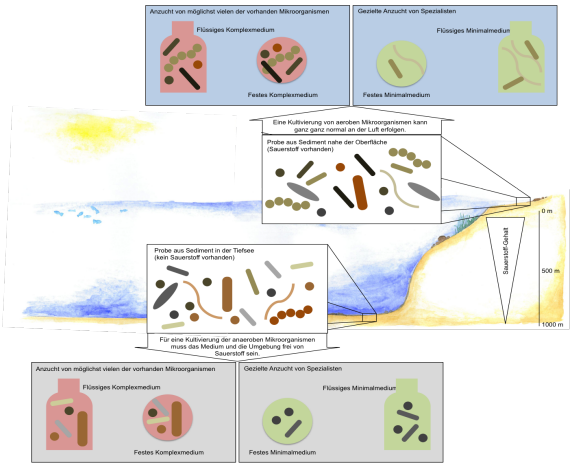
Wachstum von "E-coli" Zellen

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

2.2 Wie reichern wir Extremophile an?

Generell können wir verschiedene Medientypen unterscheiden. Das **Komplexmedium** ist reich an Nährstoffen, was viele Mikroorganismen mögen. Im Gegensatz dazu enthält das **Minimalmedium** viele einzelne definierte Zutaten, damit gezielt Spezialisten damit zum Wachsen angeregt werden können.



Anzucht von Mikroorganismen in Komplex- und Minimalmedium

Wenn im **Minimalmedium** zum Beispiel Cellulose die einzige Kohlenstoff-Quelle ist, können ausschließlich Mikroorganismen wachsen, die die Cellulose abbauen können um den Kohlenstoff zu verwenden. So können wir aus einer Umweltprobe mit hoher Diversität, das heißt mit hoher Artenvielfalt, vor allem die Arten anziehen, die Cellulose abbauen können. Diesen Prozess nennt man „anreichern“.

Um eine stabile Artengemeinschaft zu generieren wird die Kultur mehrfach überimpft. Das bedeutet, dass ein geringes Volumen aus der gewachsenen Kultur genommen wird, um frisches Medium erneut anzuimpfen. So kann man sicher gehen, dass die wachsenden Organismen auch wirklich die Cellulose abbauen.

Das gezielte Anreichern können wir uns zunutze machen, wenn wir nach neuen Cellulose-abbauenden Mikroorganismen, bzw. ihren Enzymen, suchen.

Hinweis

Wenn Mikroorganismen in flüssigem Medium wachsen, sieht man eine Trübung des Mediums. Für Mikroorganismen, die Sauerstoff benötigen (die Aerobier) kann das Medium geschwenkt werden, damit eine bessere Durchmischung mit Sauerstoff stattfindet.

Medium zum Anreichern von Cellulose-verwertenden Mikroorganismen aus einer Tiefseeprobe

NaCl	20,00 g/L
KCl	0,34 g/L
$MgCl_2$ x 6 H_2O	4,00 g/L
$MgSO_4$ x 7 H_2O	3,45 g/L
NH_4Cl	0,25 g/L
$CaCl_2$ x 2 H_2O	0,14 g/L
K_2HPO_4	0,14 g/L
Spurenelemente (10x)	1,00 mL/L
Cellulose	1 % (w/v)
Resazurin (1 %)	0,10 mL/L
	pH 6,4

Spurenelemente (1x), pH 7,0:

KNO_3	1,0 g/L
KBr	0,09 g/L
$SrCl_2$ x 6 H_2O	S7,5 mg/L
Na_2WO_4 x 2 H_2O	0,1 mg/L
Nitrilotriessigsäure	1,50 g/L
$MnSO_4$ x 2 H_2O	0,50 g/L
$FeSO_4$ x 7 H_2O	0,10 g/L
$CoSO_4$ x 7 H_2O	0,18 g/L
$ZnSO_4$ x 7 H_2O	0,18 g/L
$CuSO_4$ x 5 H_2O	0,01 g/L
$KAl(SO_4)2$ x 12 H_2O	0,02 g/L
H_3BO_3	0,01 g/L
Na_2MoO_4 x 2 H_2O	0,01 g/L
$NiCl_2$ x 6 H_2O	0,025 g/L
Na_2SeO_3 x 5 H_2O	0,30 mg/L

Nach dem Kochen hinzugeben:

$NaHCO_3$	5,00 g/L

Nach dem Autoklavieren hinzugeben:

Vitaminlösung (10x)	1,00 mL/L

Vitaminlösung (1x):

Biotin	2,00 mg/L
Folic acid	2,00 mg/L
Pyridoxine-HCl	10,00 mg/L
Thiamine-HCl x 2 H_2O	5,00 mg/L
Riboflavin	5,00 mg/L
Nicotinic acid	5,00 mg/L
D-Ca-pantothenate	5,00 mg/L
Vitamin B_{12}	0,10 mg/L
p-Aminobenzoic acid	5,00 mg/L
Lipoic acid	5,00 mg/L

Rezeptliste für ein **Minimalmedium** ist meist sehr lang. Ein Minimalmedium besitzt genau definierte Bestandteile und richtet sich nach den Nährstoffansprüchen eines bestimmten Organismus. Meist werden neben anorganischen Salzen und einer Energiequelle wie zum Beispiel Zucker auch Spurenelemente und Vitamine benötigt. Dieses Medium kann man sich zu Nutze machen um gezielt Organsimen anzureichern, die ein bestimmtes Substrat abbauen können. So kann man Substrate als einzige Kohlenstoff-, Stickstoff- oder Phosphat-Quelle zugeben.

LB (lysogeny broth)-Medium

Trypton	10,00 g/L
Hefeextrakt	5,00 g/L
NaCl	10,00 g/L
	pH 7,0

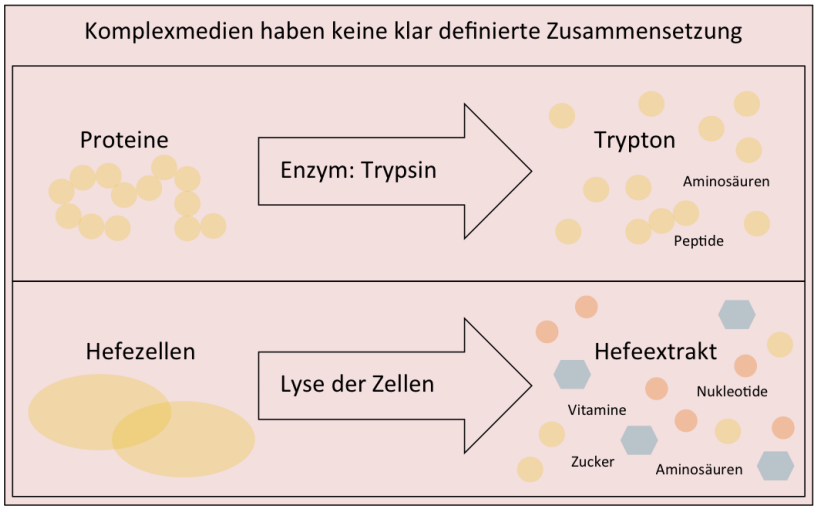
Für Festmedium

Agar	15,00 g/L

Die Rezeptliste für ein **Komplexmedium** ist meist sehr kurz. Die organischen Bestandteile hierfür sind nicht genau definiert. In der Praxis finden sie häufig Anwendung, da eine Vielzahl von Mikroorganismen hier Nährstoffe findet, die für das Wachstum nötig sind.

Vertiefung

Für die Herstellung von **Komplexmedien** werden meist Hydrolysate wie zum Beispiel Trypton oder Pepton verwendet.



Diese werden mit Hilfe der Enzyme Trypsin und Pepsin aus Proteingemischen gewonnen und sind demnach reich an Aminosäuren und Peptiden. Auch Hefeextrakt ist oft eine Komponente von Komplexmedien. Dabei handelt es sich um alle löslichen Bestandteile aus lysierten Hefezellen, die wiederum als Nahrungsquelle Verwendung finden.

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

2.3 Labor-Quiz

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=p1x1q06qt16

Urheberrecht

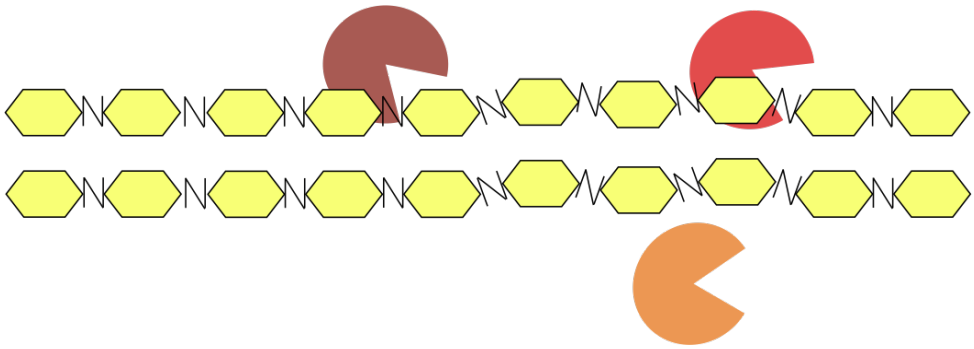
Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

3 Extremes Werkzeug

In diesem Kapitel lernt ihr das "Werkzeug" der Extromphilen kennen – die Enzyme. Wir zeigen euch, was Enzyme sind und was Extremozyme so besonders macht. Außerdem erfahrt ihr mehr über die Gruppe der Biomasse-abbauenden Enzyme. Diese dienen nicht nur den Mikroorganismen, sondern sind auch für uns Menschen nutzbar. In unserem Enzym-Quiz könnt ihr dann euer Wissen über dieses leistungsstarke Werkzeug unter Beweis stellen.

