

## Abschlussbericht

# Nutzung des umweltentlastenden und ressourcenschonenden Potenzials der Biokatalyse durch Einrichtung einer internationalen Sammlung von Biokatalysatoren (BiokatalysatorenSammlung; BKS) "BiocatCollection"

**AZ 13131**

**Bewilligungsempfänger:** Prof. Dr. Dr. h.c. Garabed Antranikian  
Institut für Technische Mikrobiologie  
TU Hamburg-Harburg

vertreten durch:  
TuTech Innovation GmbH  
Dr. Helmut Thamer  
Harburger Schloßstr. 6-12  
21079 Hamburg

**Projektlaufzeit:** 01.10.2004 bis 30.09.2010

**Projektbearbeiter:** Prof. Dr. Dr. h.c. Garabed Antranikian, Dr. Skander Elleuche, Dr.  
Ralf Grote, Dr. Marina Royter, Henning Piascheck, Sigrid  
Wiebusch

Hamburg, Dezember 2010



# Abschlussbericht 2010 • BiocatCollection

## AZ 13131

### Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	Zusammenfassung	4
2	Anlass und Zielsetzung des Projekts	5
3	Aufbau und Struktur der BiocatCollection	7
3.1	Der Beirat	7
4	Bisherige Aktivitäten	10
4.1	Wissenschaftlicher Tätigkeitsbericht	10
4.1.1	Equipment der BiocatCollection	10
4.1.2	Aufbau der Enzymsammlung	12
4.1.2.1	Das Portfolio der BiocatCollection	12
4.1.3	Produktion rekombinanter Biokatalysatoren	15
4.1.4	Untersuchungen zur Lagerstabilität von Enzymen	18
4.1.5	Metagenomik zur Erhöhung der Diversität	21
4.1.6	Enzymoptimierungen	22
4.2	Bericht über die geschäftlichen Aktivitäten	23
4.2.1	Ausarbeitung eines Geschäftsmodells	23
4.2.2	Die BiocatCollection macht Enzymdiversität verfügbar	24
4.2.3	Geschäftsbetrieb der BiocatCollection	25
4.2.3.1	Vetragsstruktur und Vertragspartner	25
4.2.3.2	Services und Dienstleistungen	26
4.2.3.3	Öffentlichkeitsarbeit	28
4.2.3.4	Das BiocatArchiv	33
4.2.3.5	Verknüpfung mit weiteren Datenbanken	33
5	Fazit	34
6	Ausblick und Verstetigung	36
7	Veröffentlichungen	38

## Abbildungsverzeichnis

	Seite
<b>Abbildung 1:</b> Organigramm der BiocatCollection	7
<b>Abbildung 2:</b> Gruppenfoto während der konstituierenden Beiratssitzung	10
<b>Abbildung 3:</b> Fermenter für die Produktion rekombinanter Enzyme	17
<b>Abbildung 4:</b> Untersuchungen zur Lagerstabilität von Enzymen	18
<b>Abbildung 5:</b> Lagerung verschiedener Enzyme bei -20°C und -80°C	19
<b>Abbildung 6:</b> Lagerung verschiedener Enzyme in lyophilisierter Form	20
<b>Abbildung 7:</b> Thermische Stabilisierung einer kälteaktiven Lipase	23
<b>Abbildung 8:</b> Das Prinzip der BiocatCollection	25
<b>Abbildung 9:</b> Messestand der BiocatCollection auf der Woche der Umwelt	29
<b>Abbildung 10:</b> Das Internetportal der BiocatCollection	31
<b>Abbildung 11:</b> Werbeflyer der BiocatCollection	32
<b>Abbildung 12:</b> Werbeflyer des Esterase-Kits	33

## Tabellenverzeichnis

	Seite
<b>Tabelle 1:</b> Das Enzymportfolio der BiocatCollection I	12
<b>Tabelle 2:</b> Das Enzymportfolio der BiocatCollection II	13
<b>Tabelle 3:</b> Die Gen- und Metagenombanken der BiocatCollection	14
<b>Tabelle 4:</b> Eingesetzte Donor- und Expressionsstämme	15
<b>Tabelle 5:</b> Untersuchung der Lagerstabilität von Enzymen	21
<b>Tabelle 6:</b> Dienstleistungsaufträge	27
<b>Tabelle 7:</b> Übersicht über die Arbeitspakete und Meilensteine	35

# **Nutzung des umweltentlastenden und ressourcenschonenden Potenzials der Biokatalyse durch Einrichtung einer internationalen Sammlung von Biokatalysatoren (BiokatalysatorenSammlung; BKS) "BiocatCollection"**

## **AZ 13131**

### **1 Zusammenfassung**

Der vorliegende Abschlussbericht fasst die Ergebnisse der wissenschaftlichen und geschäftlichen Aktivitäten der BiocatCollection der sechsjährigen Projektlaufzeit zusammen. Ausgangspunkt ist dabei der Grundgedanke der BiocatCollection, den in Hochschulen, Instituten und Forschungseinrichtungen lagernden "Enzymschatz" für die Entwicklung nachhaltiger Produkte und Prozesse zu nutzen. Im Rahmen der DBU-Initiative InnovationsCentrum Biokatalyse (ICBio) wurde daher von Anfang an das Ziel verfolgt, diese enzymatische Vielfalt durch den Aufbau einer Internationalen Sammlung von Biokatalysatoren (BiocatCollection) zu archivieren, zu dokumentieren und interessierten Nutzern aus Industrie und Hochschulen zur Verfügung zu stellen. Die BiocatCollection nimmt dabei eine Schnittstellenfunktion zwischen Enzymanbietern und Enzymnutzern ein, um bestehende Innovationshemmnisse abzubauen. Die Vorbereitungen zur Gründung einer Internationalen Sammlung von Biokatalysatoren (BiocatCollection) begannen bereits im Rahmen der Initiative ICBio. Mit der Bewilligung einer sechsjährigen Förderung wurde die Grundlage geschaffen, die BiocatCollection in ein eigenständiges Projekt zu überführen. Im Juli 2005 hat die BiocatCollection das operative Geschäft unter der Leitung von Prof. Antranikian am Institut für Technische Mikrobiologie an der TU Hamburg-Harburg aufgenommen. Rechtlich gesehen ist die BiocatCollection, die sich als Non-Profit-Organisation definiert, ein Geschäftsbereich der TuTech Innovation, einer Tochter der TU Hamburg-Harburg und der Hansestadt Hamburg. Als beratendes Gremium steht der BiocatCollection ein siebenköpfiger Beirat zur Seite, der sich im Dezember 2005 konstituiert hat. Die Sammlung umfasst mit den zurzeit 321 Enzyme und unterhält vertragliche Beziehungen zu sieben Enzym Providern. Zusätzlich stehen zahlreiche Gen- und Metagenombanken zur Verfügung, die mit Hilfe eines automatisierten Screeningsystems nach biotechnologisch relevanten Biokatalysatoren durchmustert werden. Zur Erhöhung der Enzymdiversität unterhält die Sammlung eigene Forschungsaktivitäten. Durch internationale Kooperationen, u.a. mit dem japanischen Forschungsinstitut JAMSTEC (Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology), steht der BiocatCollection einzigartiges Probenmaterial aus extremen Lebensräumen (Mariannengraben, Erdkruste) zur

Verfügung, das mit Hilfe klassischer (Isolierung und Kultivierung) und molekularbiologischer (Metagenomik) Methoden nach neuartigen Enzymen durchmustert wird.

Außerdem konnte die BiocatCollection im Förderungszeitraum zahlreiche Serviceleistungen für externe Auftraggeber erfolgreich erbringen. So ist es gelungen, für die mittelständische Firma SternEnzym Enzympräparationen im Multikilogramm Maßstab zu produzieren und damit eine Markteinführung dieses Produkts zu ermöglichen. Zahlreiche weitere Aufträge konnten in den vergangenen Jahren für externe Partner in den Bereichen Screening, Fermentation und Proteinreinigung bearbeitet werden und weitere Aufträge werden auch in Zukunft erwartet oder sind bereits auf den Weg gebracht worden. Das Weiterbestehen der BiocatCollection ist damit auch über den DBU-Förderzeitraum hinaus gesichert. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die BiocatCollection in den sechs Jahren der Förderung die gesteckten Ziele erreicht hat und eine ausgezeichnete Ausgangsbasis für die weitere Entwicklung über das Ende des Förderzeitraumes hinaus geschaffen.

## **2 Anlass und Zielsetzung des Projekts**

Enzyme spielen in der industriellen (weißen) Biotechnologie eine entscheidende Rolle. Im Fokus des globalen Interesses liegt der Einsatz von biotechnologischen Methoden, um Herstellungs- und Veredelungsprozesse nachhaltiger zu gestalten. In diesem Zusammenhang werden insbesondere Enzyme und Biokatalysatoren ständig wichtiger und zum Schlüssel für den Erfolg für die weiße Biotechnologie. Auf Grund ihrer intrinsischen Eigenschaften, wie beispielsweise Spezifität, Selektivität und Umsatzrate ist ihr Einsatz aus vielen Anwendungen in der Chemie-, Pharma- und Lebensmittelindustrie nicht mehr wegzudenken. Um nachhaltige biokatalytische Syntheserouten zu etablieren und diese im Wettbewerb mit traditionellen chemischen Synthesen erfolgreich aufzustellen, ist die Bereitstellung einer umfangreich vorevaluierten Enzym-Kollektion von entscheidendem Vorteil. Durch den Einsatz von Enzymen können bestehende Prozesse verbessert oder gänzlich neue Produkte und Verfahren entwickelt werden, was die Suche nach dem „idealen“ Biokatalysator zu einem begehrten Feld innerhalb der Biotechnologie macht. Und dies unter Bedingungen, die dem Konzept der Nachhaltigkeit und des Umweltschutzes Rechnung tragen, etwa durch enzymatische Konversion nachwachsender Rohstoffe. Aus diesem Grund werden auch vornehmlich chemisch-orientierte Unternehmen in Zukunft die Biokatalyse im Rahmen einer "Biologisierung der Industrie" weiter ausbauen (Bioökonomie). Der weltweite Enzymmarkt beläuft sich nach veröffentlichten Zahlen auf 2 Mrd. Euro jährlich. Schätzungen gehen aber davon aus, dass der Enzymmarkt bereits die 5 Millardengrenze überschritten hat. Dabei werden heute erst weniger als 5% der bekannten Enzyme industriell eingesetzt. Ein Großteil der Diversität der Natur wird also bislang noch nicht genügend ausgeschöpft. Hier liegt der Ansatzpunkt der BiocatCollection: Aufbauend auf den Erfolgen der DBU-Verbundprojekte Verbund Biokatalyse (2000-2003) und InnovationsCentrum

Biokatalyse (ICBio, 2003-2007) soll die Sammlung eine breitere Nutzung dieses brachliegenden Potenzials ermöglichen.

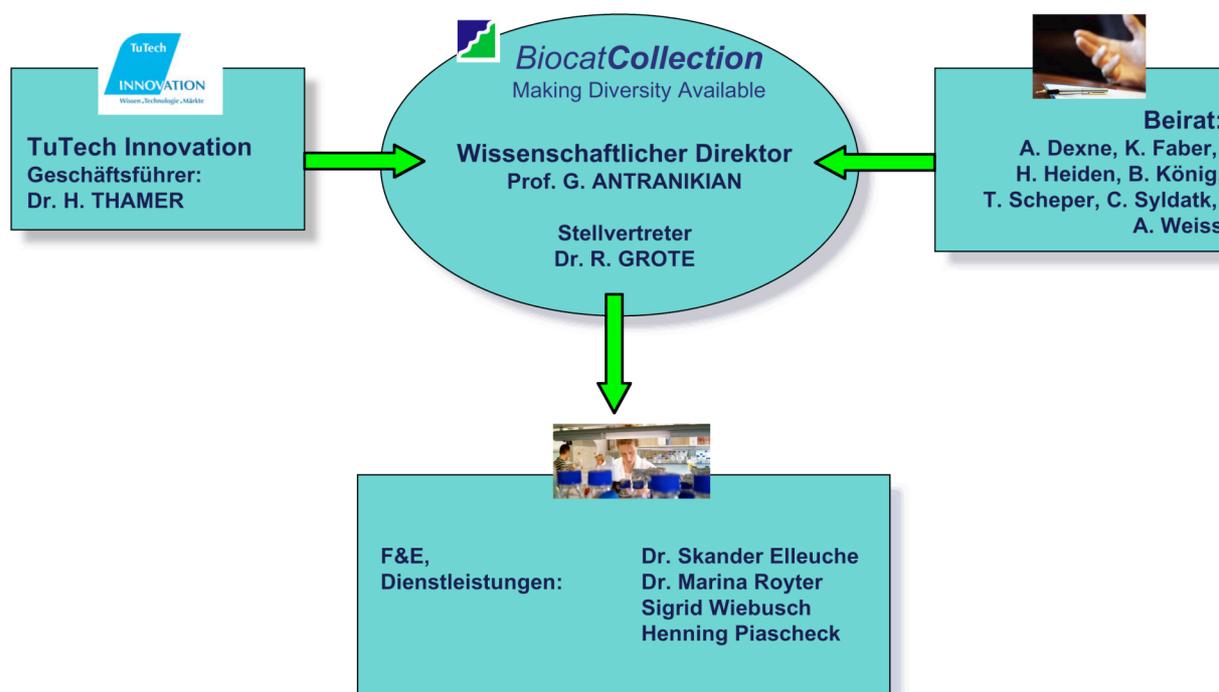
Die Bedeutung der Biokatalyse und ihrer Rolle in der Entwicklung der Industrienationen zu nachhaltigem Wirtschaften ist auch außerhalb Deutschlands erkannt worden. In Österreich (ACIB, Graz/Wien) und Großbritannien (Manchester Interdisciplinary Biocentre) gibt es bereits Zentren und Institutionen, die sich um die Förderung und Koordination der Aktivitäten im Bereich der industriellen Biotechnologie bemühen und versuchen, die verbleibende Hemmschwelle für den Einsatz der Biokatalyse zu senken. Diese Hemmschwellen entstehen oft durch mangelnde Enzymverfügbarkeit, hohe Entwicklungskosten und einer asymmetrischen Verteilung der Wertschöpfung zu Gunsten der Endanwender. Der wirtschaftliche Wert liegt nicht in dem Enzym an sich, sondern in der Kombination mit der Verfahrenstechnologie, die unter Einsatz des Enzyms ein hochwertiges Endprodukt erzeugt. Hier soll die BiocatCollection Abhilfe schaffen und durch die Bereitstellung einer großen Diversität von Enzymen den Anwendern besseren Zugang zur Enzymtechnologie ermöglichen. Die BiocatCollection setzt hierbei auf eine einzigartige Kombination aus Diversität, Verfügbarkeit, Information und Dienstleistungen. Die Sammlung soll sowohl mit ihrem virtuellen Informationsangebot (Internetportal) als auch mit dem umfangreichen Enzymangebot ein erster Anlaufpunkt für alle Fragen und Projekte zur Biokatalyse in Deutschland werden – als Börse von Informationen, als Kontakt- und Kommunikationsplattform und als Quelle von Enzymen und Dienstleistungen. Um den Finanzierungsbedarf gering zu halten, wurden einerseits die bestehenden Strukturen von ICBio genutzt und andererseits eine enge Verbindung zum Institut für Technische Mikrobiologie aufgebaut. Ziel ist es, die BiocatCollection nach einer sechsjährigen Förderzeit als eigenständige und sich selbst tragende Institution weiterzuführen. Eine erfolgreiche Biokatalysatorenansammlung kann die Wahrnehmung und Wirkung der Biokatalyse grundlegend verändern. Durch eine bessere Kommunikation des Potenzials und der Erfolge können neue Einsatzgebiete für die Biokatalyse erschlossen werden. Dies erhöht die Wettbewerbsfähigkeit der Unternehmen, reduziert die Umweltbelastung und stärkt die Zukunftsbranche Biotechnologie in Deutschland. Dies stellt einen Multiplikatoreffekt dar, der die Investitionen in die BiocatCollection nicht nur in ökonomischer Hinsicht um ein Vielfaches übersteigt.

Die wichtigsten Ziele und Aufgaben der BiocatCollection lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Aufbau einer Enzymsammlung mit großer Diversität
- Produktion und Bereitstellung von Enzymen zu Testzwecken
- Aufbau eines Internetportals mit Informations- und Bestellmöglichkeiten
- Beratung zum Einsatz von Enzymen
- Aufbau eines internationalen Biokatalysatenetzwerks
- Stärkung der Visibilität der industriellen Biotechnologie

### 3 Aufbau und Struktur der BiocatCollection

Die BiocatCollection ist ein Geschäftsbereich der TuTech Innovation GmbH und räumlich an das Institut für Technische Mikrobiologie an der TU Hamburg-Harburg angesiedelt. Damit ist die BiocatCollection ein eigenständiger Arbeitsbereich innerhalb der TuTech und kann die Infrastruktur der TuTech (rechtlicher Status, Buchhaltung, Personalmanagement) und der TUHH (Know-how-Austausch, Labore, Geräte) nutzen. Wissenschaftlicher Direktor ist Professor Antranikian. Ihm stehen der kaufmännische Geschäftsführer Dr. Helmut Thamer, der gleichzeitig Geschäftsführer der TuTech Innovation ist, sowie Dr. Grote zur Seite, der das operative Tagesgeschäft zu verantworten hat.



**Abbildung 1:** Organigramm der BiocatCollection

Für den Aufbau der Sammlung sowie für die Produktion und Qualitätskontrolle sind Dr. Skander Elleuche und Dr. Marina Royter zuständig. Unterstützt werden sie dabei durch ein Team von Technischen Angestellten und einem Versuchsingenieur. In ihrer Organisationsstruktur profitiert die BiocatCollection sowohl von der engen Angliederung an das ehemalige ICBio-Koordinationsbüro als auch von der Laborinfrastruktur des Instituts für Technische Mikrobiologie. In der Projektlaufzeit hat sich diese Struktur als sehr effizient, flexibel und erfolgreich bewährt.