Gliederung

3 Extremes Werkzeug
3.1 Was sind Enzyme?
3.2 Wie bauen Enzyme Biomasse ab?
3.3 Enzym-Quiz



Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.
<br /

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

3.1 Was sind Enzyme?

Enzyme sind **Biokatalysatoren**. Biokatalysatoren beschleunigen biochemische Reaktionen, indem sie die dafür benötigte Energie verringern. Sie sind ein wichtiger Bestandteil aller Lebewesen, da sie für elementare Funktionen im Organismus verantwortlich sind. So ermöglichen Enzyme alle wichtigen Stoffwechselvorgänge, wie zum Beispiel die Verdauung. Sie setzen genetische Informationen um und sind so für alles Lebendige unerlässlich. Bis auf wenige Ausnahmen sind Enzyme Proteine, also Eiweiße. Aber Achtung: Nicht alle Proteine sind Enzyme!

Vertiefung

Proteine sind aus gefalteten Aminosäureketten aufgebaut. Die Information für die Reihenfolge der Aminosäuren ist direkt in der DNA gespeichert. Bei Bedarf erstellt die Zelle von dieser DNA eine „Abschrift“. Mit den darin enthaltenen Informationen werden durch die Ribosomen einzelne Aminosäuren zu einer Kette verbunden. Das Protein ist entstanden!

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="Smartboard_Proteine_kurz.mp4">
Von Aminosäuren, Proteinen und Extremozymen

Frage

Die Information für den Aufbau von Enzyme ist in der DNA gespeichert. Für die Umsetzung der Information in Proteine werden wiederum Enzyme benötigt. Was war also zuerst da? Das ist wie mit der Henne und dem Ei...

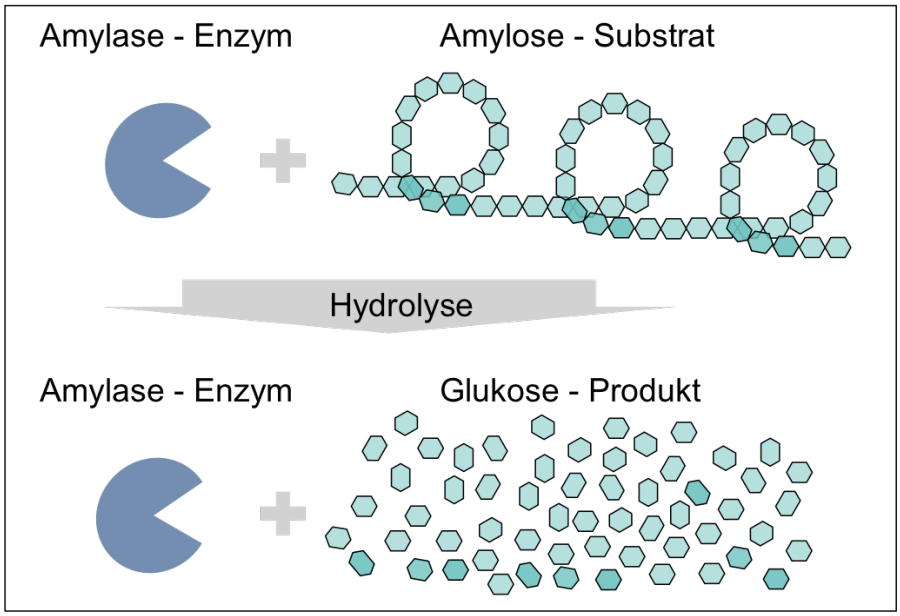
Enzyme sind Spezialisten

Die Reaktionen, die Enzyme katalysieren können, sind sehr vielfältig. Dabei ist jedes Enzym meist auf eine bestimmte Reaktion spezialisiert. So gibt es zum Beispiel Enzyme, die speziell die Spaltung von Polysaccharidketten (wie Cellulose oder Stärke) in kleinere Bausteine zuständig sind.

Frage

Wie kommt die Spezialisierung der Enzyme zustande? - Die Spezialisierung kommt durch die Faltung des Enzymes zustande, bei der meist nur ein bestimmter Stoff (das sogenannte Substrat) als Ausgangsmaterial passt.

Zunächst ging man davon aus, dass die Bindung zwischen Enzym und Substrat nach dem **Schlüssel-Schloss-Prinzip** erfolgt. Diese Theorie wurde dann zum **Induced-Fit-Modell** weiterentwickelt. Es besagt, dass sich die Passform des Enzym-Substrat-Komplexes erst durch gegenseitige Wechselwirkung ausbildet.
Das Enzym ermöglicht durch Verringerung der benötigten Energie eine **Reaktion**, bei der aus den Substrat ein Produkt gebildet wird. Das Enzym bleibt dabei unverändert und kann die nächste Reaktion katalysieren.



'''

Frage

Sind Enzyme eigentlich unzerstörbar? - Keineswegs! Ähnlich wie das Eiweiß eines Hühnereis in der Bratpfanne, können Enzyme unumkehrbar verändert werden.

Auch das Eiweiß des Hühnereis besteht neben Wasser aus gefalteten Aminosäureketten. Durch die Hitze in der Bratpfanne wird diese Faltung zerstört. So ergeht es auch den meisten Enzymen bei hohen Temperaturen. Diesen Vorgang nennen wir **Denaturierung**. Dabei werden die Bindungen und Wechselwirkungen, die die Faltung aufrechterhalten, aufgelöst. Der innere hydrophobe (also wasserabstoßende) Teil der gefalteten Aminosäurekette wird freigelegt. Das Protein verliert dadurch seine Wasserlöslichkeit und bildet gleichzeitig Netzwerke mit den hydrophoben Abschnitten anderer denaturierter Proteine in seiner Umgebung. Es entsteht ein chaotisches Durcheinander aneinanderhaftender Ketten. Dadurch wird das Eiweiß in der Pfanne weiß und fest. Der gleiche Effekt sorgt übrigens auch bei einer Dauerwelle für perfekten Halt.

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="Dauerwelle_kurz.mp4">
Die Struktur von Proteinen spielt eine wichtige Rolle bei der Dauerwelle

Die Enzyme thermophiler Mikroorganismen hingegen können hohe Temperaturen ertragen und behalten so auch ihre Faltung und Funktion. Diese thermostabilen Enzyme besitzen eine stabilere Faltung, die durch häufigere Anziehungskräfte zwischen verschiedenen Aminosäuren erzeugt wird. Diese Anziehungskräfte sorgen aber auch dafür, dass die Enzyme bei niedrigeren Temperaturen starr werden. Deshalb funktionieren sie nur noch wenig oder gar nicht, wenn es kühl ist. Dafür gibt es wiederum Enzyme psychrophiler Organismen, die bei niedrigen Temperaturen relaxt sind und dabei Reaktionen sehr gut katalysieren können. Allerdings halten diese Enzyme meist nicht viel Wärme aus. Auch ein hoher Salzgehalt, ein hoher Druck oder ein extremer pH Wert, z.B. durch Säure, zerstört die Faltung der meisten Proteine. Doch auch an diese extremen Lebensbedingungen haben sich Mikroorganismen mit ihren Enzymen angepasst.

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

3.2 Wie bauen Enzyme Biomasse ab?

Cellulose und Cellulasen

Interessiert ihr euch dafür, wie sich Enzyme klassifizieren lassen? Dann schaut doch mal '''hier''' rein!

Rohstoff-Substrat-Quiz

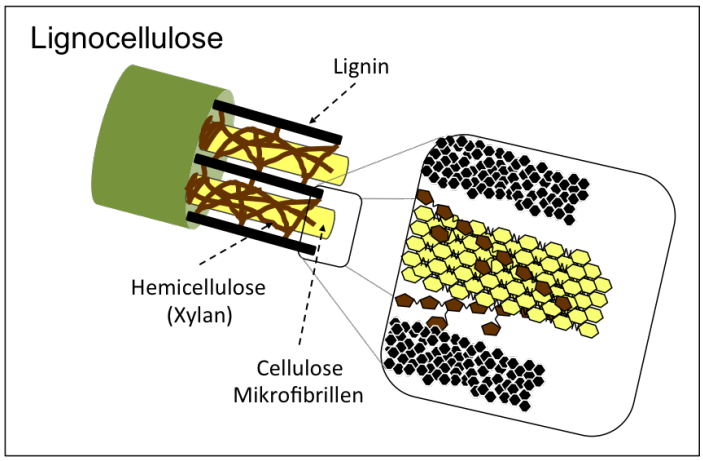
Beeindruckend, was so alles in unseren Rohstoffen steckt! Schau dir mal unser Quiz an! Biomasse kann sich aus vielen verschiedenen Stoffen zusammensetzen. Pflanzliche Biomasse besteht unter anderem aus Stoffen wie Lignocellulose, Stärke oder Lipiden. Für den Abbau dieser Stoffe werden bestimmte Enzyme benötigt.

Definition

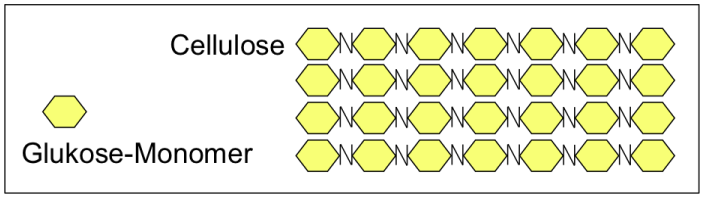
Biomasse

Der Begriff Biomasse bedeutet organisches Material, was eigentlich nichts anderes meint als das, woraus Lebewesen aufgebaut sind. In der Biotechnologie werden mit dem Wort „Biomasse“ oft Pflanzen oder Pflanzenbestandteile beschrieben.