#### 3.1 Der Beirat

Der Beirat ist das wichtigste Beratungsgremium der BiocatCollection. Er ist mit hochkarätigen Vertretern aus Wirtschaft und Forschung besetzt und begleitet die Weiterentwicklung der

BiocatCollection mit externem Sachverstand. Dem Beirat gehören an (Stand 1. Dezember 2010):

**Alexander Dexne**, CFO, alstria office REIT AG

**Kurt Faber**, Professor für Bioorganische Chemie, Uni Graz

**Stefanie Heiden**, Hauptgeschäftsführerin der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen (AIF)

**Bert E. König**, König Connex e.K.

**Thomas Scheper**, Professor für Technische Chemie, Uni Hannover (Vorsitzender)

**Christoph Syldatk**, Professor für Technische Biologie, Uni Karlsruhe

**Albrecht Weiss**, ehemals Leiter Biotechnologie/Enzymologie, Cognis Deutschland GmbH & Co. KG

Seit der ersten konstituierenden Sitzung am 13. Dezember 2005 kam der Beirat zu insgesamt sechs Sitzungen an der TU Hamburg-Harburg zusammen (22. März 2007, 21. September 2007, 15. April 2008, 03. Juli 2009 und 01. Oktober 2009). Auf der konstituierenden Sitzung wurden die Aufgaben des Beirats definiert und Professor Thomas Scheper zum Beiratsvorsitzenden gewählt. Zudem wurden die bisherigen Aktivitäten der BiocatCollection präsentiert (siehe Zwischenbericht vom ICBio-Statusseminar, 4. Antragsrunde, AZ 13131) und Empfehlungen hinsichtlich Kooperationen sowie der Entwicklung eines Businessplanes abgegeben.

Auf der zweiten Beiratssitzung wurde das zu dem Zeitpunkt neu in Betrieb genommene Screening-Labor der Gentechnik-Sicherheitsstufe S2 vorgestellt. Ein Schwerpunkt dieser Sitzung waren die Themen Rechtssicherheit hinsichtlich der Herkunft metagenomischer Proben sowie die Beschaffung neuer Proben. Aus den Reihen des Beirates wurden Vorschläge unterbreitet, Probenmaterial aus Schiffen (Ballasttanks) des Hamburger Hafens zu sammeln. Diese Idee konnte aufgrund von genehmigungsrechtlichen Gründen letztlich nicht realisiert werden. Ebenso wurde die Rechtsform der BiocatCollection diskutiert und es wurde beschlossen, das bestehende Modell als Projekt unter dem federführenden Dach der TuTech beizubehalten, bis eine Ausgründung Erfolg versprechend sei. Dies ermögliche derzeit noch die problemlose Nutzung von Räumen und Geräten der TU, für die im Falle einer Ausgründung Kosten anfallen würden. Zudem wurde seitens des Beirates auch ein Zugehen auf potentielle Kunden sowie eine stärkere Öffentlichkeitsarbeit angeregt.

Schwerpunkt der dritten Beiratssitzung war die Einbindung der BiocatCollection in Projekte des Clusters "Biokatalyse2021". Es wurde ferner die weitere Verwendung neuer Proben extremophiler Standorte (Totes Meer, Tiefsee) zur Gewinnung neuer Biokatalysatoren diskutiert. Seitens der TU Graz wurde von Prof. Faber eine Kooperation hinsichtlich der

Bereitsstellung von Enzymen sowie des Mitarbeiteraustausches in Aussicht gestellt, so dass die Mitglieder des Beirates auch aktiv zur Weiterentwicklung der BiocatCollection beitragen.

Auf der vierten Beiratssitzung wurden Fragen zum Start in die zweite Projektphase besprochen. Insbesondere wurden Marketingkonzepte diskutiert, um die Neukundenakquise auszubauen. Des Weiteren wurden aktuelle Projekte wie die Isolierung neuer Enzyme und Organismen aus einzigartigem Probenmaterial (Tiefsee, Erdkruste) vorgestellt. In Zusammenarbeit mit der MetaCatCollection von Professor Wolfgang Streit (Universität Hamburg) werden auch in Zukunft weitere Screeningprojekte in Gen- und Metagenombanken vorangetrieben.

Bei der fünften Sitzung wurde die öffentliche Darstellung der BiocatCollection diskutiert. In diesem Zusammenhang wurde vor allem die Herausarbeitung von Alleinstellungsmerkmalen diskutiert. Des Weiteren wurde beschlossen einen größeren Fokus auf die Erbringung von Dienstleistungen zu bringen, da die Entscheidung diesen Bereich als primären Zweig, noch vor dem Verkauf von Enzymen, zu betrachten eindeutig vom Markt getroffen wurde. Die sechste Sitzung stand unter dem Schwerpunkt strategische Kooperationen. So wurde die Zusammenarbeit mit den strategischen Partnern evocatal und ASA Spezialenzyme intensiv diskutiert und als vorteilhaft für die BiocatCollection herausgestellt.

Die Zusammensetzung des Beirats hat sich in der gesamten Projektlaufzeit sehr bewährt. Die Beiratsmitglieder decken alle wichtigen Teilbereiche der wissenschaftlichen und geschäftlichen Aktivitäten der BiocatCollection ab und geben wichtige Impulse für die Weiterentwicklung der Sammlung (siehe Abschnitt 7).



**Abbildung 2:** Gruppenfoto während der konstituierenden Beiratssitzung

## **4 Bisherige Aktivitäten**

### **4.1 Wissenschaftlicher Tätigkeitsbericht**

#### **4.1.1 Equipment der BiocatCollection**

Neben der allgemeinen Laborausstattung verfügt die BiocatCollection durch die enge Anbindung an das Institut für Technische Mikrobiologie über die technisch-apparative Ausstattung zum Screening, zur Produktion, zur Reinigung und zur Lagerung von Enzymen.

#### **Automatisiertes Screeningsystem**

Um eine große Zahl von Genbankklonen auf der Suche nach neuartigen Enzymen oder Enzymvarianten durchmustern zu können, wurde im Herbst 2006 ein mit TUHH-Mitteln neu angeschafftes Liquid-Handling-System am Institut für Technische Mikrobiologie in Betrieb genommen, das der BiocatCollection für die Nutzung zur Verfügung steht. Es handelt sich um ein Freedom EVO-System der Firma Tecan (Schweiz), das über eine 2 m breite Arbeitsfläche verfügt (Freedom EVO200). Hieran angeschlossen ist ein Inkubationssystem "Cytomat" für Mikrotiterplatten im Bereich von 4-70°C (ThermoFisher-Scientific, Langenselbold). Dieser eignet sich sowohl zur Kultivierung von Mikroorganismen in einer luftfeuchtigkeitsgesättigten Atmosphäre als auch zur Inkubation von Enzymassays. Mikrotiterplatten können direkt aus diesem Inkubator heraus vom Roboter prozessiert werden. Das Robotersystem verfügt zudem

über diverse Abstellflächen zum Pipettieren von Enzymassays und auch zum Schütteln der Platten (Variomag Teleshaker4). Mittels eines Roboterarmes (RoMA) können die zu bearbeitenden Mikrotiterplatten beliebig in dem Robotersystem hin und her transportiert werden. Kernstück der Anlage sind zwei getrennte Pipettiereinheiten; zum einen ein System mit acht unabhängig voneinander arbeitenden Teflonnadeln, die in der Lage sind, Flüssigkeitsstände zu erkennen (LiHa) und zum anderen ein System, mit dem mittels Wechsellspitzen alle 96 wells einer Mikrotiterplatte zeitgleich befüllt werden können (TeMO). Gesteuert wird dieses System von der Software EVOware Standard oder EVOware Plus, welche ein Verschachteln verschiedener Prozesse und somit eine effektive Ausnutzung von Zeit- und Raumkapazitäten ermöglicht. Nach umfangreicher Schulung der Mitarbeiter und Entwicklung geeigneter Assays wurde dieses System bereits erfolgreich zur Enzymoptimierung eingesetzt (Abschnitt 4.1.6). Mit der Anschaffung eines Colony Pickers konnte dieses Liquid-Handling-System auch dazu genutzt werden, im Hochdurchsatzverfahren Genbanken nach neuen Enzymaktivitäten zu durchmustern. Zur Detektion enzymatischer Aktivitäten in den verschiedensten Reaktionen ist an das System zudem ein Mikrotiterplattenphotometer Sapphire (Tecan) angeschlossen, mit dem Enzymaktivitäten sowohl durch Reaktionen im UV-Vis-Bereich von 230-1000 nm als auch in fluoreszierenden Assays nachgewiesen werden können.

### **Fermentationsanlagen**

Die BiocatCollection verfügt zudem über eine umfangreiche Laborausstattung zur Produktion von Biokatalysatoren. Zwei 2 L-Folienfermenter und ein 19 L-Fermenter (Fa. Bioengineering, Wald/Schweiz) befinden sich im Labor des Institutes für Technische Mikrobiologie und werden kontinuierlich für die Produktion von Enzymen für die BiocatCollection eingesetzt. Alle Fermenter verfügen über Temperatur-, pH- und  $pO_2$ -Kontroller. Des Weiteren verfügt die BiocatCollection über einen 30 L- und einen 300 L-Fermenter. Beide Fermentationssysteme werden online gesteuert; dies ermöglicht eine Fernüberwachung und Steuerung der Fermentationsparameter über das Internet. Die 30 L- und 300 L-Fermenter werden zum Scale-up der Enzymproduktion eingesetzt. Weiterhin steht das benötigte Downstream-Equipment (Separatoren, Cross-Flow-Anlage, Contifuge und Zwischenbehälter mit Temperaturregelung) zur Verfügung.

### **Lagerungssysteme**

Das eigentliche Herzstück der BiocatCollection ist die Stammsammlung mit rekombinanten Mikroorganismen und Wildtypstämmen. Diese werden bei  $-80^\circ$  zur Konservierung in einem Tiefkühlschrank mit 725 l Innenvolumen (U725-86, New Brunswick Scientific, Edison/New Jersey, USA) als Stammkulturen aufbewahrt. Zugleich wird hier auch die fermentierte Biomasse mit rekombinanten Enzymen gelagert. Aktuell wird die Biomasse der 30 gängigsten Enzyme im kg-Maßstab vorrätig gehalten.

## 4.1.2 Aufbau der Enzymsammlung

### 4.1.2.1 Das Portfolio der BiocatCollection: Enzyme und Genbanken

Die BiocatCollection verfügt zum Ende der Förderperiode über 321 Enzyme aus allen sechs Enzymklassen wie Oxidoreduktasen (EC 1), Transferrasen (EC 2), Hydrolasen (EC 3), Lyasen (EC 4), Isomerasen (EC 5) und Ligasen (EC 6). Davon bilden die Enzyme der Arbeitsgruppe Antranikian den Grundstock, der aufgrund von laufenden Forschungsarbeiten im Institut für Technische Mikrobiologie sowie durch Enzyme externer Kooperationspartner laufend aufgestockt wird (Tab. 1). Die eigenen Forschungsvorhaben im Hinblick auf Screeningaktivitäten wurden auf Anraten der Gutachterrunde zurückgestellt und der Fokus auf die detaillierter Charakterisierung ausgewählter vorhandener Enzyme verlegt. So wurden in den vergangenen Monaten verschiedene Enzyme der Klasse der Hydrolasen, welche im Vorfeld durch Genomdurchmusterungen und Aktivitäts-basierte Screening-Verfahren identifiziert werden konnten, in Expressionssysteme umkloniert, aufgereinigt und charakterisiert. Alle Enzyme sind somit gut charakterisiert und können rekombinant produziert werden.

**Tabelle 1:** Das Enzymportfolio der BiocatCollection I (Stand: Dezember 2010) aus Beständen der AG Antranikian.

Enzym	Anzahl	Enzym	Anzahl
$\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidase	2	Glycerin-Dehydrogenase	1
Aldehyd-Dehydrogenase	2	Glycerin-Kinase	1
Alginat-Lyase	2	$\alpha$ -Glycerinphosphat-Oxidase	2
Alkohol-Dehydrogenase	1	Glycogen-Phosphorylase	1
Amidasen	1	D-Gulonolacton-Oxidase	2
$\alpha$ -Amylase	5	Hexokinase	1
Amylomaltase*	1	2-Keto-3-deoxy-(6-phospho)-Gluconat-Aldolase	1
Arabinogalactosidase	1	2-Keto-3-Deoxygluconat-Kinase	1
D-Arabinono-1,4-lacton-Oxidase	1	Laccase	1
Carbo-Anhydrase	1	Lipase	21
Cellulase	17	Nitrilase	3
CGTase	1	Nitrilhydratasen	1
Chitinase	2	Pectinase	1
Chitobiase	1	PPi-Phosphofructo-Kinase	1
DNA-Polymerase	1	Phytase	1
Esterase	6	Protease	4
$\alpha$ -L-Fucosidase	1	Pullulanase	4
Fructose-1,6-Bisphosphat-Aldolase	1	Pullulan-Hydrolase	1
Glucoamylase	3	Pyruvat-Kinase	1
Gluconat- Dehydratase	1	Verzweigungsenzym*	1
Glucose-Dehydrogenase	4	Xylanase	8
Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase	1		
$\Sigma=114$			

\* = Exklusiv in der BiocatCollection verfügbar

Die übrigen Enzyme wurden der BiocatCollection im Rahmen von Kooperationen zur Verfügung gestellt. Durch die Kooperation mit verschiedenen Industriepartnern, wie Roche, ASA Spezialenzyme und evocatal, konnte der Bestand insbesondere durch Enzyme aus tierischen, pflanzlichen und mikrobiellen Organismen, wie z.B. Schweineherz, Rinderleber, Hasenmuskel oder Meerrettich, Kürbis, Riesenbohne, Bacteria und Archaea aufgestockt werden. Die in Tabelle 2 aufgeführten und von Kooperationspartnern bereitgestellten Biokatalysatoren werden in der BiocatCollection gelagert und können auf Anfrage in rekombinanter Form produziert werden. Mit der Firma Roche konnte bereits ein Großunternehmen als Enzymprovider gewonnen werden. Diese Firma stellte der BiocatCollection 35 Enzyme zur Verfügung. Die Firma Codexis ist ebenfalls an die BiocatCollection herangetreten, um die BiocatCollection als Enzymmakler zu nutzen, da der eigene Enzymvertrieb dieses Anbieters reduziert wurde. Dadurch konnte der Umfang der Sammlung das Ziel des ursprünglichen Businessplans von 300 Biokatalysatoren überschreiten. Im Dezember 2009 wurden der BiocatCollection Enzyme der Firma ASA Spezialenzyme im Zuge der Kooperationsvereinbarung zur Verfügung gestellt, die das Enzymportfolio ebenfalls weiter aufstocken.

**Tabelle 2:** Das Enzymportfolio der BiocatCollection II (Stand: Dezember 2010). Von Kooperationspartnern zur Verfügung gestellte Enzyme.

Enzym	Anzahl	Enzym	Anzahl
$\alpha$ -N-Acetylgalactosaminidase	10	Hexokinase	1
Alanindehydrogenase	1	Inositol-1-P-Synthase	1
Alkohol-Dehydrogenase	12	Inositolmonophosphatase	1
Alkohol-Oxidase	3	D-Lactat-Dehydrogenase	1
Amidasen	3	L-Lactat-Dehydrogenase	2
Aminosäurendehydrogenasen-Kit	1	L-Leucin-Dehydrogenase	1
D-Aminosäuren-Oxidase	1	Lipoxygenase	1
Benzaldehyd-Lyase	1	Malat-Decarboxylase	2
Citratesynthase	1	Malat-Dehydrogenase	2
Formiat-Dehydrogenase	1	$\alpha$ -Mannosidasen	45
$\alpha$ -L-Fucosidase	9	Nitrilase	4
Fructosyltransferase	2	Nitrilhydratasen	11
Glucose- Dehydrogenase	2	Oxalat-Decarboxylase	1
Glucose-6-Phosphat-Isomerase	1	Oxynitrilase	1
Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase	1	L-Phenylalanin-Dehydrogenase	1
Glycerol-1-P-Dehydrogenase	1	3-Phosphoglycerat-Kinase	2
Diacetylreductase	1	Pyruvat-Decarboxylase	1
D-3-Hydroxybutyrat- Dehydrogenase	1	$\alpha$ -Rhamnosidasen	6
Hydroxysteroid-Dehydrogenase	1	Sulfhydryl-Oxidase	2
Glucosidasen	67	Triosephosphat-Isomerase	1
$\Sigma$ = 207			

Interessanterweise enthält die Sammlung zwei Enzyme, die bisher öffentlich nicht erhältlich waren, nämlich ein Verzweigungsenzym (EC 2.4.1.18) und eine Amylomaltase (EC 2.4.1.25) mit ungewöhnlichen Eigenschaften.

Darüber hinaus befinden sich 19 Genbanken plus 11 Metagenombanken mit einer durchschnittlichen Insertgröße von 4 kb sowie eine Cosmidbank mit einer durchschnittlichen Insertgröße von 25 kb in den Beständen der BiocatCollection (Tab. 3). Diese wurden aus genomischer DNA erzeugt, die aus psychro- und thermophilen Stämmen isoliert wurden. Für das Screening von den Genbanken auf biotechnologisch relevante Hydrolasen und Oxidoreduktasen steht ein robotergestütztes System zur Verfügung.

**Tabelle 3:** Die Gen- und Metagenombanken der BiocatCollection

Ursprung der Genbank	Wachstum, T <sub>opt</sub> [°C]; pH <sub>opt</sub>	Bereits detektierte Enzyme
<i>Agreia biocolorata</i> (Anreicherung auf Glycerin)	15; 7,0	
<i>Bacillus gibsonii</i>	10-20; 7,5	Xylanase, Arabinogalactosidase, Carbo-Anhydrase
<i>Carnobacterium</i> sp. 33-1	15;	Glycerin-Kinase, $\alpha$ -Glycerinphosphat-Oxidase
<i>Fervidobacterium gondwanense</i>	70; 6,8	
<i>Fervidobacterium islandicum</i>	80; 6,8	
<i>Fervidobacterium pennivorans</i>	70; 6,8	
<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	65; 7,0	Lipase, Esterase
<i>Marinomonas</i> sp.	25; 7,0	Esterase
<i>Marinomonas communis</i> (Anreicherung auf Glycerin)	15; 7,0	
<i>Marinomonas</i> sp. MWYL1 26-2	15;	
Prot6 (psychrophiles Isolat)	15; 7,0	Xylanase
<i>Pseudoalteromonas</i> sp.4-3	25; 6,8	Cellulase
<i>Pseudoalteromonas arctica</i>	25; 6,8	Pullulanase, Lipase, Cellulase
<i>Pyrodictium abyssi</i>	97; 5,5	
<i>Shewanella arctica</i>	25; 6,5	Protease, Pullulanase
Stamm aus Tiefsee „Core 12“ groß	15;	
<i>Streptomyces werraensis</i>	37; 7,0	Xylanase
<i>Thermococcus aggregans</i>	88; 6,9	DNA Polymerasen (B- und D-Typ), Pullulanase, Amylomaltase
<i>Thermococcus siculi</i>	85; 7,0	$\alpha$ -Amylase
<i>Thermocrispum municipale</i>	55; 7,2	Esterase
<i>Thermus brockianus</i> T16	70; 7,1	Xylanase
<i>Thermus antranikiani</i> T21	70; 7,1	Xylanase, Mannanase
<i>Thermus antranikiani</i> T22	70; 7,1	Xylanase
<i>Thermus filiformis</i> T13	70; 7,1	Xylanase
<i>Thermus</i> sp. strain T21	70; 7,2	
<i>Trichosporon pullulans</i>		
„Uncultures bacterium clone“ 26-2	15;	Aldehyd-Dehydrogenase, Glycerin-Dehydrogenase

<b>Metagenomgenbank:</b>	<b>Probenparameter</b>	
DS2 (Dead Sea 2)	15;	
Quelle auf den Azoren (Probe F3)	80; 7,0	Cellulase
Quelle auf den Azoren (Probe F4a)	80; 7,0	
Quelle auf den Azoren (Probe F5)	80; 7,0	
Quelle auf den Azoren (Probe F5) (Anreicherung auf Roggenstroh)	80; 7,0	Cellulasen, Xylanasen
Quelle auf den Azoren (Probe F13a)	80; 7,0	
Quelle auf den Azoren (Probe F17)	70; 7,0	Cellulase, Laminarinase
Quelle auf den Azoren (Probe F20)	80; 7,0	
EP-Kompostprobe	60; 7,0	Pektinase
Psychrophile Mischkultur	15; 7,2	
Tiefsee Bohrproben (CO2) (Anreicherung auf Weizenkleie)	37; 7,0	
Tiefsee Bohrproben (CO3) (Anreicherung auf Pektin)	37; 7,0	
Sedimentproben aus Marianen Graben (MT2) (Anreicherung auf Pektin)	37; 7,0	Cellulasen, Xylanasen, Esterasen
<b>Cosmidbank</b>		
Tiefsee Bohrproben (CO4) (Anreicherung auf Lignin und Cellulose)	37; 7,0	Cellulasen

#### 4.1.3 Produktion rekombinanter Biokatalysatoren

Für die Herstellung rekombinanter Enzyme kann die BiocatCollection auf fünf Expressionssysteme, nämlich *E. coli*, *Staphylococcus carnosus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* und *Pichia pastoris* zurückgreifen (Tab. 4). Hierdurch ist gewährleistet, dass Enzyme unterschiedlichen Ursprungs (bakteriell, archaeal, eukaryotisch) im jeweils passenden System exprimiert werden können. Im Falle von *Bacillus*, *Staphylococcus* und *Pichia* werden die rekombinanten Proteine ausgeschleust und liegen im Kulturmedium vor. Die anschließende Aufreinigung wird dadurch erheblich erleichtert. Die Enzymproduktion wird in Fermentern im Maßstab zwischen 2 und 300 Litern durchgeführt (Abb. 3). Hierzu stehen Bioreaktoren der Firma Bioengineering inklusive des benötigten Downstream-Equipments (Separatoren, Cross-Flow) zur Verfügung (siehe Abschnitt 4.1.1).

**Tabelle 4:** Eingesetzte Donor- und Expressionsstämme

##### Donorstämme

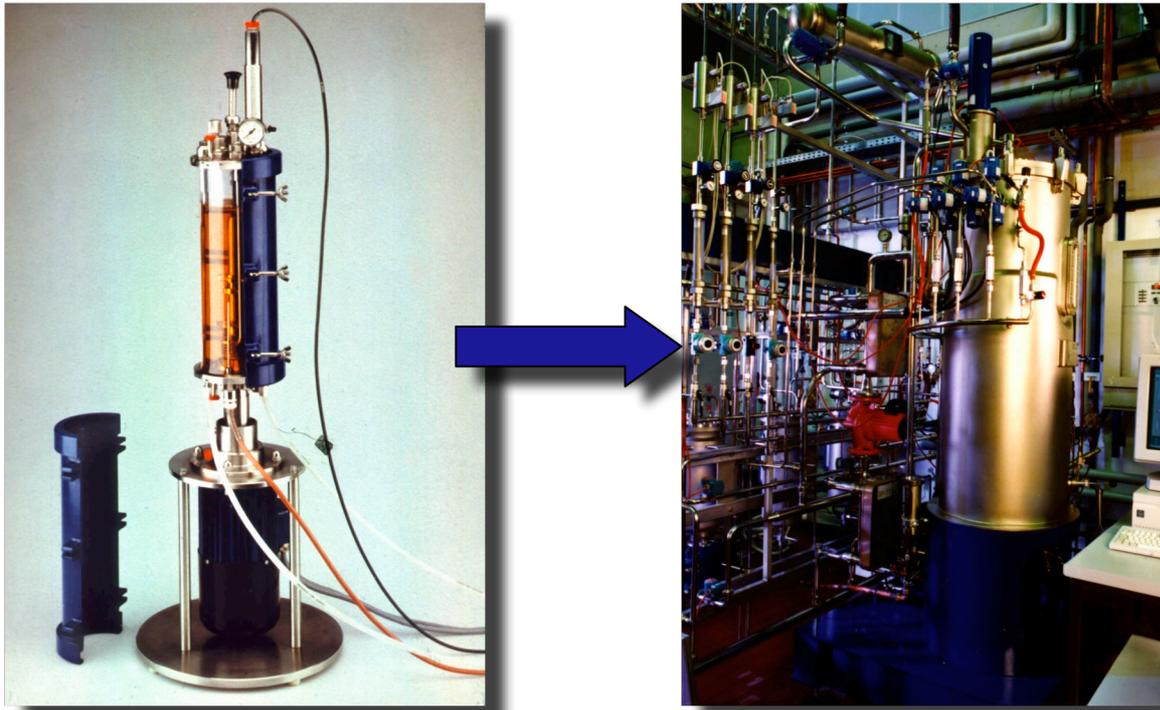
*Anaerobranca gottschalkii*  
*Aspergillus flavus*  
*Aspergillus niger*  
*Bacillus gibsonii*

##### Donorstämme

*Rhodococcus erythropolis*  
*Saccharomyces cerevisiae*  
*Serratia marcescens*  
*Shewanella arctica*

<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>
<i>Bacillus</i> sp. P203	<i>Streptomyces werraensis</i>
<i>Candida boidinii</i>	<i>Sulfolobus solfataricus</i>
<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	<i>Thermoanaerobacter brockii</i>
<i>Dickea zeae</i>	
<i>Emericella nidulans</i>	<i>Thermoanaerobac. keratinophilus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Thermoanaerobacter tengcongensis</i>
<i>Fervidobacterium gondwanense</i>	<i>Thermococcus aggregans</i>
<i>Fervidobacterium islandicum</i>	<i>Thermococcus siculi</i>
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Thermocrispum municipale</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>Thermoplasma acidophilum</i>
<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	<i>Thermotoga maritima</i>
<i>Hansenula polymorpha</i>	<i>Thermoproteus tenax</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Thermus aquaticus</i>
<i>Marinomonas communis</i>	
<i>Marinomonas</i> sp.	
<i>Oenococcus oeni</i>	
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	
<i>Pelobacter carbinolicus</i>	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	
<i>Pichia pastoris</i>	<b>Expressionsstämme</b>
<i>Picrophilus torridus</i>	
<i>Pseudoalteromonas arctica</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pichia pastoris</i>
<i>Pyrococcus abyssi</i>	<i>Staphylococcus carnosus</i>
<i>Pyrococcus woesei</i>	

Mit ausgewählten Enzymen wurden Untersuchungen zur effizienten Produktion durchgeführt. Hierbei konnte am Beispiel einer rekombinanten Lipase aus *Geobacillus thermoleovorans* gezeigt werden, dass die Produktivität im Fermenter im Vergleich zum Schüttelkolben um den Faktor 1.400 von 34 U/L auf 50.000 U/L gesteigert werden konnte. Auch für die Lipase aus *Clostridium thermohydrosulfuricum* sowie eine metagenomische Lipase konnten ähnliche Optimierungen erzielt werden. Die BiocatCollection ist damit in der Lage, Kunden ausreichende Enzymmengen für Testzwecke zur Verfügung zu stellen.

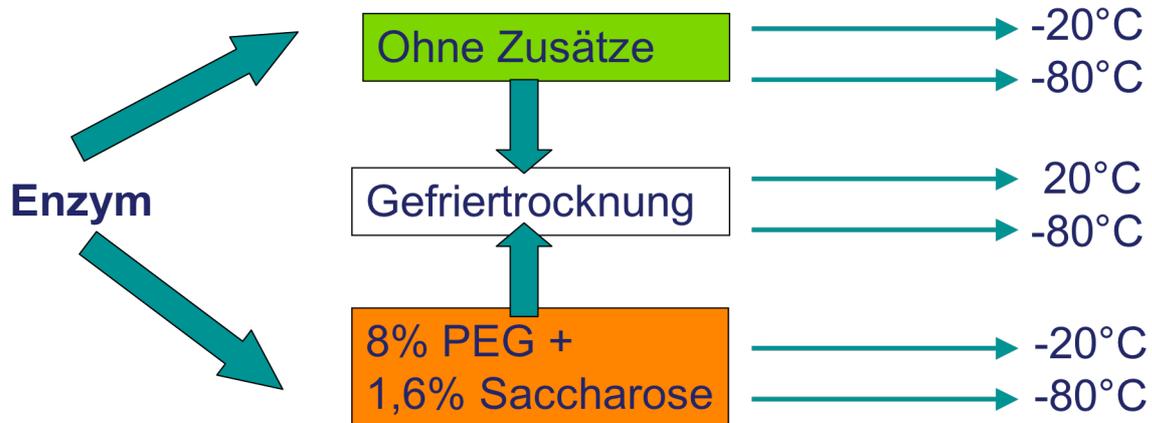


**Abbildung 3:** Fermenter im Technikum der TUHH für die Produktion rekombinanter Enzyme.  
(links: 2-L; rechts: 300-L)

In der Zeit von August 2005 bis Dezember 2010 wurden insgesamt 227 Fermentationen im Maßstab von 2 bis 300 Liter durchgeführt. Pro Fermentationslauf wird inklusive der Auf- und Abrüstzeiten durchschnittlich eine Arbeitswoche benötigt. Für die Produktion der Biokatalysatoren im 300 L-Fermenter ist ein Zeitraum von zwei Arbeitswochen anzusetzen, der die Produktion der Vorkultur (30 Liter) mit einschließt. Zur Erhöhung der Enzymausbeute wurden kontinuierlich Optimierungen der Fermentationsparameter und des Mediums durchgeführt. Für die Enzymproduktion im Bioreaktor werden überwiegend Fed-Batch-Strategien verfolgt. Zwischenzeitlich konnten die Fermentations- und Induktionsbedingungen soweit optimiert und standardisiert werden, dass die BiocatCollection zuverlässig in der Lage ist, kleine Enzymmengen für erste Testungen sowie Multigramm-Mengen für den Technikumsmaßstab bereitzustellen. Für Produktionen, die über den 300 Liter-Maßstab hinausgehen, werden zur Zeit Gespräche mit potenziellen strategischen Partnern geführt. In die engere Auswahl wurden dabei die Firmen Lactosan, Österreich, und HuvePharma, Bulgarien, gezogen. Beide Firmen verfügen über entsprechende Fermentations- und Downstream-processing Kapazitäten und könnten Enzyme im Lohnauftrag herstellen. Durch eine derartige Kooperation wäre sichergestellt, dass im Erfolgsfalle auch ausreichende Enzymmengen für kommerzielle Zwecke produziert werden können. Die BiocatCollection strebt damit an, die oft beklagte Lücke zwischen der Enzymproduktion im analytischen Maßstab und der Großproduktion - durch Hersteller wie Novozymes oder Genencor - zu schließen.

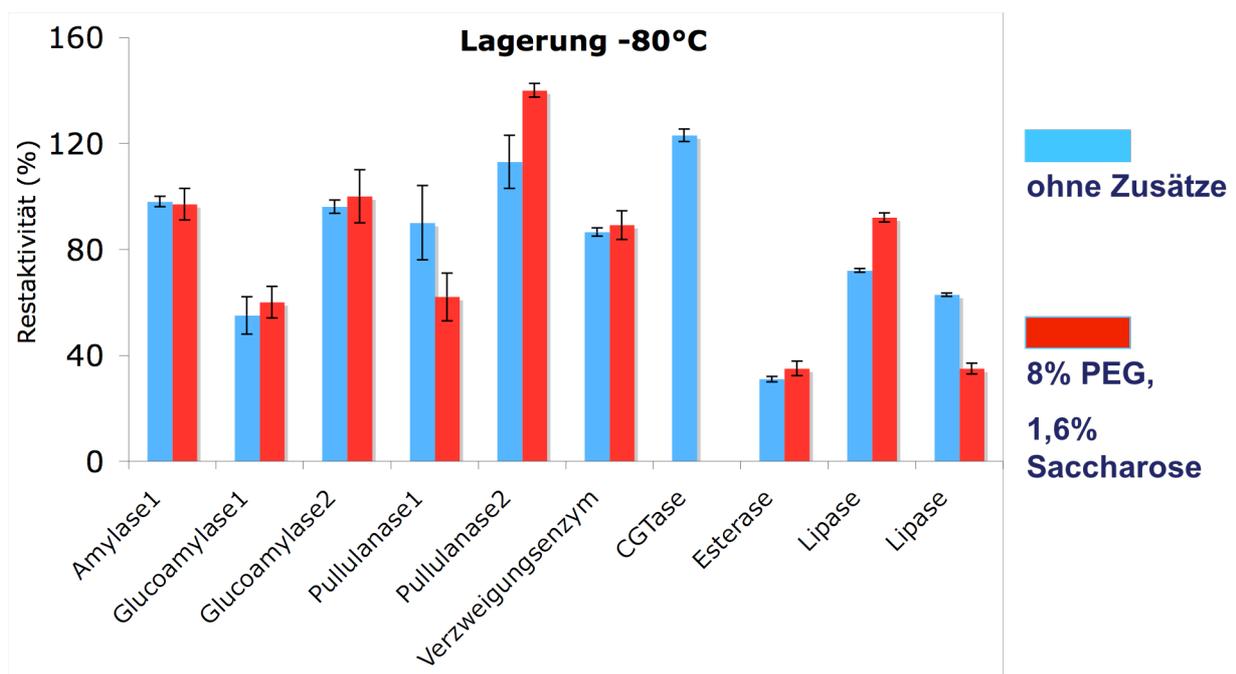
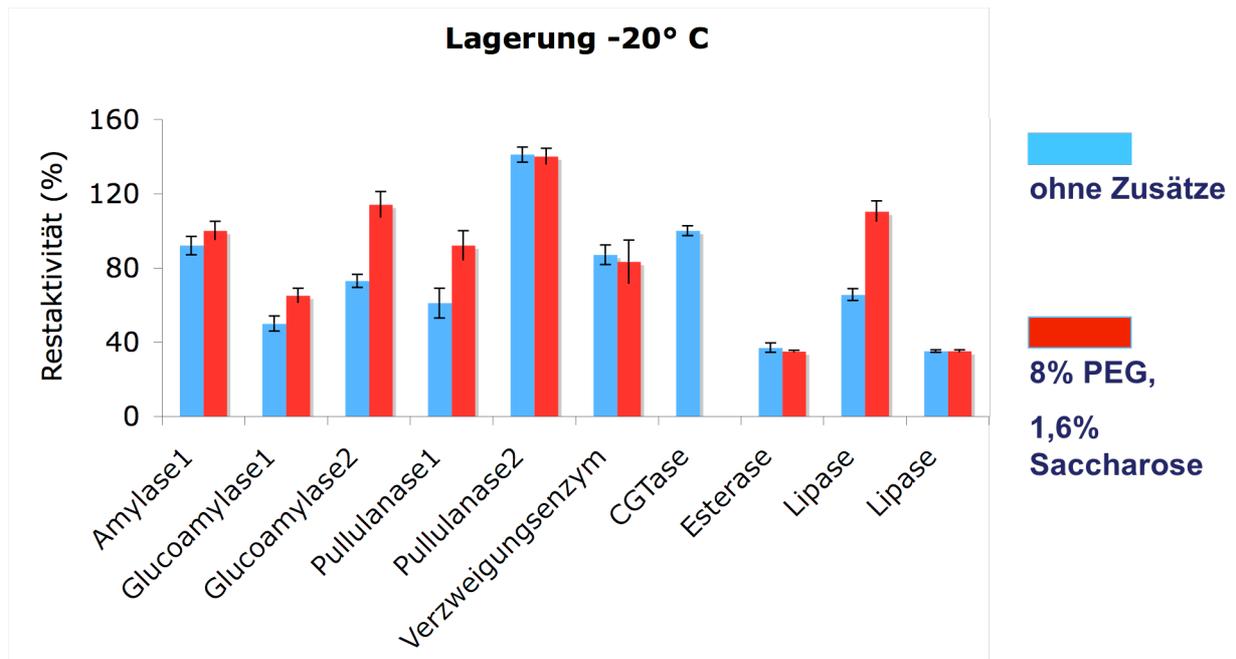
#### 4.1.4 Untersuchungen zur Lagerstabilität von Enzymen

Zur Lagerstabilität von Enzymen wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt (Abb. 4).