Lignocellulose

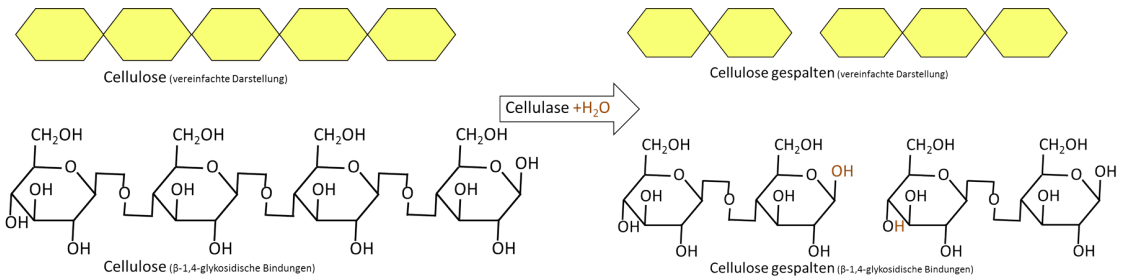


, die in die Höhe wachsen, benötigen dafür Stabilität. Ihre Zellwände enthalten daher Lignocellulose, eine Mischung aus Lignin, Cellulose und Hemicellulose. Cellulose und Hemicellulose sind Polysaccharide, das bedeutet, dass viele Zucker zu einem größeren Molekül verknüpft sind. In diese Polysaccharide ist das Lignin eingebettet. Lignin ist die Komponente, die das Verholzen verursacht und damit besondere Stabilität gibt.



Cellulose besteht aus vielen miteinander verknüpften Glucose-Molekülen. Hunderte oder meist Tausende Glucose-Monomere sind aneinander gereiht und ergeben als lange Kette die Cellulose. In der Pflanze sind die Ketten parallel angelagert und durch Wasserstoff-Brückenbindungen bilden sich so Cellulose-Fibrillen. Die Funktion der Zelle ist dann, je nach Ort, zur Stabilität und zum Schutz beizutragen oder auch als Nährstoffspeicher zu dienen.

Die Glukose-Moleküle der Cellulose sind über β-1,4-glykosidische Bindungen verknüpft. Enzyme, die diese Bindungen spalten können, werden Cellulasen (Endo β-1,4-Glukanasen) genannt. Cellulasen gehören zur Gruppe der Hydrolasen, da für die Spaltung der Cellulosebindungen ein Wasser-Molekül benötigt wird.



In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="CelluloseAbbau.mp4">

Enzyme können Cellulose zu Glucose abbauen

Hemicellulose ist ein weiterer Bestandteil der sekundären Zellwand. Dieses Polymer kann je nach Pflanzenart unterschiedlich aufgebaut sein. Hemicellulosen sind verzweigte Polysaccharide, die aus verschiedenen Zuckern wie zum Beispiel Xylose, Glucose oder Arabinose aufgebaut sein können. Da diese Polysaccharide oft verzweigt sind bildet Hemicellulose in der Pflanzenzellwand eine Art Füll- oder Verbindungsgewebe zwischen Cellulose und Lignin.

Hinweis

Um Lignocellulose zu verarbeiten wird häufig eine aufwendige Trennung der Hauptkomponenten Cellulose, Hemicellulose und Lignin vorgenommen. Vor allem das Lignin, welches nicht aus Zuckern besteht, ist in vielen Prozessen störend für das Endprodukt.

Stärke

ärke ist wie Cellulose auch aus Glucose-Monomeren aufgebaut. Die Verbindungen der Monomere sind allerdings anders, weshalb das Polysaccharid andere Eigenschaften hat. In Pflanzen dient Stärke häufig als Energiespeicher. Allgemein besteht Stärke aus zwei verschiedenen Strukturen, der Amylose und dem Amylopektin.

Amylose ist eine Glucose-Kette, die eine Helix bildet, also schraubenförmig gewunden ist. Amylopektin ist ein stark verzweigtes Glucose-Gebilde.

Der Stärke-Abbau erfolgt auch ganz natürlich in der Pflanze, wenn diese ihre Stärke-Reserven benötigt. Hierfür hat sie selbst ein Gen, welches sie bei Bedarf anschalten kann, um das Gen ablesen zu lassen und die Enzym-Produktion zu starten. Das produzierte Enzym spaltet die Ketten zu einzelnen Glucose-Moleküle, die verwertet werden können.

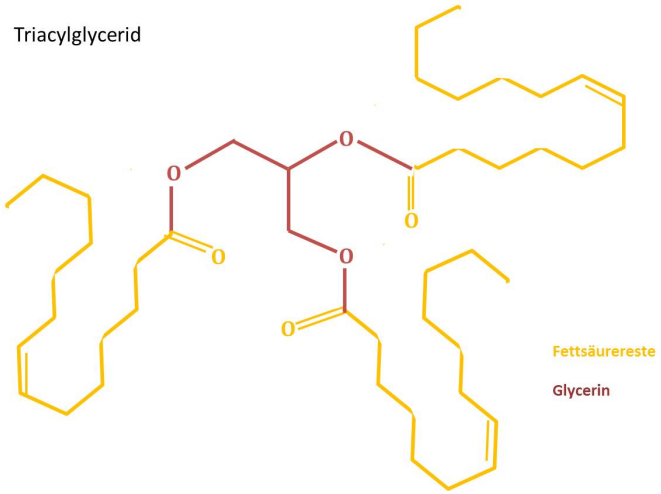
Wichtig

In vielen industriellen Prozessen werden Enzyme für die **Verzuckerung von Stärke und Cellulose** eingesetzt. Dabei verwendet man verschiedene Typen von Enzymen. Einige Enzyme sind zum Beispiel darauf spezialisiert ein Glucose-Molekül am Ende der Kette abzuspalten während andere die Spaltung innerhalb langer Ketten katalysieren. Somit werden für bestimmte Prozesse gezielt bestimmte Enzyme eingesetzt.

Lipide

Neben Cellulose und Stärke können auch Fette Bestandteile von Biomasse sein. Fette gehören zu den **Lipiden**, einer weit gefächerten Gruppe von meistens wasserunlöslichen (hydrophoben) Stoffen. Diese Stoffklasse findet man in allen lebenden Organismen in der Zellmembran, als Energiespeicher oder als Signalmolekül. Zu den Lipiden gehören neben den Fetten auch Fettsäuren, Wachse, membranbildende Lipide (wie Phospholipide und Sphingolipide) und einige andere Stoffe.

Chemisch betrachtet sind Fette **Triacylglyceride**, die aus Glycerin und drei Fettsäureresten bestehen. Die über eine Esterbindung an Glycerin gebundenen Fettsäurereste sind meist verschieden, indem ihre Länge und Anzahl von Doppelbindungen variieren. Das bedeutet, dass der Fettsäurerest aus einer unterschiedlichen Anzahl von C-Atomen zusammengesetzt ist. Fettsäuren mit Doppelbindungen werden als ungesättigt und solche ohne Doppelbindungen als gesättigt bezeichnet.



Fettsäuren mittlerer Länge bestehen aus 6 bis 12 und lange Fettsäurereste aus 14 bis 24 C-Atomen.

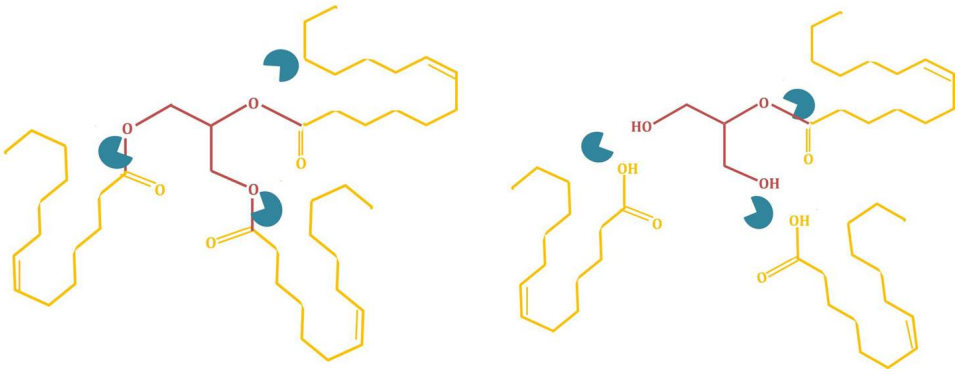
Frage

Die abergläubische Fettsäure?

Ist es euch aufgefallen? Ein Fettsäurerest mit 13 C-Atomen wurde gerade eben nicht genannt. Woran das wohl liegen mag? Für alle Forscher unter euch: versucht es herauszufinden!

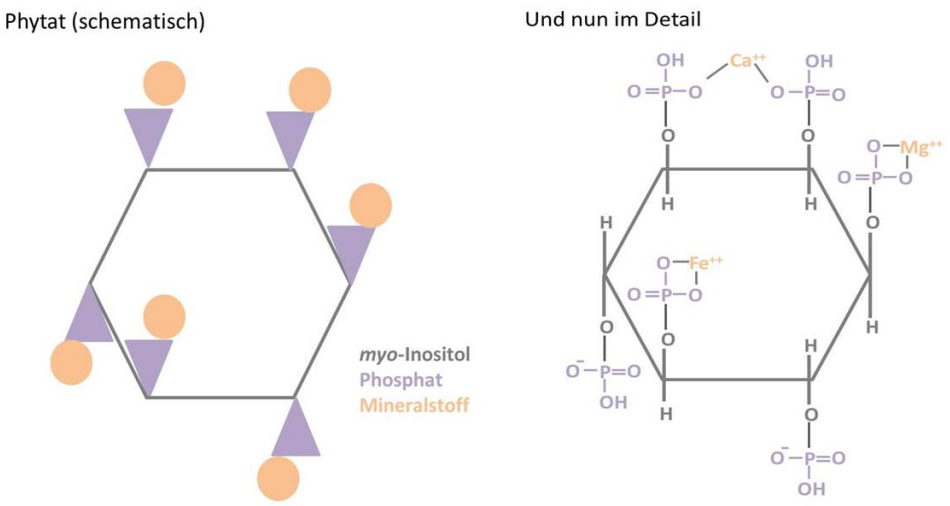
Aberglaube ist hier nicht mit im Spiel. Fettsäuren mit einer ungeraden Anzahl von C-Atomen haben einfach eine geringe Bedeutung. Die Fettsäure mit 13 C-Atomen heißt Tridecansäure und kommt in der Natur nur selten und in geringen Konzentrationen vor. Man findet sie bspw. mit 0,3 % im kubanischen Sternfruchtöl.