**Abbildung 4:** Untersuchungen zur Lagerstabilität von Enzymen mit und ohne Zusätze bei 20, -20 und -80°C

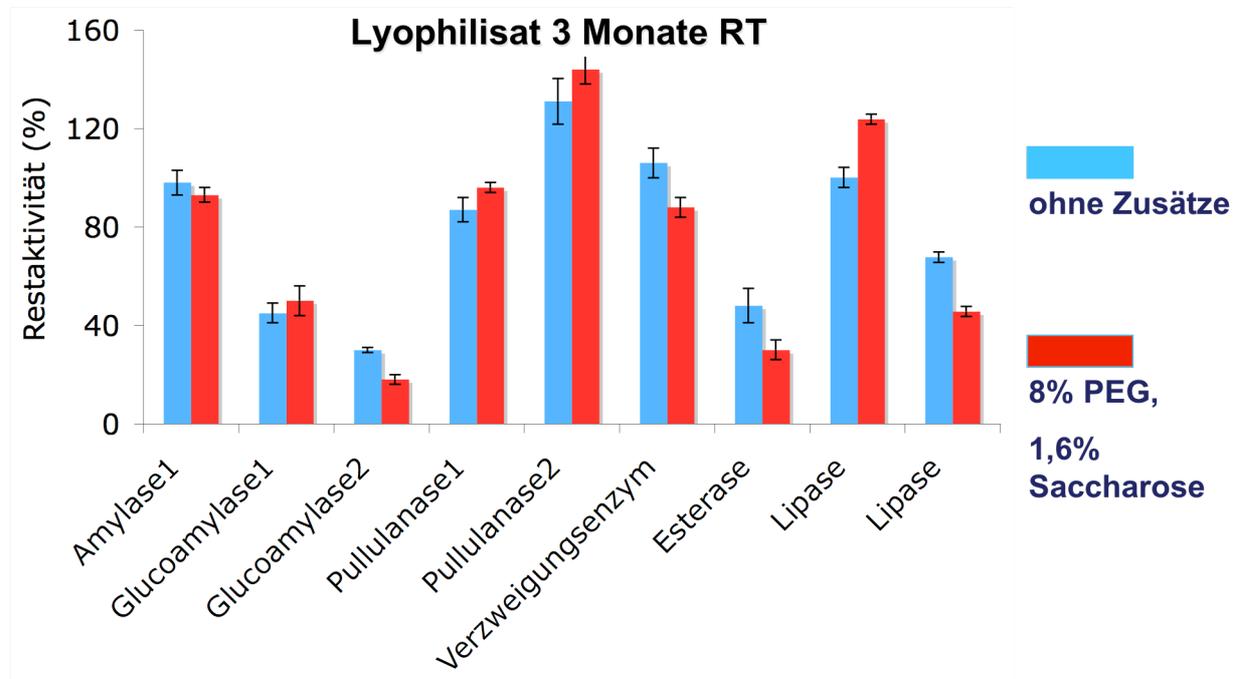
Modellhaft wurde der Einfluss von Saccharose und Polyethylenglykol (PEG) als "Frostschutzmittel" bei der Lagerung von 17 Enzymen bei verschiedenen Temperaturen (-20, -80°C) getestet. Die Untersuchungen ergaben, dass die Aktivität der getesteten Enzyme mit und ohne Zusätze über längere Zeitintervalle und auch während des Versands erhalten bleibt (Abb. 5).



**Abbildung 5:** Lagerung verschiedener Enzyme bei -20°C (oben) und -80°C (unten) mit und ohne Zusätze. Die Restaktivität wurde nach 3 Monaten bestimmt.

Neben der Lagerung bei tiefen Temperaturen wurden auch Untersuchungen zur Lagerstabilität von lyophilisierten Enzymproben bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Restaktivität der Enzyme im Durchschnitt geringfügig niedriger liegt als bei

eingefrorenen Proben (Abb. 6). Prinzipiell ist das Lyophilisieren aber ebenfalls eine geeignete Methode, um die Enzyme stabil zu lagern.



**Abbildung 6:** Lagerung verschiedener Enzyme in lyophilisierter Form mit und ohne Zusätze. Die Restaktivität wurde nach 3 Monaten bestimmt.

Weitere Untersuchungen zur Langzeitstabilität haben gezeigt, dass es am besten ist, die Enzyme in Form von Biomasse, also in nicht aufgeschlossenen Zellen bei  $-80^{\circ}\text{C}$  zu lagern. Vergleiche haben ergeben, dass die Enzyme in dieser Form wesentlich stabiler sind als in der Form von eingefrorenen Rohextrakten. Die BiocatCollection ist daher dazu übergegangen, die durch Fermentation gewonnene Biomasse sofort bei  $-80^{\circ}\text{C}$  zu lagern und die Rohextrakte erst dann zu gewinnen, wenn eine konkrete Kundenanfrage vorliegt. Darüber hinaus wurde der Einfluss des Sterilfiltrierens auf die Aktivität ausgewählter Enzyme untersucht. Die Sterilfiltration ist notwendig, um sicherzustellen, dass die für den Kunden bestimmte Enzympräparation frei von vermehrungsfähigen Zellen ist. Bei diesen Untersuchungen stellte sich heraus, dass die Sterilfiltration in der Mehrzahl der untersuchten Fälle keinen signifikanten Aktivitätsverlust verursachte (Tab. 5). In Einzelfällen waren jedoch extreme Aktivitätsverluste zu beobachten, so dass der Einfluss der Sterilfiltration nun standardmäßig getestet wird.

**Tabelle 5:** Untersuchung der Lagerstabilität von Enzymen\*

<b>BCC Nummer</b>	<b>Enzym</b>	<b>Herstellungsdatum der Biomasse (Anfangsaktivität = 100%)</b>	<b>Restaktivität am 15.11.2006</b>	<b>Restaktivität am 15.11.2006 nach der Sterilfiltration</b>
10	Lipase	08.05.2006	100%	100%
11	Lipase	27.06.2006	100%	100%
27b	Esterase	22.11.2005	90%	85%
29	Esterase	22.11.2005	100%	44%
30	Esterase	22.11.2005	100%	2%
35	Esterase	08.11.2005	82%	74%

\*Lagerung in Form der Biomasse

Die Langzeitstabilität wird weiterhin kontinuierlich untersucht. Es ist aber bereits nach den jetzigen Ergebnissen deutlich geworden, dass die Enzymlagerung in der Mehrzahl aller Fälle unkritisch ist.

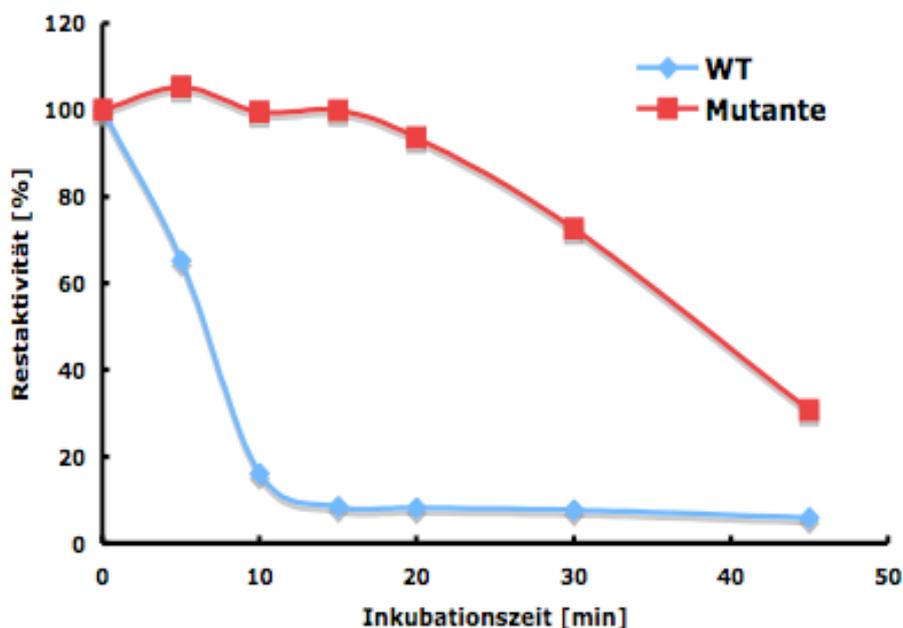
#### **4.1.5 Metagenomik zur Erhöhung der Diversität**

Ein hoher Prozentsatz (~95%) der Mikroorganismen gilt mit heutigen Mitteln als nicht kultivierbar. Damit stehen ebenso viele potenziell wertvolle Enzyme als Biokatalysatoren nicht zur Verfügung. Um dieses Potenzial auszunutzen, bedient sich die BiocatCollection der Technik des direkten Klonierens von DNA aus Umweltproben, der sogenannten Metagenomik. So konnte das Enzymportfolio der BiocatCollection in den letzten zwei Jahren um viele Enzyme erweitert werden, die mit klassischen, kultivierungsbasierten Techniken nicht zu erschließen gewesen wären. Der BiocatCollection stehen für die Screenings eigene Genbanken zur Verfügung, die überwiegend aus extremen Standorten gewonnen wurden, beispielsweise aus heißen Quellen der Azoren, aus Proben aus der Arktis (Spitzbergen) und der Tiefsee (Kooperation mit JAMSTEC). Aktuell befinden sich in der BiocatCollection zahlreiche Hydrolasen, welche aus verschiedenen Metagenomproben isoliert wurden, weitere befinden sich zurzeit im Screeningprozess. Von besonderem Wert sind in diesem Zusammenhang die exklusiven Proben aus der Kooperation mit dem japanischen Forschungsinstitut JAMSTEC (Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology). Dieses einzigartige Probenmaterial

wird in den Laboren der BiocatCollection untersucht und dient zur Isolierung neuer Mikroorganismen, sowie zur Gewinnung von Gen- und Metagenombänken. So wurde ein Metagenom aus Bohrkern-Sedimentproben pyrosequenziert. In dem insgesamt 50,5 Mio. Basenpaare umfassenden Metagenom konnten 52.500 offene Leserahmen identifiziert werden. Es ist zu erwarten, dass sich in ungewöhnlichen Lebensräumen ebenso ungewöhnliche Enzyme mit besonderen Eigenschaften identifizieren lassen. Um diese Vielfalt auch in Zukunft zu erweitern, kooperiert die BiocatCollection mit der Arbeitsgruppe von Professor Wolfgang Streit (Uni Hamburg), der über ein großes Sortiment an Metagenomgenbanken verfügt. Diese stammen im Gegensatz zu denen der BiocatCollection überwiegend aus mesophilen Habitaten, wie z. B. verschiedenen Bodenproben und bilden eine noch höhere Diversität ab, da diese Habitate üblicherweise von einer wesentlich breiteren Mikroorganismenpopulation bevölkert werden als die bisher untersuchten Extremhabitate. Ziel ist der Aufbau einer Sammlung von Genbanken, analog der BiocatCollection, die Enzyme screent und zur Verfügung stellt. Die vorhandenen Genbanken der AG Professor Streit und der BiocatCollection sollen in Zukunft als MetaCatCollection für Kundenanfragen zur Verfügung stehen und gezielt auf neue, gewünschte Enzymaktivitäten hin durchmustert werden. Die BiocatCollection sieht in der Metagenom-Technik eine sinnvolle Ergänzung zu den klassischen Ansätzen der Enzymdetektion, wobei letztere selbstverständlich auch weiterhin den Schwerpunkt der Aktivitäten bilden werden.

#### **4.1.6 Enzymoptimierungen**

Viele Enzyme weisen trotz guter Performance unter Lager- und Einsatzbedingungen eine zu geringe Stabilität auf. Die BiocatCollection beschäftigt sich daher auch mit der Optimierung von Enzymeigenschaften. Ziel ist es, maßgeschneiderte Biokatalysatoren mit spezifischen Eigenschaften und hoher Stabilität anbieten zu können. Am Beispiel einer kälteaktiven Lipase, die hohe Aktivität bei niedrigen Temperaturen sowie eine hohe Enantioselektivität von 91% ee für das entzündungshemmende Schmerzmittel Ibuprofen aufweist, konnte dies erfolgreich gezeigt werden. Normalerweise wird dieses hitzelabile Enzym bei Temperaturen von 50°C binnen weniger Minuten inaktiviert. Durch evolutive Verfahren (error prone PCR) konnte schon nach zwei Mutagenesezyklen eine Mutante detektiert werden, deren veränderte Lipase bei 50°C eine fast fünfmal längere Stabilität aufweist als das WT-Enzym. Erst nach 50 Minuten sinkt die Restaktivität unter 10 %. Dem gegenüber weist das WT-Enzym bereits nach nur 10 Minuten eine Restaktivität <10% auf (Abb. 7).



**Abbildung 7:** Thermische Stabilisierung einer kälteaktiven Lipase der BiocatCollection durch gerichtete Evolution.

Diese Mutante wurde mittels robotergestützten Screenings unter je 2.500 Mutanten pro Zyklus gefunden. In weiteren Mutageneserunden wird aktuell nach einer noch stabileren Enzymvariante gesucht. Grundsätzlich ist es mit dieser Technologie möglich, Enzyme auch hinsichtlich anderer gewünschter Eigenschaften (Substratspektrum, pH, Enantioselektivität) zu optimieren. Nach weiterer Etablierung dieser Technik ist es geplant, die Enzymoptimierung in Zukunft auch als Dienstleistung für Kunden anzubieten.

## 4.2 Bericht über die geschäftlichen Aktivitäten

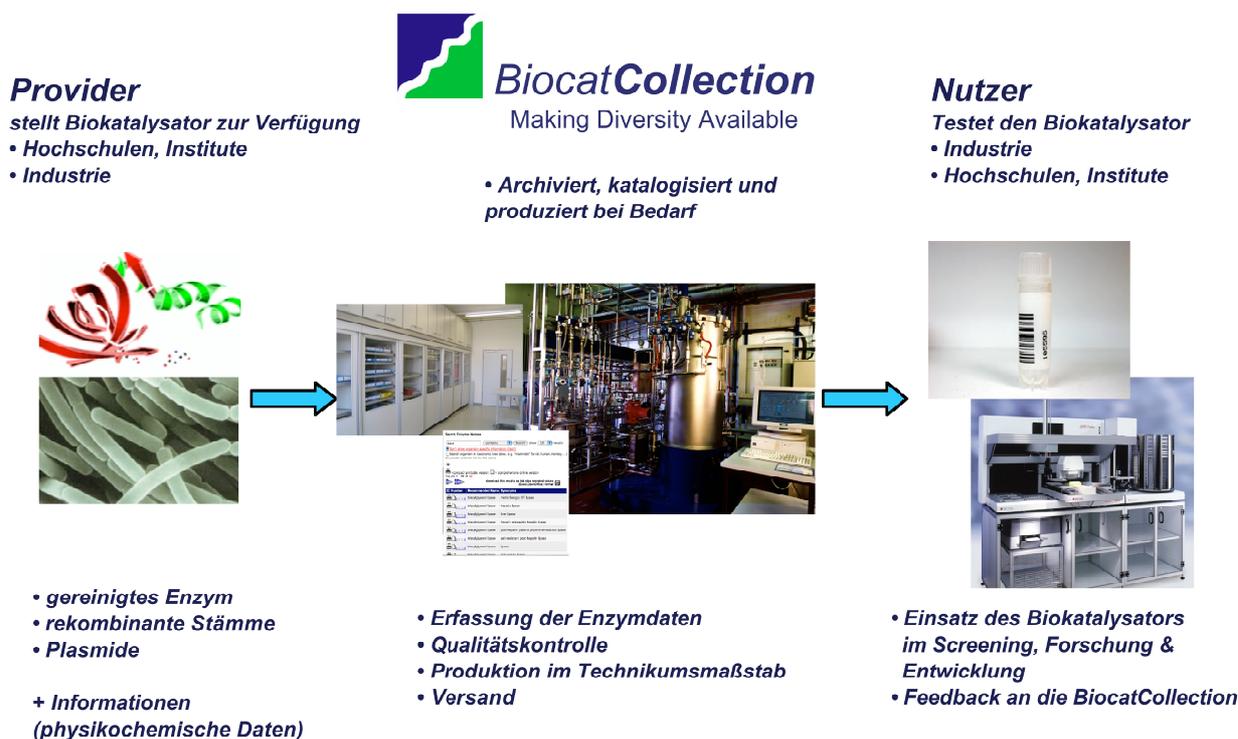
### 4.2.1 Ausarbeitung eines Geschäftsmodells und eines Businessplans

Ausgangspunkt für die Entwicklung des BiocatCollection-Geschäftsmodells war die von Professor Antranikian entworfene Idee einer "Internationalen Sammlung von Biokatalysatoren", die den an Hochschulen, Instituten und Unternehmen lagernden "Enzymschatz" heben und zu einer breiten Anwendung verhelfen sollte. Der damalige *ICBio*-Gesamtkoordinator hat zur Entwicklung eines Geschäftsmodells und zur Erarbeitung eines Businessplans die externen Berater Herrn Dr. Stefan Müllner (Fundamanta Life Science) und Herrn Dr. Wolfgang Hofmann (Consultant) einbezogen. Zur Ermittlung des Bedarfs einer Enzymsammlung sowie zur Analyse wichtiger Marktparameter (Anbieter, Nutzer, Wertschöpfungskette, Bepreisung) wurden auf Initiative der DBU Gespräche mit Vertretern großer sowie kleiner und mittelständischer Unternehmen geführt (Unternehmergespräche, 17./18.02.2003 in Osnabrück). In den zweitägigen Unternehmergesprächen, an denen über 30 Vertreter der Biotech-Branche

teilgenommen haben, wurde die Idee einer BiocatCollection sehr positiv bewertet und die Umsetzung dieser Idee begrüßt. Darüber hinaus wurde in zahlreichen Einzelgesprächen und durch die Auswertung wirtschaftlicher Kennzahlen ein umfassender Überblick über mögliche Geschäftsaktivitäten und das dazugehörige Marktumfeld einer BiocatCollection herausgearbeitet. Der daraus resultierende Businessplan gab Empfehlungen zur Umsetzung des Geschäftsmodells in ein wirtschaftlich tragfähiges Konzept. Das Konzept der BiocatCollection wurde in der Gutachtersitzung am 15./16. März 2004 vorgestellt und anschließend durch das Kuratorium der DBU für eine Projektlaufzeit von sechs Jahren bewilligt (Fördersumme 650.000 Euro). Mit dem operativen Geschäft hat die BiocatCollection im Juli 2005 begonnen.

#### **4.2.2 Die BiocatCollection macht Enzymdiversität verfügbar**

Das diskutierte Geschäftsmodell der BiocatCollection greift den Gedanken eines integrierten Serviceangebots auf, der für eine erfolgreiche Nutzung der Biokatalyse von essentieller Bedeutung ist: Denn es sind nicht Enzyme oder Enzym-Informationen allein, sondern die Kombination von beiden, die eine nachhaltige und wertschöpfende Nutzung ermöglichen. Nur durch die gleichzeitige Verfügbarkeit von Enzymen und Informationen können die Hürden für eine breitere Nutzung der Biokatalyse wirksam abgebaut werden. Die BiocatCollection bildet hierbei eine Schnittstelle zwischen Enzym-Anbietern (Hochschulen, Institute, kommerzielle Anbieter) auf der einen und Enzym-Nutzern (z.B. chemische, pharmazeutische und Lebensmittelindustrie) auf der anderen Seite (Abb. 8). Für die kommerziellen Enzym-Anbieter stellt die BiocatCollection einen Vertriebskanal und eine Marketingplattform dar. Die Kontaktaufnahme zu möglichen Neukunden wird unterstützt, ebenso die Vermittlung von ergänzenden Dienstleistungen wie Auftragsexpression oder Mengenproduktion von Enzymen. Die zahlreichen Enzyme aus Hochschulen und Instituten können mit Hilfe der BiocatCollection erstmals professionell einer großen Anzahl von potenziellen Enzym-Nutzern zur Verfügung gestellt werden. Für die Enzym-Nutzer bietet die BiocatCollection einen einfachen und zuverlässigen Zugriff auf eine große Diversität von Enzymen zu marktüblichen Preisen. Auf Wunsch können durch Kooperationspartner auch ergänzende Dienstleistungen angeboten oder vermittelt werden. Durch diese Angebote kann die BiocatCollection potenziellen Nutzern einen ersten oder breiteren Einstieg in die Biokatalyse ermöglichen. In dieser Mittlerrolle muss die BiocatCollection als glaubwürdiger und ehrlicher Makler und Partner auftreten, um eine breite Akzeptanz zu erreichen.



**Abbildung 8:** Das Prinzip der BiocatCollection

#### 4.2.3 Geschäftsbetrieb der BiocatCollection

##### 4.2.3.1 Vertragsstruktur und Vertragspartner

Im Juli 2005 hat die BiocatCollection damit begonnen, die vertragliche Basis für eine Kooperation mit Ihren Partnern (Enzymanbieter und -nutzer) zu schaffen. Kern ist ein Bereitstellungs- und Vermittlungsvertrag, der die partnerschaftliche Zusammenarbeit zwischen Enzym Providern und BiocatCollection regelt. Das Vertragswerk wird von den Partnern der BiocatCollection gut angenommen und bietet sowohl Transparenz als auch Rechtssicherheit. Durch seine Struktur als Maklervertrag ist überdies der Anpassungsbedarf hinsichtlich unterschiedlicher Vertragspartner (Firmen, Universitäten, Forschungseinrichtungen) sehr gering.

Die Vertragsunterlagen wurden an 32 potenzielle Partner der BiocatCollection versandt. Mit sieben Partnern wurden Verträge abgeschlossen, von weiteren fünf Partnern liegen mündliche Kooperationszusagen vor. Der Anteil der Vertragspartner aus dem universitären Umfeld überwiegt. Dies ist in guter Übereinstimmung mit dem übergeordneten Ziel der BiocatCollection, nämlich den "Enzymschatz" an den Hochschulen zu heben. Die bisherige Entwicklung hat aber auch gezeigt, dass die Akquise neuer Vertragspartner ein sehr langwieriger Prozess ist. Den potentiellen akademischen Partnern fehlt häufig die Erfahrung mit vertraglichen Vereinbarungen und Unsicherheiten seitens der Universitätsverwaltungen verzögern häufig das

Zustandekommen rechtsverbindlicher Zusagen. Bei Firmen ist ein deutlicher Unterschied zwischen KMUs und Großunternehmen festzustellen. Während die Vertragsanbahnung mit kleineren Unternehmen zügig verlaufen, dauert die Prüfungsphase in Großunternehmen auf Grund der komplizierteren Hierarchie- und Kompetenzstrukturen deutlich länger. Um diesem Sachverhalt Rechnung zu tragen, verfolgte die BiocatCollection vornehmlich zwei Strategien. Zum einen wurde die Enzymdiversität durch eigene Forschungsarbeiten (Screening nach neuen Mikroorganismen, Screening von eigenen Gen- und Metagenombanken, Enzymmutanten) weiter erhöht. Zum anderen wurden potenzielle Partner aus Hochschulen und Industrie identifiziert, die über ein großes Enzymportfolio verfügen. Das Ziel dieser Strategie lautete: möglichst viele Enzyme pro Vertrag statt viele Verträge mit geringem Enzymumfang.

Im Nachgang des Statusseminars im Juni 2008 wurde der Businessplan unter der Federführung von Dr. Weiss revidiert und im Dezember 2008 dem Beirat der BiocatCollection im Dezember 2008 vorgelegt. Die Kernpunkte waren damals die (Neu-) Definition des Geschäftsmodells, die Anpassung der Umsatzzahlen, sowie eine gezielte Weiterentwicklung des Geschäftsmodells. Das Geschäftsmodell basierte danach auf den folgenden drei Säulen:

- 1.) Erlöse durch Royalties (Enzymmakler)
- 2.) Erlöse aus Enzymverkäufen
- 3.) Erlöse aus Dienstleistungen, Auftragsarbeiten und eigene Entwicklungen

Die Erfahrungen im Projektverlauf haben gezeigt, dass für die Arbeit als Enzymmakler ein langer Atem erforderlich ist. Mit dem Aufbau einer umfangreichen Sammlung steigen die Erfolgsaussichten allerdings signifikant, so dass sich Einnahmen in Form von Royalties aus der Arbeit als Enzymvermittler generieren lassen. Aus diesem Grund wurde ein Fokus auf die Produktion von neuen Enzymen mit Alleinstellungsmerkmalen gelegt. Diese Arbeiten sollten die wirtschaftliche Situation der BiocatCollection auch zukünftig positiv beeinflussen. Im gesamten Projektverlauf hatte sich gezeigt, dass es nicht möglich ist, ein wirtschaftlich tragfähiges Geschäftsmodell alleine auf den Erlösen durch Enzymverkäufe zu etablieren. Auch andere Firmen mit ähnlichen Geschäftsmodellen haben ähnliche Erfahrungen gemacht und setzen aus diesem Grund vermehrt auf Dienstleistungen und/oder Systemlösungen wie Screening, Enzymoptimierung oder Verfahrensentwicklung. Beispiele hierfür sind die Firmen ASA Spezialenzyme, BRAIN, Codexis und X-Zyme.

#### **4.2.3.2 Services und Dienstleistungen**

Als aussichtsreichste Säule des Geschäftsmodells, erscheint nach wie vor das Anbieten von Dienstleistungen und Beratungen zu Themen rund um die Biokatalyse ergänzt durch eigene Entwicklungsarbeiten. Die Entscheidung, den Fokus der BiocatCollection vom Verkauf von

Enzymen in eine Dienstleistungs-orientierte Richtung zu verschieben, wurde dabei vom Markt gelenkt. Die BiocatCollection bearbeitete in den letzten Jahren zahlreiche Aufträge für Industrieunternehmen (Tabelle 6). Hierbei nutzen die Auftraggeber das umfangreiche Know-how und die apparative Ausstattung der BiocatCollection für die Durchführung enzymatischer Assays und für Fermentationen. Für die Firma ACOS Food Technology (Niederlande) wurde der proteolytische Abbau von behandelten Schlachtabfällen im Hinblick auf eine spätere Verwendung als Tierfutter untersucht. Für die Hamburger Zweigstelle der global tätigen Firma National Starch (Hauptquartier Bridgewater/New Jersey, USA) wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt. So wurden Amylaseaktivitäten unter verschiedenen Prozessparametern untersucht und daraus erfolgreiche Hinweise auf den wirkungsvollen Einsatz im späteren Prozess gegeben. Ferner wurden Enzymaktivitäten in unterschiedlichen Produktionsstufen bei der Tierfutterherstellung aus Pflanzenabfällen bestimmt.

**Tabelle 6:** Dienstleistungsaufträge (Stand 12/2010)

Auftrag	Auftraggeber	Volumen	Status	Bemerkung
Amylaseassay	National Starch	2.000	Beendet	
Proteolyse von Schlachtabfällen	ACOS Food Technology	2.000	Beendet	
Genbanken	Direvo	10.000	Beendet	
Produktion Sulphydryloxidase	SternEnzym	10.000	Beendet	Folgauftrag erteilt (P27)
Cellulasen in der Biogaserzeugung	Ceres Systemtechnik	2.000	Beendet	
Markt- und Technologiestudie	Phyton Biotech	10.000	Beendet	Folgauftrag erwartet
Stabile Enzyme	Merck	10.000	Beendet	
Biokatalytische Gewinnung von Flavonoiden	Symrise	30.000	Beendet	Erweitert um eine Genomsequenzierung von <i>E. ramulus</i>
Expressionssysteme	SternEnzym	40.000	in Bearbeitung	
DNA-Polymerasen	SeSaM	44.600	in Bearbeitung	
Biogasproduktion	3B Biofuels, Brunsbüttel	(28.000)	Angebot erstellt	Antwort steht noch aus
Hydrolasen	Uni Hannover	2.000	Beendet	
	<b>Summe</b>	<b>162.000,-</b> (190.000,-)		

Außerdem konnte eine Markt- und Technologiestudie für die Phyton GmbH erfolgreich abgeschlossen werden.

Für die Firma Direvo (Köln) wurden Genbanken aus psychrophilen Mikroorganismen erstellt, die vom Auftraggeber für eigene Screenings genutzt wurden.

Zudem konnte die BiocatCollection auch im Technikums-Maßstab erfolgreich für externe Auftraggeber tätig werden. So wurde für die Firma SternEnzym (Ahrensburg) ein *Bacillus*-Stamm im 300 L-Maßstab fermentiert, um eine Oxidase-haltige Enzympräparation im Multikilogramm-Maßstab zu produzieren. Dieses Beispiel zeigt, dass die BiocatCollection in der Lage ist, Spezial-Enzyme für Nischenanwendungen in ausreichender Menge an den Markt zu bringen. Weitere Folgeaufträge sind bereits angekündigt, sodass die BiocatCollection auch zukünftig einen wichtigen Beitrag dazu leisten wird, biokatalytische Innovationen in marktreife Produkte zu überführen. Dabei wird ein Marktsegment bedient, das von den großen Enzymherstellern nicht abgedeckt wird. Im November 2010 wurde ebenfalls im Auftrag der Firma Symrise das Genom von *Eubacterium ramulus* sequenziert. Nach der erfolgreichen Sequenzierung wurde die Genomgröße von 3,4 MB mit einer fast 25fachen coverage ermittelt. Nach dem Assembly wurden 115 Contigs zusammengestellt und insgesamt 26.868 ORFs identifiziert.

Für die Firma SeSaM Biotech GmbH wird zurzeit nach DNA-Polymerasen der Y-Familie in Metagenom-Proben aus heißen Standorten gescreent, die das Einfügen von Mutationen mittels Primer-Fehlpaarungen in Zielsequenzen ermöglichen.

Des Weiteren sollen viel versprechende Enzymkandidaten zu marktreifen Produkten weiterentwickelt werden und in Folge dessen auch biotechnologische Verfahren entwickelt werden, so ist es z.B. geplant eine säureaktive Amylase für die Textilindustrie zu generieren.

#### 4.2.3.3 Öffentlichkeitsarbeit

Um ihren Bekanntheitsgrad in der Fachwelt weiter zu steigern, hat sich die BiocatCollection auf zahlreichen Tagungen, Messen und Kongressen präsentiert. So war die Sammlung mit Posterpräsentationen auf folgenden Fachkongressen vertreten:

- From  $\mu\text{l}$  to  $\text{m}^3$  - Strategies in Bioprocess Development, DECHEMA-Tagung, 28.+29.03.2006, Hamburg
- biocat2006, 3rd International Congress on Biocatalysis, 03.-07.09.2006, Hamburg
- VAAM-Jahrestagung, 09.-11.03.2008, Frankfurt am Main

- biocat2008, 4th International Congress on Biocatalysis, 31.08.-04.09.2008, Hamburg
- biocat2010, 5th International Congress on Biocatalysis, 29.08.-02.09.2010, Hamburg

Bei der Woche der Umwelt 2007 (Berlin, 05./06.06.2008) gehörte die BiocatCollection zu einem von 180 ausgewählten Projekten und konnte sich auch einem Publikum jenseits der Biotechnologie präsentieren (Abb. 9).



**Abbildung 9:** Messestand der BiocatCollection auf der Woche der Umwelt

Darüber hinaus war die BiocatCollection seit 2005 auf jeder Biotechnica auf dem Gemeinschaftsstand der DBU vertreten. Außerdem stellte die BiocatCollection dreimal auf der internationalen Fachtagung "Biocat" aus. Auf dieser Veranstaltung erreichte die BiocatCollection die gesamte Zielgruppe mit Entscheidungsträgern aus Wissenschaft und Industrie. Daneben wurde die BiocatCollection in zahlreichen nationalen und internationalen Vorträgen vorgestellt.

Die Marketingaktivitäten wurden auch im Zuge einer Roadshow ausgebaut. Diese diente dazu, den Bekanntheitsgrad der BiocatCollection bei nationalen und internationalen Akteuren zu erhöhen und detaillierte Kooperationsmodelle auszuarbeiten. Als Ergebnis dieser Maßnahme wurden Kooperationsverträge mit den Firmen evocat, X-Zyme und ASA Spezialenzyme geschlossen, die den gemeinsamen Vertrieb von Biokatalysatoren gewährleisten. Dabei kann die BiocatCollection die Vertriebswege der Partner nutzen und Dienstleistungsaufträge für die Herstellung verschiedener Enzyme bis in den Technikumsmaßstab erhalten. Die Partner profitieren von dem umfangreichen Portfolio an Enzymen, im Speziellen aus extremophilen Mikroorganismen.

Im Internet präsentiert sich die BiocatCollection unter der Adresse [www.biocatcollection.de](http://www.biocatcollection.de) der Öffentlichkeit (Abb. 10). Die Seite informiert über den Aufbau und die Ziele der BiocatCollection sowie über das umfangreiche Enzymportfolio. Neben Bestellinformationen und aktuellen Neuigkeiten erhalten Enzymbereitsteller auch die Möglichkeit, ein Formular zur Hinterlegung ihrer Biokatalysatoren herunterzuladen. Unter Google ist die BiocatCollection aktuell mit mehr als 250 Einträgen vertreten (Stand 20. Dezember 2010). Fortlaufend werden Datenblätter von industriell relevanten Biokatalysatoren auf der Internetseite veröffentlicht, welche Interessenten und potenziellen Kunden detaillierte Auskunft über spezifische Eigenschaften von ausgewählten Enzymen der BiocatCollection geben. Im Besonderen wurde eine deutliche Priorität und Fokussierung auf eine geringe Anzahl von Enzymen, die aber von großem wissenschaftlich/technischen Interesse sind, gelegt. Die Datenblätter umfassen Informationen zur Enzymklasse, zu optimalen Reaktionsbedingungen (pH-Wert und Temperatur), sowie zur Umsatzrate und Substratspezifität. Angaben, wie die Stabilität oder die Sensitivität gegenüber verschiedener Reagenzien und Detergenzien sind ebenso angegeben, wie Details zur Lagerung oder zu den Assaybedingungen. Diese verstärkte Aktualisierung der Internetseite führte dazu, dass die BiocatCollection einer breiteren Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden konnte, was sich neben der verstärkten Kontaktaufnahme von Kunden, ebenfalls im höher frequentierten Aufrufen der Homepage durch Internet-Nutzer bemerkbar machte. Die Internetseite wird auch weiterhin laufend aktualisiert. Langfristiges Ziel ist es, Datenblätter für alle Enzyme der BiocatCollection zu erstellen. Neue Biokatalysatoren mit interessanten Alleinstellungsmerkmalen und hoher Relevanz für den aktuellen Markt, sollen dabei besonders im Hinblick auf Sonderaktionen berücksichtigt werden.

Auch die von den Gutachtern gewünschte Publikationstätigkeit wurde in den sechs Jahren der Förderung stetig nachgegangen. Im Jahr 2010 erschien in der GIT Labor-Fachzeitschrift ein aktueller Artikel über die BiocatCollection (Christian Elend, Ralf Grote und Garabed Antranikian (2010) Biokatalysatoren im Einsatz – Die BiocatCollection macht Enzymvielfalt verfügbar. GIT Labor-Fachzeitschrift 2: 125-127). Dieser Artikel löste eine hohe Resonanz aus und resultierte in zahlreichen Anfragen von potenziellen Neukunden und möglichen Projektpartnern, die an die BiocatCollection gerichtet wurden. Das Manuskript zu einem weiteren Übersichtsartikel über extremophile Mikroorganismen und deren Enzyme, sowie ihr Potenzial für biotechnologische Anwendungen und die in diesem Zusammenhang stehende Arbeit der BiocatCollection wurde vorbereitet und soll in Kürze bei einem nationalen Journal eingereicht werden.