Triacylglycerid-spaltende Enzyme werden **Lipasen** genannt. Lipasen spalten die Esterbindung zwischen dem Glycerin und den Fettsäureresten. Wie die Cellulasen benötigen die Lipasen dafür ein Wassermolekül, daher handelt es sich um eine hydrolytische Reaktion. Dieser Vorgang wird **Lipolyse** genannt. Die Produkte bei einer vollständigen Reaktion sind Glycerin und freie Fettsäuren.

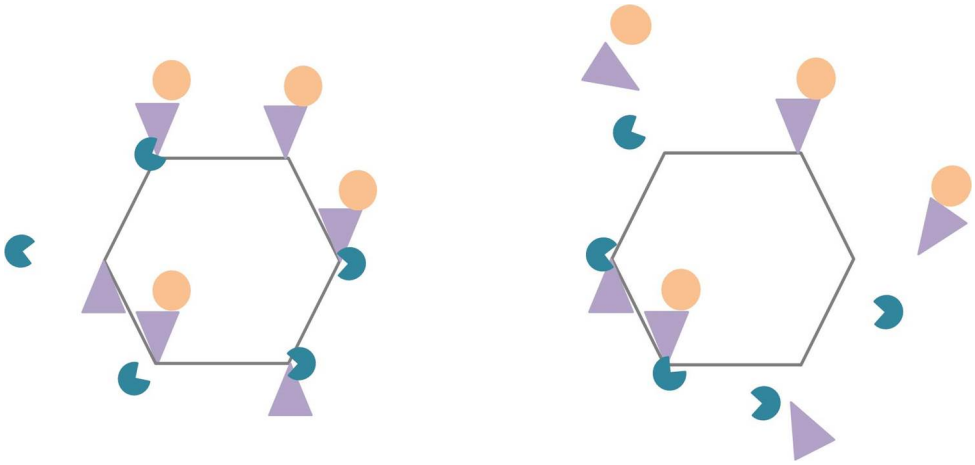


Phytat

Pflanzen benutzen nicht nur Fette als Speicherstoff sondern auch **Phytat**. Phytat ist das Salz der Phytinsäure und ist die **Hauptspeicherform von Phosphat** in Pflanzen. Je nach Pflanzenteil unterscheidet sich die Menge an Phytat. In Samen und Getreide ist besonders viel Phosphat in Form von Phytat gebunden.
Bei Phytat handelt es sich um ein Anion, das viele Arten von Kationen bindet. Kationen sind dabei unter anderem die Mineralstoffe Calcium, Magnesium und Eisen. Diese Kationen werden über zwei Bindungsstellen an Phosphat gebunden. Das wird auch **Chelatkomplexbildung** genannt. Darüber hinaus bildet Phytat mit Proteinen Chelate, sodass für die Verdauung notwendige Enzymaktivitäten, bspw. von Amylase und Trypsin, blockiert werden.



Das Grundgerüst, also der sechseckige Ring, nennt sich *myo*-Inositol, an das Phosphatgruppen gebunden sind. Die Enzyme, die Phosphat vom *myo*-Inositol freisetzen, heißen **Phytasen** (myo-Inositol-Hexakisphosphat-Phosphohydrolasen). Dabei erfolgt eine Hydrolyse der Phosphomonoesterbindung zwischen dem Grundgerüst und der Phosphatgruppe. Für die Abspaltung der Phosphatgruppen brauchen die Phytasen Wassermoleküle. Es handelt sich daher bei Phytasen um Hydrolasen.



Durch die Phytasen werden nicht nur Phosphat sondern auch Mineralien freigesetzt und stehen damit zum Beispiel Körner-fressenden Tieren wieder zur Verfügung. Die **Bioverfügbarkeit** wird verbessert und die Tiere haben mehr von ihrem Futter.

Frage

Was haben Cellulasen, Lipasen und Phytasen gemeinsam?
Denkt kurz nach ... Ach ja, die Reaktion aller drei Enzymgruppen braucht Wasser, sonst kann die Reaktion nicht stattfinden. Daher handelt es sich bei Cellulasen, Lipasen und Phytasen um **Hydrolasen**.

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

3.3 Enzym-Quiz

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=p8hpgddh216

Urheberrecht

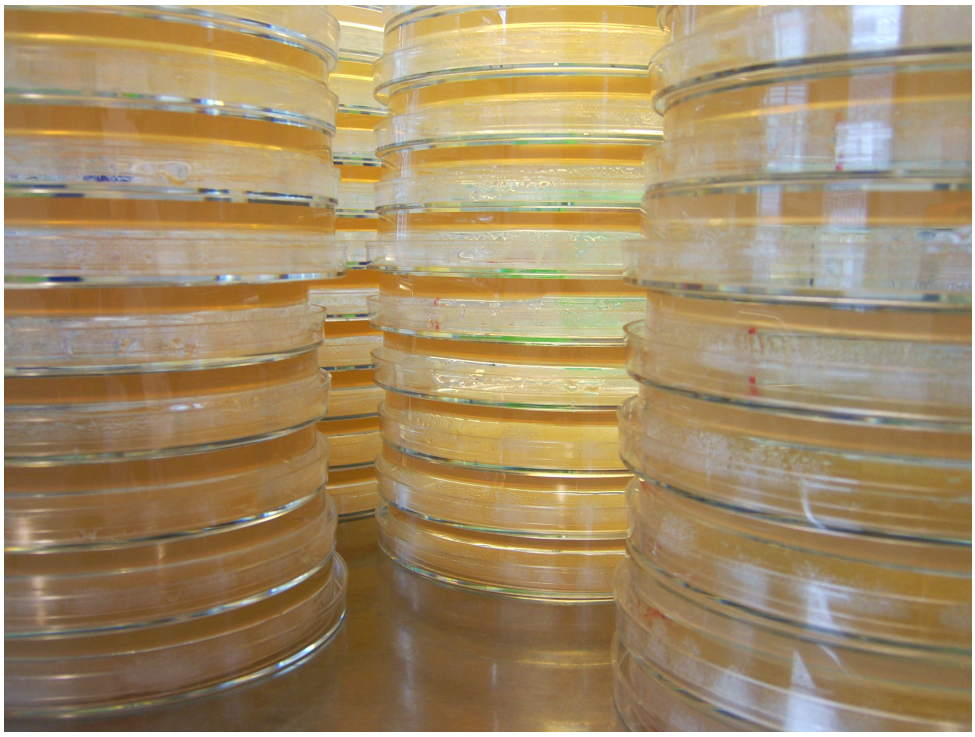
Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

4 Extremes Werkzeug im Labor

In diesem Kapitel zeigen wir euch, wie wir im Labor nach neuen Enzymen für industrielle Anwendungen suchen. Außerdem erfahrt ihr, wie wir Enzyme von Mikroorganismen produzieren lassen. Bis ein solches Enzym zu Hause in eurem Waschmittel landet, ist es ein langer Weg, auf dem einiges zu bedenken ist. Auch hierüber möchten wir euch informieren. Zum Schluss könnt ihr euer Wissen in einem Quiz testen.

Gliederung

4 Extremes Werkzeug im Labor
4.1 Wie finden wir neue Enzyme für industrielle Anwendungen?
4.2 Wie produzieren wir Enzyme für industrielle Anwendungen?
4.3 Labor-Enzym-Quiz



Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.
<br /

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

4.1 Wie finden wir neue Enzyme für industrielle Anwendungen?

Um Enzyme in großer Menge für die industrielle Anwendung produzieren zu können, werden optimierte Produktionsstämme verwendet. Diese stellen das gewünschte Enzym her. Sie benötigen dafür den Bauplan des Proteins – das Gen. Wie gelangen wir also an die Baupläne von neuen unbekannten Enzymen?

DNA-Isolierung

Der Bauplan von Proteinen, also die Gene, sind in der DNA kodiert. Wir benötigen also die DNA der Organismen, die Gene für neue unbekannte Enzyme enthalten. Um die DNA aus den Zellen zu isolieren, werden die Zellen aufgebrochen und die gesamte darin enthaltene DNA von den restlichen Zellbestandteilen (Proteine, Membranen,...) abgetrennt.

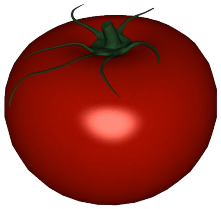
Vertiefung

Die **DNA** besteht aus einem Doppelstrang von aneinandergereihten Nukleotiden und ist Träger der Erbinformation des Organismus. Diese Information ist in den kodierenden Bereichen, den Genen, hinterlegt. Daneben gibt es auch nicht kodierende Bereiche, die regulatorische oder bisher noch nicht erforschte Funktionen besitzen.

Die DNA kann dann zur Größenanalyse mittels **Agarose-Gelelektrophorese** aufgetrennt werden. Wie das funktioniert seht ihr hier.

Experiment

DNA-Isolierung aus Tomaten

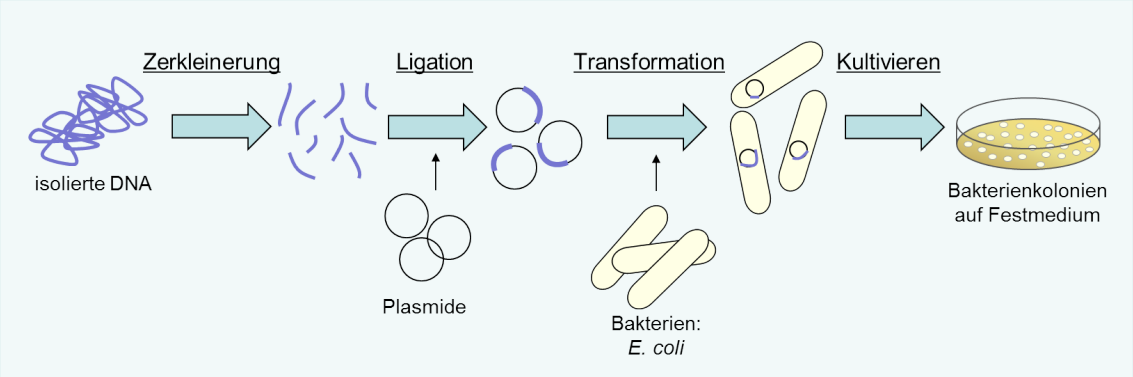


Wie kann man mit Haushaltschemikalien eine DNA-Isolierung aus Tomaten vornehmen? Schaut es euch in diesem Film an!