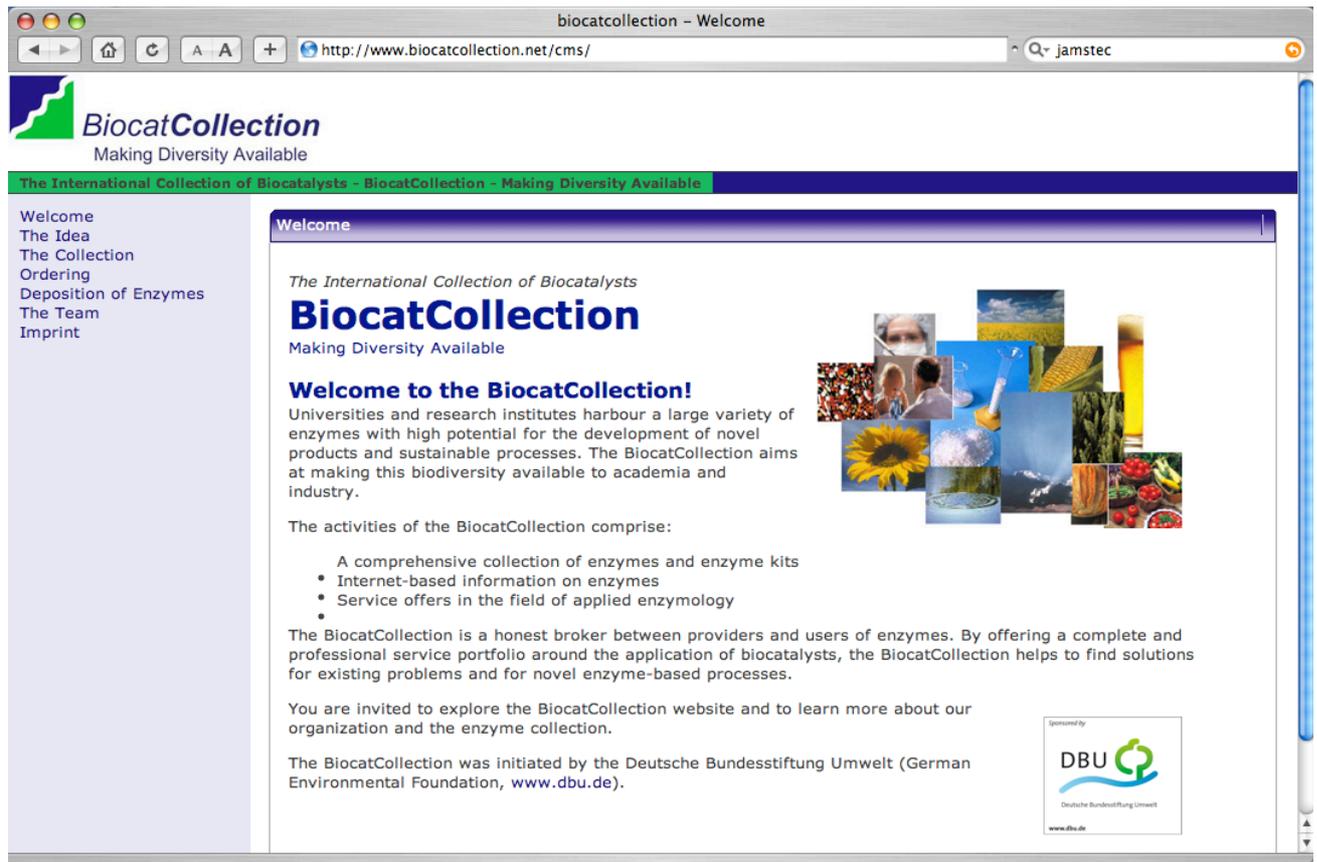


Abbildung 10: Das Internetportal der BiocatCollection

Zur Unterstützung der Präsentation der BiocatCollection auf Tagungen und Messen wurde zudem ein Werbeflyer entwickelt, der die Ziele und Angebote der BiocatCollection übersichtlich darstellt (Abb. 11).

[www.biocatcollection.de](http://www.biocatcollection.de)

**Contact**

The BiocatCollection  
Postfach 90 10 65  
D-21050 Hamburg  
Germany

Phone: +49 40 42878 3117  
Fax: +49 40 42878 2582  
E-Mail: [info@biocatcollection.de](mailto:info@biocatcollection.de)  
Internet: [www.biocatcollection.de](http://www.biocatcollection.de)

**Ordering Information**

If you want to purchase enzymes from the BiocatCollection please contact our staff by phone or e-mail.

The BiocatCollection team will be pleased to inform you about the current enzyme list and will help you to choose the most suitable enzyme for your application. The price is 300 Euros per sample. Enzymes are available in quantities that are sufficient for tests in a laboratory scale. Depending on the type of enzyme we guarantee >10, >100 or >1000 Units, respectively. Enzymes will be delivered ready to use in storage buffer. If the enzyme is in stock, the sample will be shipped on the day of ordering.

**Abbildung 11:** Werbeflyer der BiocatCollection

Außerdem wurde ein Flyer herausgegeben und an Partner aus der Industrie verteilt, der ein aus sechs Esterasen bestehendes Esterase-Kit bewirbt (Abb. 12).

**Ordering information**

If you want to purchase enzymes from the BiocatCollection please contact our staff by phone or e-mail.

The BiocatCollection team will be pleased to inform you about the current enzyme price list and will help you to choose the most suitable enzyme for your application.

Enzymes are available in quantities that are sufficient for tests on laboratory scale. Depending on the type of enzyme, we guarantee >10, >100, or >1000 Units, respectively. Enzymes will be delivered ready to use in storage buffer. If the enzyme is in stock, the sample will be shipped on the day of ordering.



**1.500 €\***

BCC-Nr.	Enzyme	EC	T <sub>opt</sub>	pH <sub>opt</sub>	Stability	Activity	Specifics
008	Esterase	3.1.1.1	75 °C	10.0	T <sub>1/2</sub> (75 °C) = 6 h	pNPL: 1.85 U/mg	Not influenced by most cations
029	Esterase	3.1.1.1	70 °C	6.5	T <sub>1/2</sub> (90 °C) = 21 h	pNPB: 33 U/mg	Hydrolyzes pNP esters of Ibuprofen, Naproxen, Ketoprofen
030	Esterase	3.1.1.1	25 °C	8.0	T <sub>1/2</sub> (40 °C) = 5 h	pNPB: 2 U/mg	Inactivation at 50 °C possible
031	Esterase	3.1.1.1	25 °C	8.0	T <sub>1/2</sub> (90 °C) = 2.5 h	pNPB: 0.2 U/mg	Inhibited by Fe <sup>2+</sup> , Al <sup>2+</sup> , Cr <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup>
035	Esterase	3.1.1.1	55 °C	7.0	T <sub>1/2</sub> (90 °C) = 21 h	pNPB: 2639 U/mg	Hydrolyzes pNP esters of Ibuprofen, Naproxen, Ketoprofen
070	Esterase	3.1.1.1	70 °C	7.0	T <sub>1/2</sub> (60 °C) = 1 h	pNPC: 50 U/mg	Inhibited by Fe <sup>3+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Cr <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>






\* or 300 €/sample

Abbildung 12: Werbeflyer für Esterase-Kit

#### 4.2.3.4 Das BiocatArchiv

Das BiocatArchiv geht auf eine Literatursammlung zurück, die von Professor Klaus Kieslich an der GBF in Braunschweig aufgebaut wurde. Die Sammlung umfasst Literatur zum Thema Biokatalyse aus dem Zeitraum von 1899 bis 1999 und listet 35.000 biokatalytische/biotransformatorische Reaktionen auf. Sie ist damit eine der weltweit umfangreichsten Sammlungen auf diesem Gebiet. Das BiocatArchiv wurde auf Vermittlung der VAAM Fachgruppe "Biotransformation" (Prof. Syldatk) an die BiocatCollection übergeben. Das Archiv steht sowohl für eigene Recherchen zur Verfügung als auch für Recherchen von interessierten Kolleginnen und Kollegen. Möglichkeiten zur Digitalisierung des Archivs wurden mit der Bibliothek der TU Hamburg-Harburg erörtert. Bisher konnten aber Fragen der Finanzierung und urheberrechtliche Belange noch nicht zufriedenstellend gelöst werden. Das BiocatArchiv stellt eine substantielle Bereicherung der BiocatCollection dar und ist eine wichtige Quelle für die eigenen Arbeiten.

#### 4.2.3.5 Verknüpfung mit weiteren Datenbanken

Bereits 2008 wurde eine Verknüpfung mit der Enzymdatenbank BRENDA („The Comprehensive Enzyme Information System“) geplant und in den folgenden beiden Jahren aktiv von Seiten der

BiocatCollection angestrebt. Das Ziel war es, eine Bestellmöglichkeit von Biokatalysatoren aus dem Portfolio der BiocatCollection über die Enzymdatenbank BRENDA zu implementieren. Die Verlinkung mit BRENDA konnte jedoch nicht realisiert werden, da es zu keiner Unterzeichnung eines Kooperationsvertrages gekommen ist. Nach zahlreichen Vorgesprächen und einem ausführlichen Gespräch zwischen Herrn Prof. Antranikian (BiocatCollection) und Herrn Prof. Schomburg (BRENDA) am 22. Juni 2009 kam keine weitere Kontaktaufnahme zustande. Herr Prof. Schomburg signalisierte durch mangelnde Reaktion auf schriftliche Anfragen von Seiten der BiocatCollection, sowie auf die Zusendung des Entwurfs eines Kooperationsvertrages, dass eine Zusammenarbeit offensichtlich für BRENDA zurzeit nicht in Frage zu kommen scheint.

## 5 Fazit

Während der sechs-jährigen Laufzeit hat sich das DBU-Projekt BiocatCollection entsprechend der ursprünglichen Planung entwickelt (Tab. 7). In den ersten drei Monaten wurde ein Vertragsmodell entwickelt, das die rechtliche Grundlage für die Beziehung zu den externen Enzymbereitstellern bildet. Die Erfahrungen haben gezeigt, dass das Vertragsmodell gut angenommen wird. Allerdings hat sich die Akquise neuer Vertragspartner als ein sehr langwieriger Prozess herausgestellt. Die BiocatCollection wird daher in Zukunft verstärkt solche potenziellen Partner ansprechen, die über ein besonders umfangreiches Enzymportfolio verfügen. Ziel es, die Anzahl der bereitgestellten Enzyme pro Vertrag signifikant zu erhöhen. Darüber hinaus wird die BiocatCollection ihr Enzymportfolio auch weiterhin aus eigener Kraft erweitern. Hierzu steht der Sammlung weltexklusives Probenmaterial aus einer Kooperation mit dem japanischen Institut JAMSTEC zur Verfügung. Einzigartiges Probenmaterial aus Tiefseeproben aus dem Mariannengraben (11.000 m Tiefe) und Bohrkerne befindet sich in den Labors der BiocatCollection und dient nun zur Isolierung neuer Mikroorganismen sowie zur Gewinnung von Gen- und Metagenombanken. Es ist zu erwarten, dass sich in den ungewöhnlichen Lebensräumen ebenso ungewöhnliche Enzyme mit besonderen Eigenschaften detektieren lassen. Mit der Anschaffung des Pipettierroboters und der Eröffnung des S2 klassifizierten Screeninglabors im Jahr 2007 sind darüber hinaus die Voraussetzungen geschaffen worden, den Screeningdurchsatz signifikant zu erhöhen.

Der Aufbau der eigentlichen Enzymsammlung verlief zügiger als im Businessplan prognostiziert. Aufgrund des schnellen Zuwachses wurde die Zielgröße der Sammlung von ursprünglich 300 geplanten auf 400 Enzyme (inkl. Gen- und Metagenombanken) angehoben. Ein Ziel, das während der Projektlaufzeit annähernd erreicht wurde. Damit verfügt die BiocatCollection über ebenso viele Enzyme wie die Firma Fluka und rund sechs mal so viele Positionen wie die frühere Firma Jülich Fine Chemicals. Die Produktion der rekombinanten Enzyme im 2 bis 300 Liter-Maßstab ist erfolgreich etabliert worden. Ebenso wurden für die Lagerung und den Versand der Enzyme tragfähige Lösungen gefunden.

**Tabelle 7:** Übersicht über die Arbeitspakete und Meilensteine

Jahr	2005				2006				2007				2008				2009				2010				2011							
Quartal	I	II	III	IV																												
<b>Arbeitspaket (AP) / Meilenstein (MS)</b>																																
MS 1: Start des operativen Geschäfts			■																													
AP 1: Aufbau der Enzymsammlung			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
AP 2: Ausarbeitung der Verträge			■	■	■	■	■	■																								
MS 2: Verträge sind ausgearbeitet					■																											
AP 3: Akquise von Vertragspartnern			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
AP 4: Aufbau der Internetplattform			■	■	■	■	■	■																								
MS 3: Internetauftritt ist online							■																									
MS 4: 287 Enzyme in der Sammlung													■																			
AP 5: Enzymscreening in Gen- und Metagenombanken									■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
AP 6: Identifizierung von Kooperationspartner für Lohnherstellung von Enzymen													■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
MS 5: Kooperationsvereinbarung mit Lohnhersteller																	■															
AP 7: Marketing und PR-Aktivitäten													■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
MS 6: Sammlung enthält 400 Enzyme																													■			
Beiratssitzungen			■	■					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Messeauftritte			■	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

## 6 Ausblick und Verstetigung

Für die gesamte Projektlaufzeit lagen die Schwerpunkte der BiocatCollection im weiteren Ausbau der Enzymsammlung, im Dienstleistungsbereich und im Marketing. Zur Erhöhung der Enzymdiversität wurden die exklusiven Umweltproben aus der Kooperation mit dem japanischen Institut JAMSTEC genutzt, um neuartige Mikroorganismen zu isolieren und anschließend auf Enzyme mit interessanten Eigenschaften zu screenen. Parallel dazu wurden die Japan-Proben mit einem metagenomischen Ansatz auf neue Enzyme durchmustert. Zugleich wurden Metagenome aus mesophilen Habitaten in Kooperation mit Professor Streit untersucht. Ziel ist der Aufbau einer MetaCatCollection unter dem Dach der BiocatCollection. Hierbei werden auch die Metagenomdaten aus dem Programm "Metagenomik", das in Göttingen angesiedelt ist und das von Professor Streit koordiniert wird, einbezogen. Dies führte bis zum Ende der Förderperiode zu einem Bestand von nahezu 400 Enzymen in der BiocatCollection. Dabei wird auch weiterhin versucht, die Enzymdiversität durch die Kooperation mit zusätzlichen Vertragspartnern zu erhöhen. Viel versprechende Vorgespräche wurden dazu mit der Firma Henkel geführt, die erwägt, Teile ihrer Enzymsammlung für die BiocatCollection zu öffnen.

Im Bereich der Dienstleistungen wird die BiocatCollection den bisher erfolgreichen Weg weiter beschreiten. Durch Kooperationen mit Lohnherstellern wie Lactosan oder HuvePharma sollen zudem Up-Scale Optionen für die Enzymproduktion jenseits des Technikum-Maßstabs entwickelt werden. In den kommenden zwei Jahren wird sich die BiocatCollection um weitere Aufträge aus dem Cluster Biokatalyse2021 bemühen. Durch externe Aufträge ist die Existenz der BiocatCollection über das Ende der DBU-Förderperiode gesichert.

Besonders während der zweiten Förderphase wurde das Marketing und der Vertrieb verbessert. Nachdem die Sammlung in den ersten drei Jahren eine kritische Masse erreicht hatte, die es erlaubte, aktive Kundenakquise zu betreiben, wurden nun Strategien zur Steigerung des Bekanntheitsgrades und der Visibilität der BiocatCollection entwickelt. Hierbei konnte sich die Sammlung auf die hervorragende Expertise des Beiratsmitglieds Bert König stützen. Herr König hat seit vielen Jahren auf Geschäftsführer- und Vorstandsebene umfangreiche Erfahrungen in den Bereichen PR, Marketing, Kundenakquise und Markenbildung gesammelt. Die BiocatCollection wird die ausgezeichneten Kontakte von Herrn König zu renommierten PR-Firmen wie fischerAppelt und Scholz & Friends zukünftig nutzen, um mit diesen Agenturen Marketingstrategien zu beraten. Ziel ist die Etablierung einer multifunktionalen Datenbank, die den Kundenkontakt über Newsletter, Direct Mailings, Dialogköder und Aktionsprogramme effizient unterstützt. Dabei kann es natürlich nicht um kostenintensive Werbekampagnen gehen sondern viel mehr darum, wie man spezifische Zielgruppen erreichen und ansprechen kann.

Im Bereich des Vertriebs wird die BiocatCollection die Kooperation mit der Firma evocatal GmbH weiter ausbauen. Evocatal ist als KMU mit eigenem Enzymportfolio bereits Vertragspartner und stellt der Sammlung hauptsächlich Oxidoreductasen zu Verfügung. Umgekehrt möchte evocatal sein Enzymspektrum erweitern und verschiedene Hydrolasen, insbesondere Lipasen, aus der BiocatCollection aktiv vermarkten. Das vorgestellte Esterase-Kit der BiocatCollection wurde auf Fachtagungen von unseren Vertriebspartnern bereits beworben. Die Zusammenarbeit mit den externen Partnern stellt ein gutes Beispiel für die Generierung von bilateralen Benefits dar. Die BiocatCollection wird auch weiterhin derartige Win-Win-Szenarien aktiv initiieren, um die strategisch wichtige Vertriebsbasis auszubauen.

Durch die kontinuierliche Öffentlichkeitsarbeit im Rahmen von Vorträgen sowie Messe- und Kongressauftritten verfügt die BiocatCollection in der Biotech-Szene über einen hohen Bekanntheitsgrad. Die Homepage verzeichnet konstante Besucherzahlen wobei die Anzahl der Seitenaufrufe noch hinter den Erwartungen zurückliegt und in Zukunft weiter ansteigen soll.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Entwicklung der BiocatCollection einen überaus positiven Verlauf zeigte. Im Kernbereich, nämlich dem Aufbau der Sammlung, haben die erzielten Ergebnisse deutlich den Soll erfüllt. Für die weitere erfolgreiche Entwicklung der BiocatCollection nach der Förderungsperiode sind die Weichen gut gestellt, so dass die Sammlung auch weiterhin bestehen bleibt.

## 7 Veröffentlichungen

- 1.) Ralf Grote, Stefanie Heiden und Garabed Antranikian (2003) *InnovationsCentrum Biokatalyse (ICBio)* - A DBU-funded initiative for the sustainable promotion of biocatalysis. Frühjahrstagung der VAAM 2003, Berlin.
- 2.) Ralf Grote und Garabed Antranikian (2003) *Verbund Biokatalyse und InnovationsCentrum Biokatalyse* - Biokatalysatoren im Dienste eines integrierten Umweltschutzes. In: *Transkript Sonderheft Nachhaltige Biokatalyse*, S. Heiden und R. Erb (Hrsg.), BIOCOM AG, Berlin, 6-11.
- 3.) Imagebroschüre in deutscher und englischer Sprache (inkl. Projektflyer)(2004)
- 4.) Rainer Erb, Ralf Grote und Garabed Antranikian (2005) *BiocatCollection* - "Haus der Biokatalyse" macht Enzymdiversität verfügbar, *BIOspektrum*, 5:2005, Seite 644.
- 5.) Ralf Grote, Ksenia Egorova, Volker Thiemann und Garabed Antranikian (2006) *The BiocatCollection - Making Enzymatic Diversity Available*, *Bioperspectives in Focus: From  $\mu$ l to m<sup>3</sup>*, conference proceedings.
- 6.) Ralf Grote, Ksenia Egorova, Volker Thiemann und Garabed Antranikian (2006) *The BiocatCollection - Making Enzymatic Diversity Available*. *biocat2006*, 3rd International Congress on Biocatalysis, 03.-07.09.2006, Hamburg, Book of Abstracts, Seite 192.
- 7.) Marina Royter, Christian Elend, Ralf Grote und Garabed Antranikian (2008) *The International Collection of Biocatalysts makes diversity available*. VAAM/GMB-Jahrestagung 2008, Frankfurt, Germany - In *BIOspektrum*, Tagungsband 2008: PC15, Seite 106.
- 8.) Christian Elend, Ralf Grote, Garabed Antranikian (2010) *Biokatalysatoren im Einsatz – Die BiocatCollection macht Enzymvielfalt verfügbar*. *GIT Labor-Fachzeitschrift* 2: 125-127.