Video: Biokatze (2012). Isolierung der DNA aus Tomaten.

Link: https://youtu.be/_5rm8r2RJJw

Erstellung einer Genbank



Um in der großen Menge an DNA mit sehr vielen unterschiedlichen Informationen das gewünschte Gen zu finden, wird eine Genbank erstellt. Hierfür wird die DNA zunächst **in Fragmente zerkleinert**. Dies kann durch mechanische Kräfte oder durch sogenannte Endonukleasen erfolgen. Endonukleasen sind Enzyme und schneiden die DNA bei bestimmten Erkennungssequenzen.
Die DNA-Fragmente werden anschließend in ringförmige DNA-Moleküle, sogenannte **Plasmide**, eingebracht. Diesen Vorgang nennen wir Ligation. Jedes der erzeugten Plasmide enthält im Optimalfall ein anderes Stück DNA.

Wichtig

Das Einbringen der DNA-Fragmente in Plasmide ist ein wichtiger Schritt. Nur so bleibt die DNA später in den Zellen stabil und kann auch vervielfältigt und bei der Zellteilung an die Tochterzellen weitergegeben werden.

Um die auf den DNA-Fragmenten enthaltenen Informationen in Proteine umzuwandeln, werden die fertigen Plasmide in Bakterien eingebracht. Diesen Schritt nennen wir **Transformation**. Hierfür verwenden wir meist das gut erforschte Bakterium *E. coli*. Das Einbringen der Plasmide in *E. coli* kann dabei über einen Hitze- oder Elektroschock (Elektroporation) erfolgen.

Die Bakterien werden anschließend auf festem Nährmedium verteilt und kultiviert. Dabei teilen sich die Bakterien, sodass kleine Zellhaufen entstehen, die wir Kolonien nennen. Die Zellen einer Kolonie enthalten dabei alle dasselbe Plasmid. Jede Kolonie enthält idealerweise ein anderes Plasmid mit einem anderen DNA-Fragment. Unsere Genbank ist fertig!

Aus der Praxis

Selektion

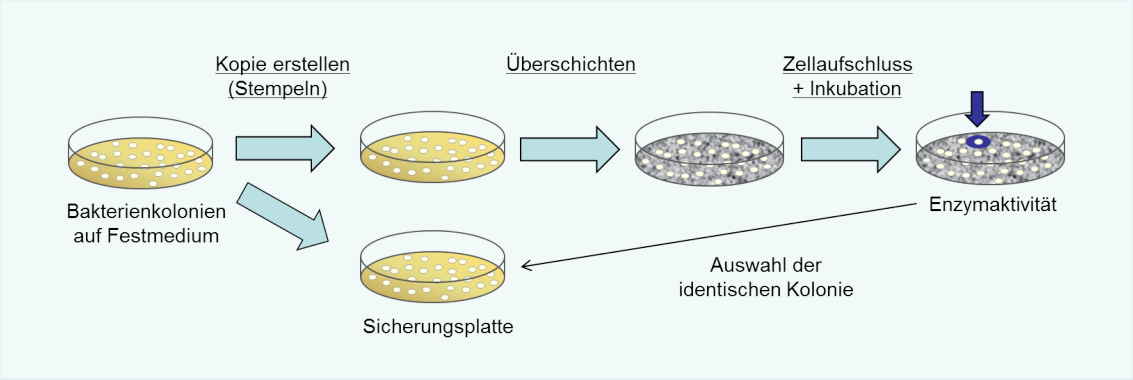
Das Nährmedium, auf dem die Zellen kultiviert werden, enthält ein Antibiotikum. Es können nur Zellen wachsen, die ein entsprechendes Resistenzgen enthalten. Dieses Resistenzgen ist in allen unserer Plasmide enthalten. Es überleben also nur die Zellen, die auch eines der Plasmide enthalten. Zellen behalten Plasmide und geben sie auch nur an ihre Tochterzellen weiter, wenn sie ihnen einen solchen entscheidenden Vorteil bieten. Plasmide sind für Zellen nämlich Schwerstarbeit: Bei jeder Zellteilung müssen auch die Plasmide vervielfältigt werden.

Screening: Die Suche nach dem „richtigen“ Gen

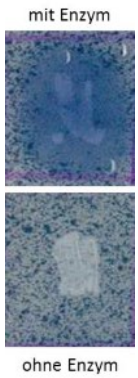
Jetzt wird es spannend: Wir müssen nun die Kolonie ausfindig machen, die unser gewünschtes Enzym produziert. Die Bakterien der Kolonie enthalten auf dem Plasmid den Bauplan für das Enzym - also das gesuchte Gen.

Für den Nachweis der Enzymaktivität muss das Enzym aus den Zellen freigesetzt werden. Dafür werden die **Zellen aufgebrochen und zerstört**. Das kann zum Beispiel durch Hitze erfolgen. Bei der Suche nach thermostabilen Enzymen bietet sich das an, da das Bakterium *E. coli* optimal bei 37 °C wächst, aber bei Hitze aufplatzt. Bei hohen Temperaturen „arbeitet“ auch das gesuchte thermostabile Enzym am besten. *E. coli*-Zellen können auch enzymatisch aufgebrochen werden. Dabei werden die Bakterienkolonien mit bestimmten Enzymen behandelt, wodurch die Zellwand und -membran der Bakterien zerstört und der Zellinhalt freigesetzt wird. *E. coli*-Zellen lysieren in ihrer finalen Phase des Wachstums (Absterbephase) nach einigen Tagen auf Kulturplatten auch von selbst (Autolyse). Dadurch kann unser gewünschtes Enzym auch freigesetzt werden.

Aber Achtung: Da wir am Ende lebendige Bakterien mit unserem gesuchten Gen benötigen, müssen wir vorher jeweils eine Kopie von unseren Kulturplatten erzeugen. Dies funktioniert wie beim **Stempeln** (siehe Video unten).



Für den **Nachweis von Enzymaktivitäten** auf Kulturplatten gibt es verschiedene Methoden:

Zum Nachweis von **Polysaccharid-abbauenden Enzymen**, wie Cellulasen, werden zum Beispiel AZCL-Substrate verwendet (AZCL = azurine-cross-linked = Azurin-gekoppelt). Bei der AZCL-Cellulose ist das wasserunlösliche Polysaccharid mit dem blauen Farbstoff Azurin chemisch verbunden. AZCL-Polysaccharide bestehen daher aus kleinen wasserunlöslichen blauen Krümelchen. Auf der Suche nach Polysaccharid-abbauenden Enzymen wird eine Kulturplatte mit Bakterienkolonien mit dem entsprechenden AZCL-Polysaccharid überschichtet. An Stellen mit enzymatischer Aktivität wird das Polysaccharid in wasserlösliche Produkte gespalten, die in der Kulturplatte diffundieren können. Dadurch bildet sich eine blaue „Wolke“ um den Krümel. Diese Wolke nennen wir Halo.	

Auch **Fett-spaltende Enzyme**, wie Lipasen und Esterasen, können in einer Metagenombank gesucht werden. Hierfür wird dem Nährmedium Tributyrin zugefügt. Da Tributyrin wasserunlöslich ist, wird die Kulturplatte milchig trüb. Nun werden die Bakterienzellen der Metagenombank darauf ausplattiert. Durch lipolytische Aktivität von Enzymen wird das Tributyrin in die wasserlöslichen Produkte Glycerin und Buttersäure gespalten. Die Kulturplatten werden an diesen Stellen klar und durchsichtig. Bakterienkolonien, die eine Lipase oder Esterase produzieren, weisen daher einen durchsichtigen Bereich um die Kolonie auf. Diesen Bereich nennen wir Halo.	mit Enzym ohne Enzym
Phytat ist das Salz der Phytinsäure und kommt in größeren Mengen in Getreide und Hülsenfrüchten vor. Es enthält sehr viele Phosphat-Ionen, welche durch Enzyme, die **Phytasen** genannt werden, abgespalten werden können. Um Phytasen in einer Metagenombank nachzuweisen, wird den Kulturplatten Calcium-Phytat zugefügt. Ca-Phytat ist ein wasserunlösliches Salz was die Kulturplatten milchig-weiß färbt. Phytasen können das Ca-Phytat in wasserlösliche Produkte spalten. Dadurch werden die milchig-weißen Kulturplatten an Stellen mit Phytase-Aktivität klar und durchsichtig. Bakterienkolonien, die eine Phytase produzieren, weisen daher einen durchsichtigen Bereich um die Kolonie auf. Diesen Bereich nennen wir Halo.	mit Enzym ohne Enzym

Haben wir eine Kolonie mit einem Halo gefunden, müssen wir anschließend nur noch auf der Originalplatte die identische Kolonie mit lebenden Zellen suchen. Diese enthält das Plasmid mit unserem gesuchten Gen.

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="GenbankScreening_klein3.mp4">
Screening einer Genbank

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

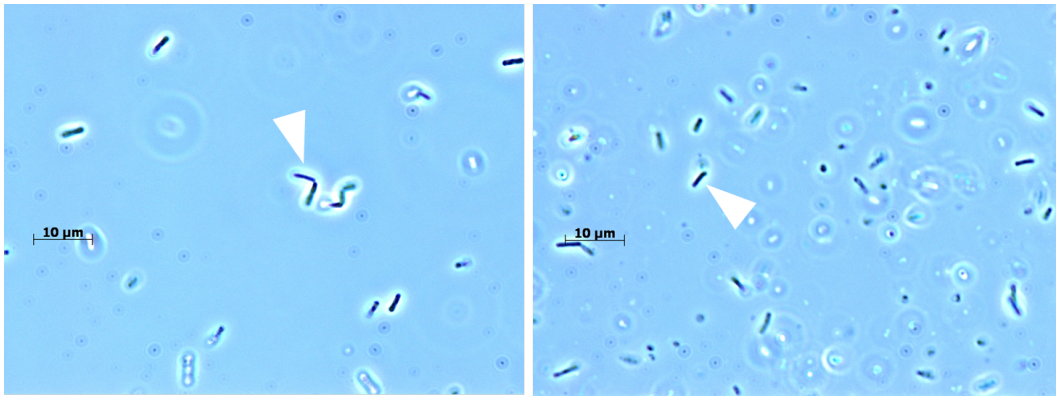
4.2 Wie produzieren wir Enzyme für industrielle Anwendungen?

In diesem Video findet ihr die wichtigsten Grundlagen zu Enzymproduktion zusammengefasst. Die Hintergrundinformationen dazu findet ihr in diesem Kapitel.

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="Enzymproduktion.mp4">
Produktion von Enzymen

Grundlagen

Für biotechnologische Anwendungen produzieren wir Enzyme meist nicht in den Organismen, in denen sie entdeckt wurden. Stattdessen verwenden wir speziell für die Produktion optimierte Organismen, die sogenannten Wirte. Dies können Bakterien, Pilzen (z. B. Bäckerhefe) oder tierische und pflanzliche Zelllinien sein. Unter den Bakterien werden am häufigsten verschiedene Stämme von *Escherichia coli* und *Bacillus* verwendet.



Die Produktionsstämme funktionieren wie kleine Zellfabriken. Mit dem richtigen „Bauplan“ für das Enzym können wir die Bakterien so beeinflussen, dass sie sehr viel von unserem gewünschten Enzym produzieren. Der Vorteil an diesem Verfahren ist, dass diese Wirte deutlich mehr von dem Enzym produzieren als der Originalwirt, aus dem das Enzym ursprünglich stammt.

Am einfachsten ist es, wenn wir unser Gen in einem ringförmigen DNA-Molekül, dem sogenannten Plasmid, in unser Produktionsbakterium einbringen. Das Plasmid ist dabei wie eine Speicherkarte und enthält neben dem Gen, was für unser Enzym kodiert, noch weitere regulatorische Einheiten. Eine davon ist der Promotor, der wie ein An- und Ausschalter das Ablesen der genetischen Information für die Produktion unseres Proteins steuert.
Der Promotor ist induzierbar, das heißt, er kann durch bestimmte Stoffe, sogenannte Induktoren, aktiviert werden. Unser Protein wird also nur dann produziert, wenn der passende Induktor vorhanden ist. Durch Hinzufügen von Induktoren können wir also die Herstellung unseres Proteins aktivieren.

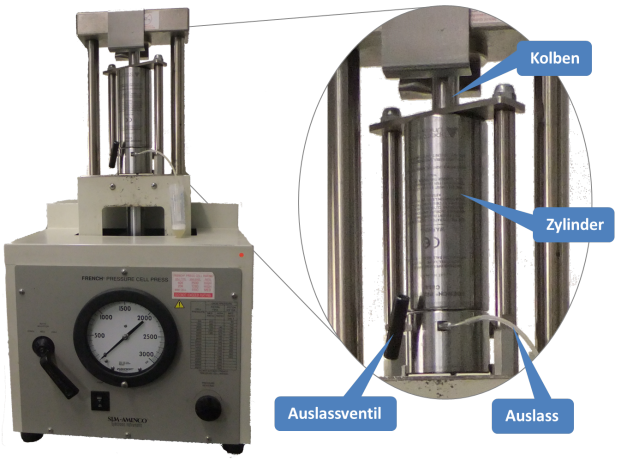
Proteinproduktion mit *E. coli*

In *E. coli* sammelt sich während der Proteinherstellung sehr viel von unserem Enzym in der Zelle an. Im Regelfall werden die Proteine richtig gefaltet, wodurch sie aktiv und in löslicher Form in der Zelle vorkommen. Bei einigen Enzymen, die etwas mehr Zeit für ihre Faltung benötigen, kann dies Probleme bereiten. Durch die unvollständige Faltung bilden sich dann große Aggregate aus zusammengelagerten inaktiven Enzymen.

Nach der Produktion in *E. coli* können wir unser Protein dann ernten. Dafür trennen wir die Zellen, die unser Protein enthalten, aus dem Kulturmedium ab. Um das Protein freizusetzen, müssen die Zellen dann aufgebrochen, also kaputt gemacht werden.

Aus der Praxis

Zellaufschluss mittels French Press



Um Bakterienzellen aufzubrechen und an den Zellinhalt zu gelangen, gibt es verschiedene Methoden. Eine davon ist die sogenannte French Press. Dabei wird die Zellsuspension mit Hilfe eines Kolbens und Zylinders unter Druck gesetzt, wodurch das 85-fache des atmosphärischen Drucks erreicht wird! Die Zellen werden dann durch einen schmalen Auslass aus dem Zylinder herausgelassen. Durch den starken Druckabfall platzen die Zellen auf und der Zellinhalt wird freigesetzt.

Das Zelllysat, was beim Aufbrechen der *E. coli*-Zellen entsteht, enthält neben unserem Zielprotein auch noch viele weitere, die für den Stoffwechsel der Zellen unerlässlich sind. Man erhält also ein Gemisch aus vielen unterschiedlichen Proteinen. Dieses Gemisch kann man mittels SDS-PAGE sichtbar machen, wobei die verschiedenen Proteine in einem Polyacrylamid-Gel der Größe nach aufgetrennt werden.
'''

Schaut euch in diesem Video, wie sich Proteine mittels SDS-Page analysieren lassen.''

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.

Proteinanalyse mittels SDS-Page

Wie werden Gele für die SDS-Page hergestellt? In diesem Video findet ihr es heraus:

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.

Herstellung von Gelen für die SDS-Page

''' Proteinproduktion mit *Bacillus*

Für die Produktion von Proteinen kann man auch *Bacillus*, ein anderes Bakterium, verwenden. Auch bei *Bacillus* werden die für die Produktion des Proteins benötigten Informationen auf einem Plasmid in die Zellen eingebracht. Die Proteinproduktion wird auch hier mittels eines Induktors gestartet.

Bacillus ist aber auch in der Lage, die in der Zelle produzierten Proteine in das umgebende Kulturmedium abzugeben. Dadurch bleibt die Konzentration an Zielprotein in der Zelle gering und die Bildung von inaktiven Enzymaggregaten ist weniger wahrscheinlich.

Wenn wir unser Protein nach der Produktion mit *Bacillus* ernten wollen, trennen wir die Zellen vom Kulturmedium ab. Unser Zielprotein befindet sich frei im Kulturmedium, weswegen wir keine Zellen aufschließen müssen. Im Optimalfall sind neben unserem Protein nur wenige andere Proteine im Medium. Allerdings ist unser Protein auch im Vergleich zur *E. coli*- Produktion viel verdünnter. Deshalb muss es konzentriert werden.

Je nachdem, um was für eine industrielle Anwendung es sich handelt, müssen die Zielenzyme rein oder weniger rein sein. In manchen Fällen können andere Proteine oder Stoffe aus den Zellen oder Nährmedien störend sein.

Dann müssen die Proteine gereinigt werden. Soll das Zielprotein konzentriert und kleinere Moleküle entfernt werden, so gibt es die Möglichkeit über Membranen, die wie eine Art Sieb funktionieren, kleinere Moleküle und Flüssigkeit abzutrennen. Das Zielprotein wird hierbei zurückgehalten.

Reinigung von Proteinen

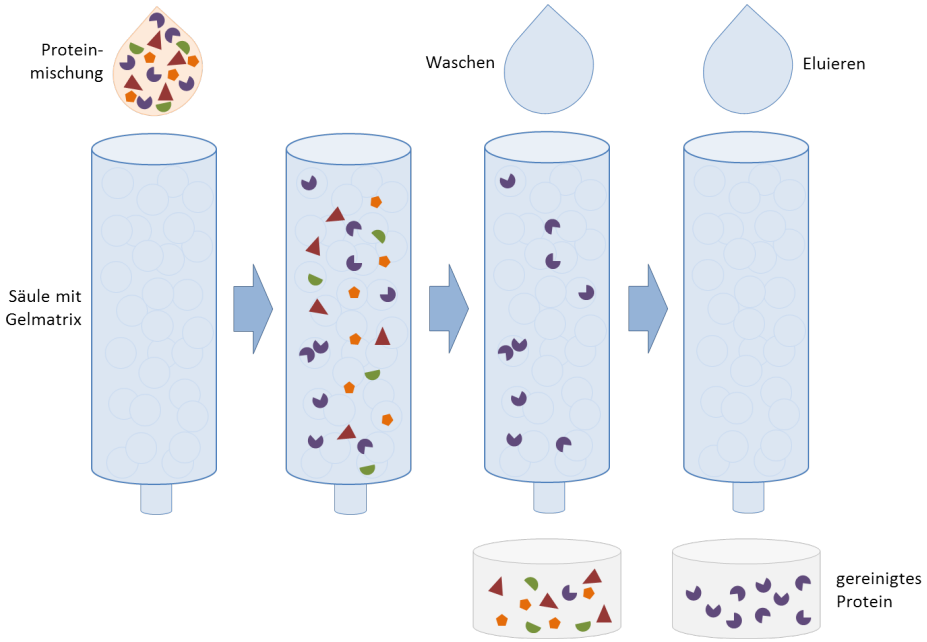
Für die Reinigung des Zielproteins aus Proteingemischen gibt es andere Methoden. Hitzestabile oder salztolerante Zielproteine, die aus Extremophilen stammten, können durch Hitze oder hohe Salzkonzentrationen gereinigt werden. Durch die extremen Bedingungen denaturieren die Proteine des nicht extremen Produktionsstammes. Sie werden dadurch unlöslich und können abgetrennt werden.

Vertiefung

Säulenchromatische Verfahren

Außerdem gibt es verschiedene sogenannte säulenchromatografische Verfahren. Dabei wird das Proteingemisch über eine Säule, die ein Gel enthält, gegeben. Je nach Material und Bedingungen können die Proteine der Größe nach aufgetrennt werden. Auch eine Auftrennung durch die unterschiedliche Gesamtladung verschiedener Proteine ist möglich.