## BIOKATALYSE

# Verbund Biokatalyse und InnovationsCentrum Biokatalyse - Biokatalysatoren im Dienste eines integrierten Umweltschutzes

► Dr. Ralf Grote und Prof. Dr. Dr. h.c. Garabed Antranikian, Technische Mikrobiologie, Technische Universität Hamburg-Harburg, Hamburg

Keywords: Verbund Biokatalyse, InnovationsCentrum Biokatalyse, ICBio, DBU.

Mit den Netzwerkprojekten „Verbund Biokatalyse“ und „InnovationsCentrum Biokatalyse“ hat die Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU) zwei wegweisende Förderprogramme initiiert, die deutschlandweit eine Vorreiterrolle bei der Erforschung und beim Einsatz biokatalytischer Verfahren im Sinne eines produkt- bzw. produktionsintegrierten Umweltschutzes eingenommen haben. Der Verbund Biokatalyse (Laufzeit: Mai 2000 bis Dezember 2003) hat mit insgesamt elf Projekten das Potenzial enzymatischer Verfahren zur umweltverträglichen Produktion von Feinchemikalien, Wirkstoffen und Textilien eindringlich unter Beweis gestellt. Rund 4,8 Mio. Euro (bei Gesamtkosten von rund 10,1 Mio. Euro) investierte die DBU in diesen Verbund, der von Professor Garabed Antranikian (Technische Universität Hamburg-Harburg) federführend koordiniert wird. Kernpunkt dieses Bündnisses für Biokatalyse ist die enge Zusammenarbeit von Partnern aus Hochschulen sowie kleinen und mittelständischen Unternehmen. Integraler Bestandteil des zukunftsweisenden Verbundes ist die ökologische und ökonomische Evaluation biokatalytischer Prozesse. Denn nur wo umweltfreundliche Verfahren auch wirtschaftlich sinnvoll sind, kann eine nachhaltige Entwicklung voranschreiten.

Die positiven Erfahrungen aus dem Verbund Biokatalyse und die Erkenntnis, dass Synergien und Kommunikation eine herausragende Rolle bei der Weiterentwicklung der Biokatalyse in Deutschland spielen, haben die DBU

im Juli 2002 darin bestärkt, die Initiative „InnovationsCentrum Biokatalyse – Eine Initiative der DBU zur Förderung der Nachhaltigen Biokatalyse“ - kurz: *ICBio* - ins Leben zu rufen. *ICBio* ist im Gegensatz zum Verbund Biokatalyse ein offenes Forschungskonsortium unter dessen Dach DBU-geförderte Projekte mit biokatalytischer Ausrichtung gebündelt werden. Zurzeit gehören *ICBio* 19 Projekte mit einer Gesamtfördersumme von rund 6,2 Mio. Euro an (bei Gesamtkosten von bisher rund 14,3 Mio.

Euro). Schwerpunkte von *ICBio*, das ebenfalls von Professor Antranikian koordiniert wird, bilden die strategisch wichtigen Forschungsfelder Screeningsysteme, Expression und Downstream-Processing/Produktaufbereitung mit dem Ziel der Gewinnung von Wirk- und Wertstoffen. Langfristig soll *ICBio* zu einer festen Institution werden und als zentrale Einrichtung den horizontalen und vertikalen Wissenstransfer sowie die Vernetzung zwischen Industrie und Hochschule fördern.

## Biotechnologie - Eine moderne Querschnittstechnologie

Die Biotechnologie gilt neben der Informations- und der Siliziumtechnologie als die dritte Megatechnologie des 21. Jahrhunderts. Das hohe Problemlösungspotenzial dieser Zukunftstechnologie liegt darin begründet, dass es sich um eine wirklich integrative Technologie handelt, die das Know-how von Biologen, Chemikern, Medizinern, Ingenieuren und Informatikern synergistisch bündelt und zusätzlich Erkenntnisse aus den Bereichen Ökonomie und Soziologie integriert. Es ist unstrittig, dass die Biotechnologie als interdisziplinäre und innovationsträchtige Querschnittswissenschaft alle Voraussetzungen erfüllt, um neue umweltschonende Prozesse und Produkte im Bereich Life Sciences zu erschließen [1]. Mit Hilfe der modernen Biotechnologie können nicht nur Optimierungen an bestehenden Verfahren vorgenommen werden, sondern auch völlig neuartige Prozesse und Produkte entwickelt werden. Einen zunehmend wichtigen Beitrag leisten hierbei Verfahren unter Einsatz von Biokatalysatoren.

## Biokatalysatoren - Enzyme und Ganzzellsysteme

Der Biokatalyse kommt eine bedeutende Rolle zu, wenn es darum geht, nachhaltige Prozesse unter Verwendung erneuerbarer Ressourcen zu verwirklichen. Oft werden Biokatalysatoren dabei mit Enzymen gleichgesetzt. Diese Definition ist aber häufig

Tab. 1: Überblick über wichtige industrielle Biokatalyseverfahren nach Syldatk et al. [4].

Maßstab und Enzym	Produkt	Firma
>1.000.000 t/a:		
Glucoseisomerase	Isosirup (Gluc/Frucl)	Verschiedene
>10.000 t/a:		
Nitrilhydratase Lipase ( <i>Mucor mihei</i> )	Acrylamid Kakaobutter	Nitto, DSM Fuji Oil Co., Unilever
>1.000 t/a:		
Penicillinamidase	6-APA	Verschiedene
Aspartase	L-Asp	Tanabe
Thermolysin	Aspartam	Tosoh, DSM
Hydantoinase/Carbamoylase	D-Phg	Verschiedene
Hydantoinase	D-Phg	Verschiedene
Aldonolactonase	D-Pantothenensäure	Fuji Chem. Ind.
Lipase	(S)-Methoxyisopropylamin	BASF
>100 t/a:		
Fumarase	L-Malat	Tanabe
Aminoacylase	L-Met, L-Val, L-Phe	Degussa, Tanabe
β-Tyrosinase	L-DOPA	Ajinomoto
Lipase ( <i>Pseudomonas</i> sp.)	(S)-Acylthioisobutyrat	DSM, Tanabe
Nitrilase	(R)-Mandelsäure	BASF
Lipase	Optisch aktive Amine	BASF
Lipase	Optisch aktive Alkohole	BASF
>10 t/a:		
Lipase	(R)-Glycidylbutyrat	DSM
Dehydratase	L-Carnitin	Lonza

zu kurz gefasst, denn auch Ganzzellsysteme können mit ihrer Vielzahl an zelleigenen Enzymen für biokatalytische Prozesse, wie beispielsweise Co-Faktor abhängige Reaktionen oder die fermentative Herstellung von Feinchemikalien, die ökonomisch sinnvollste Alternative darstellen (Stichwort Zellfabrik). Die natürliche Funktion von Enzymen ist es, Stoffwechselreaktionen zu ermöglichen, die unter physiologischen Bedingungen ohne Hilfe von Biokatalysatoren nicht oder nur sehr langsam ablaufen würden. Enzyme sind entsprechend ihrer physiologischen Funktion den klassischen Katalysatoren oft überlegen, da ihre hohe Spezifität beispielsweise dafür sorgt, dass katalysierte Reaktionen enantioselektiv ablaufen und zu hochreinen Produkten führen [2, 3].

Aufgrund ihrer Summe an positiven Eigenschaften wie Spezifität, Selektivität und Effektivität nehmen Biokatalysatoren in der modernen Biotechnologie eine herausragende Stellung ein. Für fast jede chemische Stoffumwandlung lässt sich ein geeignetes Enzym finden, welches potenziell in der Lage ist, einen klassischen chemisch-physikalischen Prozess durch den Einsatz eines biochemischen bzw. biotechnologischen Verfahrens zu optimieren oder in einigen Fällen sogar zu ersetzen. Enzyme gehören somit zu den wichtigsten Werkzeugen der Biotechnologie. Auch unter dem Aspekt der Arbeitssicherheit spielen Biokatalysatoren eine wichtige Rolle, da sie Prozesse bei atmosphärischem Druck und in unkritischen Lösungsmitteln (z.B. Wasser) katalysieren.

## Biokatalyse - Ein Markt mit Zukunft

Die Anwendung von Biokatalysatoren in biotechnologischen Produktionsverfahren führt vielfach zu einer besseren Ausnutzung von Rohstoffen, einer Minimierung von Schadstoffemissionen und einer Herabsetzung des Energieverbrauchs bei gleichzeitig verbesserter Produktqualität und -reinheit. Aufgrund dieser Vorteile wird der Einsatz von Enzymen in industriellen Prozessen, in denen zurzeit noch chemische oder physikalische Verfahren dominieren, weiter zunehmen.

Obwohl die Natur über eine Vielzahl von Biokatalysatoren verfügt (Schätzungen gehen von 7000 unterschiedlichen Enzymen aus von denen heute etwa 3000 bekannt sind), werden bislang nur wenige Enzyme in der

Tab. 2: Projektpartner im Verbund Biokatalyse.

Projekt	Partner	
<b>Verbundkoordination</b>	Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Dieter Sell	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg DECHEMA, Frankfurt/M.
<b>Ökologische und ökonomische Evaluation</b>	Prof. Dr. Elmar Heinzle Dr. Dieter Sell Prof. Dr. Klaus Bellmann	Technische Biochemie, Universität des Saarlandes DECHEMA, Frankfurt/M. Lehrstuhl für Allgemeine BWL und Produktionswirtschaft, Universität Mainz
<b>Mikrobielle Reduktion von Ketoverbindungen</b>	Prof. Dr. Christian Wandrey Prof. Dr. Dirk Weuster-Botz Dr. Thomas Daußmann Prof. Dr. Werner Hummel	Institut für Biotechnologie 2, Forschungszentrum Jülich Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, TU München Jülich Fine Chemicals GmbH, Jülich Institut für Enzymtechnologie, Universität Düsseldorf
<b>Biodehydrierung Pyruvat</b>	Prof. Dr. Hermann Sahn Dr. Robert Faurie	Institut für Biotechnologie 1, Forschungszentrum Jülich Amino GmbH, Frelstedt
<b>Kohlenhydratpharmaka</b>	Prof. Dr. Ulf Stahl Dipl.-Kfm. E. Weinmann	FG Mikrobiologie und Genetik, TU Berlin Versuchs- und Lehranstalt für Spiritusfabrikation und Fermentationstechnologie, Berlin
<b>Aminosäuren und Peptide</b>	Prof. Dr. Herbert Märkl	Bioprozess- und Bioverfahrenstechnik, TU Hamburg-Harburg
	Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Hans Friedmann	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg Friedmann & Scholz GbR, Hamburg
<b>Rekombinante Phospholipase</b>	Prof. Dr. Renate Ulbrich-Hofmann Birgit Rebmann	Institut für Biotechnologie, Universität Halle/Saale Lipoid GmbH, Ludwigshafen
<b>Hochwertige Kohlenhydrate</b>	Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Hans-Peter Klenk Prof. Dr. Roland Freudl Prof. Dr. Reinhard Sterner Prof. Dr. Wolfgang Liebl	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg e-gene Biotechnologie GmbH, Bernried Institut für Biotechnologie 1, Forschungszentrum Jülich Institut für Biochemie, Universität Köln Institut für Mikrobiologie und Genetik, Universität Göttingen
<b>Oxidative Enzyme</b>	Dr. Elisabeth Heine Rudi Breier Prof. Dr. Karl-Heinz van Pée Dr. Katrin Scheibner	Deutsches Wollforschungsinstitut a. d. RWTH Aachen e.V. Textilchemie Dr. Petry GmbH, Reutlingen Institut für Biochemie, TU Dresden JenaBios GmbH, Jena
<b>Enzymscreening</b>	Prof. Dr. Elmar Heinzle Prof. Dr. Otto Wolfbeis	Technische Biochemie, Universität des Saarlandes Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg
	Dr. T. Rübinger J. Maier Dr. Joachim José	BMG GmbH, Offenburg Microcoat, Bernried Medizinische und Pharmazeutische Chemie, Universität des Saarlandes
<b>DNA-Chips</b>	Prof. Dr. Jörg Müller	Arbeitsbereich Halbleitertechnologie, TU Hamburg-Harburg
	Dr. Volker Wendisch Prof. Dr. Garabed Antranikian Ralf Siebert/Uwe Lehmann	Institut für Biotechnologie 1, Forschungszentrum Jülich Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg SLS µ-Technology GbR, Hamburg

Synthese hochwertschöpfender Substanzen eingesetzt. So werden insgesamt erst 19 Enzyme in einem Maßstab von 10 bis 1.000.000 Tonnen pro Jahr in industriellen Biokatalyseverfahren genutzt (Tab. 1). Die jährlich durch Biokatalysatoren erzeugten Produkte haben einen Marktwert von rund 100 Mrd. US-\$, wovon etwa 6 Mrd. US-\$ auf die Sparte Feinchemikalien (chirale und nicht-chirale Chemikalien) entfallen. Unser Wissen über die Enzymausstattung von Mikroorganismen nimmt durch die über 51 abgeschlossenen und 208 zurzeit laufenden Genomprojekte rapide zu [5]. Die Menge an so gewonnenen genetischen Informationen ist immens: Auf hochgerechnet über 380.000 potenzielle Biokatalysatoren (259 durchsequenzierte Mikroorganismen

mit je 1.500 Proteinen) kann in naher Zukunft zurückgegriffen werden. Im Vergleich zu den bisher ca. 200 industriell genutzten Enzymen ergeben sich hierdurch ungeahnte Chancen.



Abb. 1: Logo des Verbundprojekts Biokatalyse.

## Biokatalysatoren im Dienste des integrierten Umweltschutzes

Der Einsatz von Biokatalysatoren in den Vorhaben des Verbundes Biokatalyse und von ICBio verfolgt ein gemeinsames Ziel: Umweltentlastung durch die Etablierung von innovativen biotechnologischen Verfahren und Produkten. Hierbei macht man sich zu Nutze, dass durch die intrinsischen Eigenschaften von Enzymen eine höhere Produktreinheit und -ausbeute erzielt werden kann und dies bei gleichzeitiger Reduzierung unerwünschter oder umweltrelevanter Neben- und Abfallprodukte. Im Sinne der Nachhaltigkeit ist die Abkehr von End-of-pipe Maßnahmen zur Beseitigung von Umweltschäden

Tab. 3: Derzeitige Projektpartner im InnovationsCentrum Biokatalyse ICBio (Stand: Mai 2003).

Projekt	Partner	
Dachprojekt	Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Ralf Grote	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg
Wirkstoffe aus extremophilen Mikroorganismen	Dr. Guido Meurer Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Arnulf Kletzin Dr. Stephanie Grond	BRAIN AG, Zwingenberg Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg Institut für Mikrobiologie und Genetik, TU Darmstadt Institut für Organische Chemie, Universität Göttingen
Identifizierung hochselektiver Wirkstoffe	Prof. Dr. Karl-Dieter Entian Dr. Helmut Blum Dr. Jörg Hauf Dr. M. Rimmel	Institut für Mikrobiologie, Universität Frankfurt/M. Phenion GmbH & Co. KG, Frankfurt/M. SRD GmbH, Oberursel RiNA GmbH, Berlin
Entwicklung von innovativen Mikrotiterplattenreaktoren	Prof. Dr. Elmar Heinzle Dr. Udo Bock Dr. Günter Müller Dr. Ruth Maas Dr. Gernot John	Technische Biochemie, Universität des Saarlandes Across Barriers GmbH, Saarbrücken Mikrocoat GmbH, Bernried Pharmacelsus GmbH, Saarbrücken PreSens GmbH, Regensburg
Entwicklung von Expressionssystemen und Analysetechnologien	Dr. Tibor Anderlei PD Dr. Werner Hummel	AC Biotech GmbH, Jülich Lehrstuhl für Enzymtechnologie, Universität Düsseldorf
Effiziente Expressionssysteme für die Produktion von Biokatalysatoren	Prof. Dr. Garabed Antranikian Prof. Dr. Roland Freudl Prof. Dr. Horst Chmiel Dr. Ralph Nonninger Dr. Thomas Schäfer	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg Institut für Biotechnologie I, FZ Jülich upt GmbH, Saarbrücken ItN GmbH, Saarbrücken Novozymes A/S, Dänemark
Aktivitätscharakterisierte Enzymbank für die Feinchemie	Prof. Dr. Uwe Bornscheuer  Dr. Patrick Lorenz Prof. Dr. Peter Langer  Dr. Christa Schleper	Institut für Technische Chemie und Biochemie, Universität Greifswald BRAIN AG, Zwingenberg Institut für Chemie und Biochemie, Universität Greifswald Institut für Mikrobiologie und Genetik, TU Darmstadt
Innovatives Downstream-processing von Pharmatargets	Prof. Dr. Thomas Scheper  Dr. Oskar Reif Dr. Alexander Tappe	Institut für Technische Chemie und Biochemie, Universität Hannover Sartorius AG, Göttingen Cell Culture Service GmbH, Hamburg
Einsatz von Magnettechnologie zur Bioproduktaufarbeitung	Dr. Matthias Franzreb Prof. Dr. Christoph Syldatk Dr. Lothar á Brassard Dr. Uwe Habich	Institut für Technische Chemie, FZ Karlsruhe Institut für Bioverfahrenstechnik, Universität Stuttgart chemagen AG, Baesweiler Steinert Elektromagnetbau GmbH, Köln
Stammentwicklung und Downstream-processing bei der Produktion von L-Serin	Dr. Petra Peters-Wendisch Dr. Albert deGraaf Dr. Robert Faurie	Institut für Biotechnologie I, FZ Jülich Metex GmbH, Jülich Amino GmbH, Frellstedt
Entwicklung von Parallelverfahren zur Etablierung biokatalytischer Prozesse	Prof. Dr. Dirk Weuster-Botz Dr. Klaus Kaufmann Dr. Gernot John Dr. Matthias Arnold	Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, TU München H+P Labortechnik AG, Oberschleißheim PreSens GmbH, Regensburg DASGIP AG, Jülich
Primärscreening von Mikroorganismen unter Fed-Batch-Bedingungen	Prof. Dr. Jochen Büchs Dr. Doris Klee  Dr. Tibor Anderlei	Institut für Bioverfahrenstechnik, RWTH Aachen Lehrstuhl für Textilchemie und Makromolekulare Chemie, RWTH Aachen AC Biotech GmbH, Jülich
Entwicklung eines Verfahrens zur prozessintegrierten Biokatalyse für Epoxidierungen	Prof. Dr. Horst Chmiel Dr. Andreas Schmid Dr. Bernhard Hauer Dr. Rudolf Krumbholz	upt GmbH, Saarbrücken ETH Zürich BASF AG, Ludwigshafen K.D.-Pharma GmbH

dringend geboten. Nur vorbeugende, produkt- bzw. produktionsintegrierte Maßnahmen unter Ausnutzung biotechnologischer Verfahren haben das Potenzial, ökologische und ökonomische Vorteile miteinander zu verbinden, und so dem Wirtschaftsstandort Deutschland entscheidende Impulse zu verleihen. Während große Chemie- und Pharmaunternehmen diese Chancen bereits erkannt und zu nutzen begonnen haben, bleiben kleine und mittelständische Unternehmen dagegen häufig aufgrund fehlender F&E-Aktivitäten von den Chancen der Biotechnologie ausgeschlossen. Hier sollen der Verbund Biokatalyse und das InnovationsCentrum Biokatalyse mit ihrem ausgeprägten Netzwerkgedanken entscheidend dazu beitragen, den Wissenstransfer zwischen Hochschule und Industrie zu fördern sowie innovative Verfahren und Produkte in eine industrielle Nutzung zu übertragen. Vergleichbar mit einem „Bündnis für die Biokatalyse“ soll die Leistungsfähigkeit der integrativen Querschnittsdisziplin Biotechnologie unter Beweis gestellt werden.