Am beliebtesten sind aber kleine Aminosäure-Anhängsel, sogenannte Tags, die den Proteinen angefügt werden. Die Information für die Tags ist bereits im Plasmid hinterlegt, wodurch sie automatisch bei der Produktion der Proteine an einem der beiden Enden der Aminosäurekette angehängt werden. Durch die speziellen Eigenschaften der Aminosäuren des Tags bindet das Protein reversibel an eine Gelmatrix, während alle anderen Proteine weggewaschen werden können.



Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

4.3 Labor-Enzym-Quiz

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=p8a8gbm8t16

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=pwdx5n29516

Urheberrecht

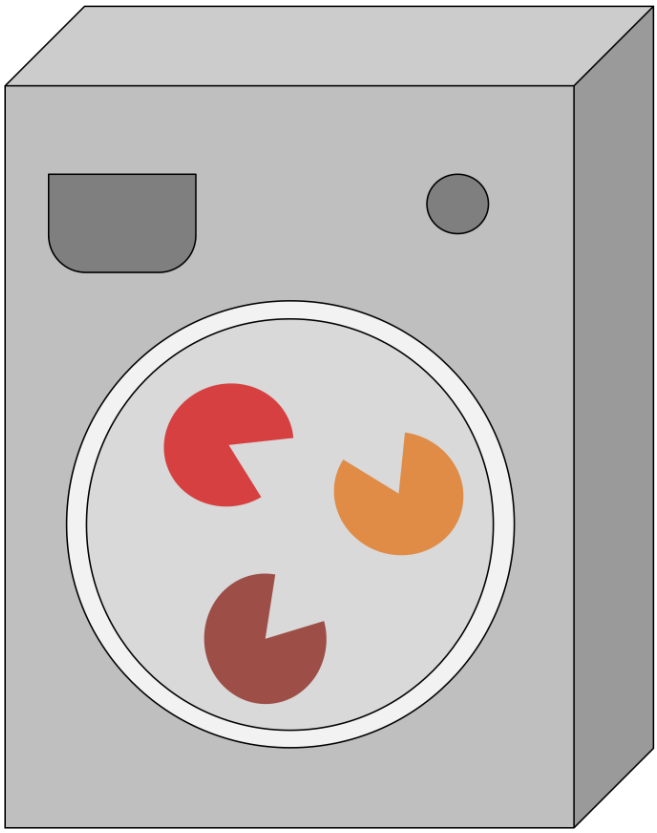
Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

5 Extreme Anwendungen

Dieses Kapitel entführt euch in die Welt der Industrie. Ihr erfahrt, warum extreme Enzyme so wertvoll für uns sind. Wir zeigen euch, in welchen Prozessen heute schon extreme Enzyme verwendet werden. Ihr werdet staunen, wo die aus Enzymen entstehenden Produkte schon überall verwendet werden. Schaut, was ihr gelernt habt, und testet euch selbst in unserem Industrie-Quiz.

Gliederung

5 Extreme Anwendungen
5.1 Warum sind Extremophile nützlich für die Industrie?
5.2 Wie machen wir uns Extremophile bereits zunutze?
5.3 Industrie-Quiz



Über uns

Ideengeber dieses Wikis ist das **Institut für Technische Mikrobiologie** (Technische Universität Hamburg). Wer genau was gemacht hat, erfahrt ihr hier.
<br /

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

5.1 Warum sind Extremophile nützlich für die Industrie?

Durch den Einsatz von Enzymen kann in einigen Prozessen auf Chemikalien verzichtet werden. Die Reaktion kann oft umweltfreundlicher durch Biokatalysatoren erfolgen. Viele Chemikalien sind aufwendig zu entsorgen und belasten die Umwelt. Leider sind Enzyme aus mesophilen Organismen häufig nicht aktiv bei hohen oder kalten Temperaturen oder bei hohen oder niedrigen pH-Werten. Für einige Prozesse sind „raue“ Prozessbedingungen allerdings wichtig. Mit dem Einsatz von Enzymen, die bei den rauen Bedingungen trotzdem aktiv sind, können auch extreme Prozesse umweltfreundlicher gestaltet werden.

Aspekt Stabilität

Enzyme aus Extremophilen sind meist stabiler als die Enzyme aus Mesophilen. Das heißt, dass sie länger aktiv sind und sich nicht so schnell entfalten. Wenn man bedenkt, dass Enzyme, genau wie Chemikalien, für einen Prozess gekauft werden müssen, ist es von großer Bedeutung, wenn ein Enzym über eine längere Zeit eingesetzt werden kann. Vor allem Enzyme aus Thermophilen und Hyperthermophilen zeigen häufig eine hohe Stabilität. Natürlich muss man hier bedenken, dass diese Enzyme auch für ihre Aktivität meist eine erhöhte Temperatur benötigen.

Hohe Temperatur

Viele Prozesse laufen in der Industrie unter erhöhten Temperaturen ab. Für viele Reaktionen ist das von Vorteil. So weisen einige Substrate bei hohen Temperaturen gelöstere Strukturen auf und können besser umgesetzt werden. Da Mikroorgansimen aus der Prozessumgebung und auch Krankheitserreger mesophil sind, können diese den Prozess nicht kontaminieren. Diese mesophilen Mikroben könnten nicht wachsen bei hohen Temperaturen. Somit bringt Hitze mehrere Vorteile mit sich.

Raue Prozessbedingungen

Die Enzyme, die in der Industrie Verwendung finden, müssen je nach Anwendung häufig auch tolerant gegenüber einer Vielzahl von Zusätzen sein. So können verschiedene Detergenzien, Ionen oder Chemikalien mit im Prozess sein, die das Enzym natürlich nicht inaktivieren dürfen. Darüber hinaus gibt es einige Anwendungen, die einen hohen Druck implizieren. Auch Änderungen der Bedingungen während des Ablaufs müssen von den Enzymen toleriert werden.

So werden für verschiedene Prozesse verschiedene Anforderungen an geeignete Biokatalysatoren gestellt. **Enzyme aus Extremophilen** können diesen Anforderungen gerecht werden.

Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

5.2 Wie machen wir uns Extremophile bereits zunutze?

Süße Gummibärchen

Werfen wir mal einen Blick auf die Zutatenliste von Leckereien wie süßen Getränken, Süßigkeiten, Backwaren und Cornflakes. Hier können wir häufig neben normalen Haushaltszucker (Saccharose) auch Begriffe

Glukosesirup, Fruktosesirup und **Glukose-Fruktose-Sirup** finden. Diese Sirupe verleihen den Produkten einen süßen Geschmack und können günstig produziert werden. Da die Herstellung bei erhöhten Temperaturen stattfindet, werden Enzyme aus thermophilen Mikroorganismen verwendet! Diese **thermostabilen Amylasen** spalten Mais-, Kartoffel- oder Weizenstärke in ihre Grundbausteine. Es entsteht süß schmeckende Glukose. Diese kann dann in einem weiteren Schritt auch zur noch süßeren Fruktose umgewandelt werden.

Den Tätern auf der Spur

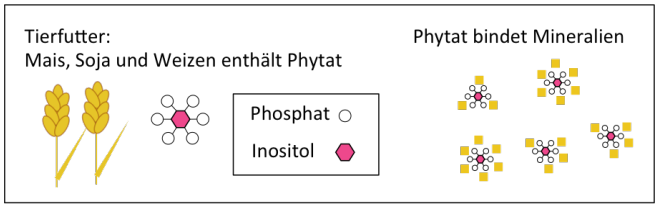
der Aufklärung von Verbrechen werden heutzutage oft DNA-Spuren am Tatort gesichert. Das können Haare, Hautschuppen, Speichel, Blut oder Sperma sein. Schon kleinste Mengen reichen für die Erstellung eines **genetischen Fingerabdrucks**. Hierfür benötigen wir Enzyme aus extremophilen Mikroorganismen! Das benötigte Enzym ist eine thermostabile **Polymerase**, die die DNA vervielfältigen kann. Dabei werden ganz bestimmte Teilstücke der DNA, die sich zwischen Menschen häufig unterschieden, vielfach kopiert. Die Teilstücke werden dann mittels Agarose-Gelelektrophorese der Größe nach aufgetrennt, wobei ein spezifisches Bandenmuster entsteht. Durch Vergleich mit Bandenmustern von potentiellen Tätern oder einer Datenbank können wir so Verbrecher überführen!

Sauber und rein

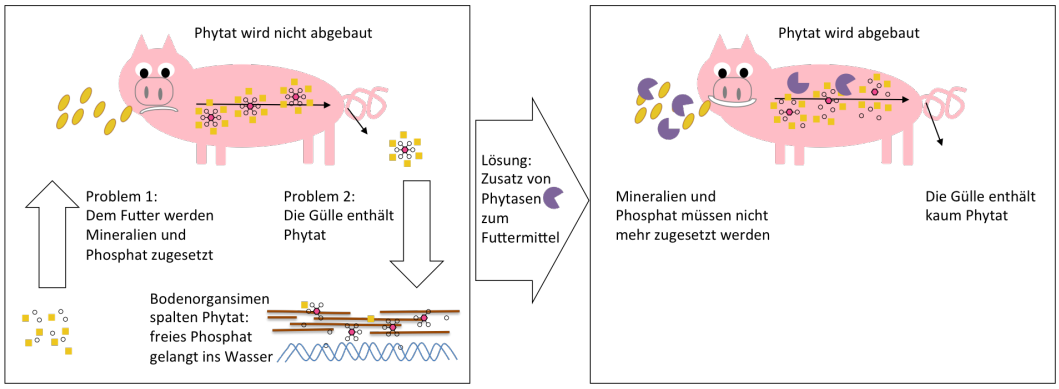
Auch im **Waschmittel** werden zum Entfernen von Schmutz Enzyme aus extremophilen Mikroorganismen eingesetzt! Durch das Waschmittel wird in der Waschmaschine **ein leicht alkalischer pH** erzeugt. Daher werden häufig Enzyme aus alkaliphilen Mikroorganismen verwendet. Aufgrund der unterschiedlichen Verschmutzungen werden dem Waschmittel verschiedene Enzyme zugesetzt. Für die Blut- und Eiweißentfernung benötigt man zum Beispiel sogenannte Proteasen. Diese Proteasen sind in der Lage, die im Stoff festgesetzten Eiweißnetzwerke in kleine Bruchstücke zu spalten. Dadurch können sie aus dem Gewebe herausgelöst werden - und der Fleck ist weg!

Von Mineralien und Gülle

Enzyme aus Extremophilen werden auch in der **Futtermittelindustrie** eingesetzt. Mais und Weizen werden zum Beispiel oft an Schweine oder Hühner verfüttert. In den Körnern dieser Pflanzen ist viel Phytat enthalten, welches die Tiere allerdings nicht verdauen können.



Phytat besteht aus einem Inositol, einem cyclischen Alkohol, mit sechs gebundenen Phosphateinheiten. Die **Phosphate** binden Mineralien wie zum Beispiel Calcium oder Zink. Da Schweine und Hühner das Phytat im Verdauungstrakt nicht spalten können, nehmen sie das Phosphat also nicht auf. Ihnen fehlen die Enzyme hierfür, die Phytasen. Da das Phytat Mineralien komplexiert (d.h. an sich binden kann), werden dem Futtermittel häufig Mineralien und auch Phospat zugegeben, um einer Mangelernährung vorzubeugen. Vor allem die Gülle der Schweine wird in der Landwirtschaft gerne als Dünger verwendet. Das nicht-verdaute Phytat wird also wieder ausgeschieden und gelangt mit der Gülle auf die Felder. Einige Bodenorganismen sind in der Lage Phytat zu spalten. Somit wird erst im Boden Phosphat frei und kann ins Wasser gelangen, was zu einer Eutrophierung (Überdüngung) von Gewässern führen kann.



Wenn dem Futtermittel jedoch **Phytasen** zugegeben werden, können die Tiere das Phosphat und die Mineralien verwenden. Diese müssen also nicht mehr extra zum Futter gegeben werden. Darüber hinaus ist kaum Phytat in den Ausscheidungen vorhanden.
Wenn das Phytat im Verdauungstrakt der Tiere gespalten werden soll, muss bedacht werden, dass im Magen aufgrund der Magensäure ein sehr niedriger pH-Wert besteht. Hierfür eigenen sich Phytasen aus Acidophilen, die in einem sauren Milieu aktiv sind. Oft werden Phytasen auch eingesetzt beim Pelletierungs-Schritt von Futtermittel-Pellets. Dies geschieht bei hohen Temperaturen, weshalb auch hitzestabile Enzyme hierfür eingesetzt werden.

Grüner Treibstoff

nachhaltige Produktion von Treibstoffen wie **Bio-Ethanol** liegt gerade voll im Trend. Für die Produktion von Bio-Ethanol werden Pflanzen verwendet, die für ihr Wachstum CO_2 benötigen. Im Gegensatz zu konventionellen Treibstoffen aus fossilen Energieträgern wird bei der Verbrennung von Bio-Ethanol kaum zusätzliches CO_2 produziert.

Für die Produktion von Bio-Ethanol müssen **Polysaccharide** (langkettige Zuckermoleküle) zunächst gespalten werden. Hierfür können Enzyme verwendet werden! Aufgrund ihrer Robustheit werden immer mehr Enzyme aus Extremophilen dafür gesucht. Durch die Spaltung der Polysaccharide sollen vor allem leicht fermentierbare Zuckermoleküle wie Glucose produziert werden. Die Glucose wird im Anschluss von Mikroorganismen zu Ethanol umgewandelt - ganz ähnlich wie bei der Bier- und Weinherstellung.

Es wird viel diskutiert, ob es sinnvoll ist **stärkehaltige Pflanzen** wie Mais oder Getreide für die Bio-Ethanol-Herstellung zu verwenden. Bei dieser Tank-versus-Teller-Debatte wurde kritisiert, dass die stärkehaltigen Bestandteile der Pflanzen doch essbar sind und als Nahrungsmittel dienen könnten. Mit dieser Diskussion kam die **Verwendung von pflanzlichen Abfallstoffen**, wie Stroh, Gräser oder Abfällen aus der Forstwirtschaft ins Gespräch. Diese pflanzlichen Rohstoffe enthalten Lignocellulose. Vor allem die darin enthaltene Cellulose kann dann durch Enzyme in das Zuckermolekül Glucose gespalten werden. Dieses Verfahren ist jedoch aufwendiger, da das in der Biomasse enthaltene Lignin stört und zuvor abgetrennt werden muss. Daher ist die Nutzung von Abfallstoffen in enzymatischen Abbauprozessen derzeit auch Gegenstand der Forschung.

Urheberrecht

CC BY

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

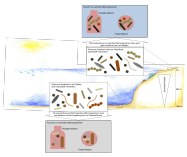
5.3 Industrie-Quiz

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle eine LearningApp.
Link zur LearningApp : http://LearningApps.org/watch?app=prk8fvcmj16

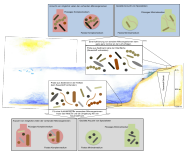
Urheberrecht

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung - 3.0 Deutschland-Lizenz.

I Abbildungsverzeichnis



Kultivierung von aeroben und anaeroben Mikroorganismen.....16



Anzucht von Mikroorganismen in Komplex- und Minimalmedium..... 18

II Medienverzeichnis

Was sind Extremophile? 6
Conan das Bakterium 9
Medium für anaerobe Mikroorganismen kochen und begasen 16
Wachstum von "E-coli" Zellen 17
Von Aminosäuren, Proteinen und Extremozymen 23
Die Struktur von Proteinen spielt eine wichtige Rolle bei der Dauerwelle 24
Enzyme können Cellulose zu Glucose abbauen 27
Screening einer Genbank 38
Produktion von Enzymen 38
Proteinanalyse mittels SDS-Page 40
Herstellung von Gelen für die SDS-Page 40
Agarose-Gelelektrophorese 54

III Glossar

Agar

ist ein Polysaccharid, das hauptsächlich aus Agarose (etwa 70 %) und Agaropektin (etwa 30 %) besteht. Es ist ein wichtiger Bestandteil in den Zellwänden verschiedener Rotalgen. Die Agarosebestandteile besitzen die Fähigkeit, zu einem Gel zu werden (Gelatinisierung). Dazu wird der Agar mit einer Wasserlösung aufgekocht. Beim Abkühlen bildet sich dann ab etwa 45 °C ein festes elastisches Gel. Es genügen bereits Konzentrationen ab 1% Agar; je mehr Agar jedoch verwendet wird, desto fester wird das Gel.

Durch die Gelbildungseigenschaften ergeben sich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin, in der Lebensmittelindustrie und in den Lebenswissenschaften. Aufgrund seiner Einsatzmöglichkeiten als Dickungsmittel wird es auch unter dem Namen Agar-Agar als Gelatineersatz verwendet. Insbesondere in Südostasien ist Agar weit verbreitet, da dort Gelatine in der Regel keine Verwendung findet. Eine große Bedeutung hat Agar auch im Labor. Hier wird es für die Herstellung von festen Nährböden zur Zellanzucht eingesetzt.

Agarose-Gelelektrophorese

Hilfe der Agarose-Gelelektrophorese werden DNA-Fragmente der Größe nach aufgetrennt. Die DNA wird dann mit Hilfe eines Farbstoffs und UV-Licht sichtbar gemacht.

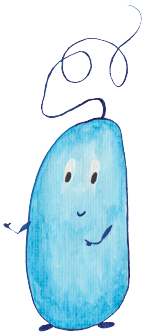
Wie da genau funktioniert, könnt ihr in diesem Video erfahren:

In der Online-Version befindet sich an dieser Stelle ein Video.
<loop_video source="Agarose-Geleletrophorese2.mp4">
Agarose-Gelelektrophorese

Durch die elektrophoretische Auftrennung von DNA können wir zum Beispiel überprüfen, ob **aus Zellen isolierte DNA** noch intakt ist und aus sehr langen Fragmenten besteht. Wurde die DNA durch mechanische Kräfte oder Enzyme zerstört und in kleine Stücke zerbrochen, so ist dies auch auf dem Gel sichtbar.

Auch bei der Analyse des **genetischen Fingerabdrucks** wird dieses Verfahren angewendet. Dafür werden bestimmte Abschnitte der DNA eines Menschen vervielfältigt. Diese Kopien ergeben bei der Agarose-Gelelektrophorese ein spezifisches Bandenmuster aus unterschiedlich großen Fragmenten. Aufgrund dieser Bandenmuster können zum Beispiel DNA-Spuren an einem Tatort möglichen Verdächtigen eines Verbrechens zugeordnet werden.

Colwellia piezophila



Colwellia piezophila wurde in einer Tiefe von 6.278 m im Japangraben aus Sediment isoliert. Am besten wächst es bei 10 °C, neutralem pH und bei einem Druck von 600 bar. Dieses Bakterium braucht den Druck unbedingt, um wachsen zu können. Beweglich ist es mit Hilfe einer Flagelle. *Colwellia piezophila* ist ziemlich anspruchsvoll. Für sein Wachstum benötigt es Salz, Druck und Kälte.

Moritella profunda

Mikroorganismus kommt aus der Tiefe (2.815 m) aus Sediment des Atlantiks vor der westafrikanischen Küste.

Moritella profunda mag es eher kalt. Am liebsten wächst es bei Außentemperaturen um 2 °C. Kein Wunder, es kommst auch aus der Tiefe (2815 m) aus Sediment des Atlantiks in der Nähe der Afrikanischen West-Küste. Daher hält es Druck auch ganz gut aus. Temperaturen über 12 °C sind diesem Baktierum zu warm zum wachsen. Es ist beweglich und bildet keine Sporen. Es ist fakultativ anaerob, kann also sowohl unter oxischen als auch unter anoxischen Bedingungen leben.