### Impulse für die Biokatalyse

Die Deutsche Bundesstiftung Umwelt hat das Problemlösungspotential des Einsatzes von Enzymen in biotechnologischen Prozessen und Produkten frühzeitig erkannt und fördert seit 1997 eine Vielzahl von Forschungsvorhaben im Rahmen des Programms „Integrierte Biotechnologie“. Das im Mai 2000 gestartete Verbundprojekt Biokatalyse bündelt Kompetenzen, um das Potenzial der Biokatalyse in den Bereichen Feinchemikalien, Wirkstoffe, Textilien und Methoden unter Beweis zu stellen.

### Verbund Biokatalyse - Wegbereiter für innovative Biotechnologie

Der Verbund Biokatalyse umfasst bundesweit 11 Projekte an denen über 50 Wissenschaftler und 9 Firmen aus dem Bereich kleiner und mittelständischer Unternehmen (KMU) beteiligt sind (Tab. 2). Als Schwerpunkte des Verbundvorhabens wurden die Themenbereiche Feinchemikalien, Wirkstoffe, Textilien und Methoden definiert, da hier ein großes Potenzial zur Demonstration der Leistungsfähigkeit biokatalytischer Verfahren gesehen wurde.

## Umweltgerechte Produktion von Feinchemikalien, Wirkstoffen und Textilien

Die Themenbereiche „Feinchemikalien“ und „Wirkstoffe“ nehmen mit sechs Projekten einen großen Raum innerhalb des Verbunds ein. Feinchemikalien und pharmakologische Wirkstoffe müssen hinsichtlich ihrer Reinheit besonders hohen Qualitätsansprüchen genügen. Im Gegensatz zu so genannten Bulk-Chemikalien werden sie in relativ geringen Mengen hergestellt und haben eine hohe Wertschöpfung. Die industrielle Nutzung von Biokatalysatoren hat in diesem Bereich ein großes Potenzial, da beispielsweise enantiomerenreine Produkte mit weniger Syntheseschritten und einfacherer Aufarbeitung hergestellt werden können. Die Produktion von Feinchemikalien ist außerdem ein klassisches Betätigungsfeld kleiner und mittelständischer Unternehmen, die in der Lage sind, flexibel auf kleine Nischenmärkte zu reagieren. Hier bietet die Kooperation im Verbundprojekt Biokatalysatoren gerade solchen Unternehmen neue Chancen, die in Ermangelung eigener F&E-Aktivitäten bisher keine biotechnologischen Verfahren entwickeln konnten.

In der Textilproduktion sind viele Prozesse (Stoffveredelung, Färben) durch einen hohen Energieverbrauch und eine häufig signifikante Gewässerbelastung gekennzeichnet, und zwar unabhängig davon, ob es sich um die Herstellung und Verarbeitung von Kunst- oder Naturfasern (Baumwolle, Wolle, Seide) handelt. Hier werden im Verbund Biokatalyse neue Verfahren entwickelt, die diesen ökologischen Problemen wirkungsvoll begegnen, beispielsweise durch den Einsatz von Oxidasen/Peroxidasen zur enzymatischen Rohstoffbehandlung von Wolle und Baumwolle.

## Methodenentwicklung - DNA-Chips und Screeningstrategien

Der Methodenentwicklung und -pflege widmen sich im Verbund Biokatalyse zwei Projekte. Zum einen steht die Etablierung und Optimierung der DNA-Chiptechnologie für den Bereich Diagnostik und Analyse im Vordergrund. Zum anderen werden neuartige Mikroreaktoren mit pH- und Sauerstoffsensoren entwickelt, die ein effizientes Enzymscreening ermöglichen sollen. Beide Methoden werden der

Tab. 3: Fortsetzung.

Projekt	Partner	
Einsatz von Amidasen zur enantioselektiven Synthese von Amino- und Carbonsäuren	Prof. Dr. Garabed Antranikian Dr. Shukrallah Na'amnieh	Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg X-Zyme GmbH, Düsseldorf
Enzymatische Herstellung von Oligosacchariden	Prof. Dr. Klaus Buchholz Dr. Shukrallah Na'amnieh	Technische Chemie, TU Braunschweig X-Zyme GmbH, Düsseldorf
Enzymatische Altfettalkoholyse	Dr. Gerd Kley Dipl.-Chem. Gerhard Grothe Dr. Ralf Bock  Franziska Reh Dr. Rüdiger Freitag	Bundesanstalt für Materialforschung, Berlin Greibo Chemie GmbH, Velten Institut für Werkzeugmaschinen und Fertigungstechnik, TU Braunschweig Volkswagen AG, Wolfsburg Castrol Industrie GmbH, Mönchengladbach
Wiederverwertung kautschukhaltiger Reststoffe	Prof. Dr. Alexander Steinbüchel Dr. Udo Hölker	Institut für Mikrobiologie, Universität Münster Höfer Bioreakt GmbH, Bonn
Glyoxylat-Produktion	Prof. Dr. Michael Bott Dr. Thomas Schwarz	Institut für Biotechnologie I, FZ Jülich bitop GmbH, Witten
Pflanzliche Bioreaktoren zur Pharmaproduktion	PD Dr. Michael Kleine Prof. Dr. Jens-Michael Schröder	Planton GmbH, Kiel Universitätsklinik, Kiel
Synthese chiraler 2-Oxazolidinone	Dr. Martin Bertau Dr. Thomas Daußmann	Institut für Biochemie, TU Dresden Jülich Fine Chemicals GmbH, Jülich

Biotechnologie entscheidende Impulse verleihen. So können beispielsweise unterschiedliche Screeningprogramme schnell und kostengünstig durchgeführt werden und biotechnologische Potenziale früher bewertet werden. Die Integration dieser methodischen Forschungsfelder in den Verbund Biokatalyse spielt darüber hinaus auch für die Vernetzung der Projekte untereinander eine wichtige Rolle, da beide Methoden für verbundübergreifende Fragestellungen zur Verfügung gestellt werden können.



Abb. 2: Logo des InnovationsCentrum Biokatalyse

## Ökologische und ökonomische Evaluation

Integraler Bestandteil des Verbundvorhabens ist das Projekt „Ökonomische und ökologische Evaluation“. Dieses übergreifende Vorhaben hat bei vier ausgewählten Projekten des Verbunds eine ökonomische und ökologische Evaluation biokatalytischer Prozesse während der Entwicklung durchgeführt. Es hat sich herausgestellt, dass in sehr frühen Phasen eines Projekts die wesentlichen Weichenstellungen

erfolgen. Daher ist es bei der Entwicklung neuer Verfahren von großer Bedeutung, dass die Realisierungschancen schon frühzeitig beurteilt werden. Die Umsetzung biokatalytischer Verfahren scheitert oft trotz zu erwartender ökonomischer und ökologischer Vorteile, da die Entwicklungschancen als zu ungewiss eingestuft werden. Um diesem Dilemma zu begegnen, wurden im Rahmen des Themenschwerpunktes „Evaluation“ Methoden zur Beurteilung der Nachhaltigkeit auf Basis ökonomischer und ökologischer Parameter unter Einbeziehung umfassender Stoff- und Energiebilanzen (Ökobilanzierung) weiterentwickelt. Die Software-gestützten Methoden haben, wie alle Projekte des Verbundvorhabens, Beispielcharakter und können auf die Evaluierung neuer biotechnologischer Verfahren übertragen werden.

Die Ergebnisse der am Verbund Biokatalyse beteiligten Projekte werden in den nachfolgenden Artikeln dieser Sonderveröffentlichung detailliert beschrieben.

## Koordination des Verbundprojekts

Die Kooperation innerhalb des Verbunds wird durch ein Koordinationsprojekt unter der Leitung von Professor Garabed Antranikian (Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg) abgestimmt. Zusammen mit

dem stellvertretenden Koordinator Dr. Dieter Sell (DEHEMA e.V.) und dem Leiter des Koordinationsbüros Dr. Ralf Grote (TU Hamburg-Harburg) sorgt der Koordinator für die Förderung von Synergieeffekten und eine intensive Kommunikation zwischen den Projektgruppen. Die Verbundkoordination betreut auch die administrative und kaufmännische Abwicklung des Gesamtverbunds. Ein wichtiges Werkzeug, verbundübergreifende Aufgabenstellungen effizient bearbeiten zu können, sind die sogenannten Taskforcegruppen. Im Verbund Biokatalyse existieren zurzeit vier Taskforcegruppen zu den Themenbereichen „Methoden“, „Kommunikation“, „Projektmanagement“ und „Evaluation“. Ziel ist es, den Gesamtverbund flexibel zu gestalten und jederzeit einen Zugriff auf die Resultate der einzelnen Partner zu ermöglichen. Hierbei wird besonderer Wert darauf gelegt, einzelne Problemstellungen nicht unabhängig voneinander zu bearbeiten, sondern die Arbeiten aufeinander abzustimmen, um Duplikationen zu vermeiden. Wichtige Aufgaben des Koordinators sind außerdem die Außenpräsentation des Verbundvorhabens, die Organisation von Statusseminaren und internationalen Kongressen sowie die allgemeine Öffentlichkeitsarbeit, wie beispielsweise auf Fachmessen wie der BIOTECHNICA in Hannover. Unter der Adresse <http://www.biokatalyse.de> ist der In-

ternetauftritt des Verbunds Biokatalyse zu erreichen, der eine wichtige interne und externe Kommunikationsplattform darstellt.

### InnovationsCentrum Biokatalyse

Wie auch am Beispiel des Verbunds Biokatalyse deutlich geworden ist, haben die immensen Forschungsaktivitäten in den vergangenen Jahren unser Wissen über das Vorkommen und die Funktionsweise von Enzymen rasch anwachsen lassen. Enzymmechanismen und Struktur-Funktions-Beziehungen wurden an Proteinen aus verschiedensten Quellen (Bakterien, Archaeen, Hefen, höhere Organismen) vergleichend untersucht. Biokatalysatoren aus extremophilen Mikroorganismen ermöglichen beispielsweise den Einsatz von Enzymen in industriellen Prozessen, auch unter harschen Bedingungen, bei denen konventionelle Proteine vollständig denaturieren würden [6]. Dennoch haben vergleichsweise wenig enzymatische Prozesse und Verfahren den Weg in eine intensive kommerzielle Nutzung gefunden. Nur rund 2,5% aller bekannten Enzyme werden zurzeit industriell genutzt [7]. Zu einer nachhaltigen Entwicklung gehört aber gerade die Umsetzung wissenschaftlicher Ergebnisse zu innovativen Verfahren und Produkten, welche zur Lösung der globalen Herausforderungen beitragen können. Dieses wurde öffentlich im Rahmen des 21. Osnabrücker Umweltgesprächs „Nachhaltige Biokatalyse“ am 9. Dezember 2002 diskutiert, wo auch *ICBio* als Initiative der DBU zur Förderung nachhaltiger Biokatalyse erstmals vorgestellt wurde.

Ausgehend von den positiven Erfahrungen im Verbund Biokatalyse, soll versucht werden, durch *ICBio* dauerhafte Strukturen zu schaffen, um biokatalytische Verfahren in Deutschland nachhaltig zu stärken. Das InnovationsCentrum Biokatalyse soll als „Virtuelles Haus der Biokatalyse“ einen wichtigen Schritt in diese Richtung gehen. In einem flexiblen Zusammenschluss innovativer Projekte mit einer klaren Koordinationsstruktur werden die drei strategisch wichtigen Themenschwerpunkte Screeningsysteme, Expression und Downstream-Processing/Produktaufbereitung mit dem Ziel der Gewinnung von Wirk- und Wertstoffen intensiv bearbeitet. In Kooperation mit Industrie und Hochschule sollen Flaschenhälse eliminiert werden, die den Einsatz von Biokatalysatoren blockieren.

### Gewinnung von Wirk- und Wertstoffen

Ziel jeden biotechnologischen Fortschritts sind innovative Verfahren und Produkte. Die Gewinnung von vermarktbareren Wertstoffen aus Abfall- und Reststoffen stellt eine ökologische und ökonomische Herausforderung dar. Die Kombination von Abfallentsorgung und gleichzeitiger Wertstoffgewinnung ist mit biotechnologischen Verfahren und unter Verwendung von Biokatalysatoren möglich. Den Anforderungen von Abfallwirtschafts- und Abfallkreislaufgesetz wird hierbei in besonderem Maße Rechnung getragen. Von besonderem Interesse ist aber auch die Umsetzung nachwachsender Rohstoffe wie Stärke, Cellulose und Hemicellulose zu hochwertig-schöpfenden Produkten. Neuartige Produktionsverfahren unter Einsatz lebender Zellen als so genannte „Zellfabriken“ ermöglichen darüber hinaus die ressourcenschonende Herstellung von Wert- und Wirkstoffen jenseits von konventionellen Produktionsanlagen. Ein Demonstrationsprojekt mit diesem Schwerpunkt ist beispielsweise die Produktion von Biopharmazeutika in Pflanzen (Biofarming) oder die fermentative Herstellung von Aminosäuren.

### Ein Centre of Excellence der Biokatalyse

Das InnovationsCentrum Biokatalyse als ein Centre of Excellence auf dem Gebiet der Biokatalyse wird durch ein in Hamburg ansässiges Koordinationsbüro mit ausgeprägtem Dienstleistungscharakter unter der Leitung von Professor Antranikian koordiniert. Zu den vornehmlichen Aufgaben gehören hierbei:

- Aufbau einer Kommunikations- und Kompetenzplattform für den Wissenstransfer zwischen Hochschulen und Industrie.
- Erhöhung der Durchlässigkeit zwischen Hochschule und Industrie.
- Organisatorische und wissenschaftliche Abwicklung von Projektvorhaben zwischen Hochschulen und Industriepartnern.
- Erarbeiten von Lösungsansätzen für Probleme der deutschen Biotech-Industrie durch Koordination internationaler Projektkooperationen.
- Sicherstellung eines horizontalen Know-how Transfers durch Austausch von Doktoranden, Wissenschaftlern und Managern.
- Aus- und Weiterbildung von Fachkräften.

– Entwicklung eines Konzepts zum Aufbau einer Internationalen Sammlung von Biokatalysatoren.

– Organisation und Durchführung von nationalen und internationalen Tagungen und Kongressen.

– Organisatorische und logistische Unterstützung von Antragstellern.

Unter dem Dach der Initiative InnovationsCentrum Biokatalyse werden zurzeit 19 Projekte durch die DBU gefördert, die in drei Themenschwerpunkten angesiedelt sind (Tab. 3).

### Intelligente Screeningsysteme

Ziele dieses Schwerpunkts sind Entwicklung, Optimierung und Einsatz innovativer Screeningverfahren in der Biotechnologie. Die im Rahmen dieses Schwerpunkts bearbeiteten Projekte lassen die Identifizierung neuartiger und innovativer Zellkomponenten für eine breite Anwendung in biotechnologischen und pharmakologischen Anwendungsgebieten erwarten. Durch die Einbeziehung neuer Organismenklassen, beispielsweise extremophiler Mikroorganismen, sowie durch den Einsatz modernster Screeningtechnologien (Aktivitätsprofilierung, PCR-Typisierung, Mikrotiterplattenreaktoren, TOP-DS, TOP-HS) haben die Vorhaben einen besonders innovativen Charakter. Durch die Identifizierung neuartiger Leitstrukturen können die Grundlagen zur Entwicklung innovativer Wirkstoffgruppen geschaffen werden.

### Effiziente Expression

Die Anwendung von Biokatalysatoren in biotechnologischen Produktionsverfahren scheidet vielfach noch daran, dass die benötigten Enzyme nicht in ausreichender Menge aus den Wildtypstämmen isoliert werden können. Es ist daher von besonderer Relevanz, effiziente Expressionssysteme in mesophilen Wirtsorganismen zu optimieren und einzusetzen, um so die natürlichen Quellen von Biokatalysatoren für Umwelt und Gesellschaft zu nutzen. In den Vorhaben dieses Themenschwerpunkts werden daher innovative Expressionssysteme auch in Grampositiven Mikroorganismen (*Bacillus*, *Staphylococcus*) und in Hefen intensiv erforscht.

### Downstream-Processing

Das Downstream-Processing spielt in biotechnologischen Produktionsverfahren eine entscheidende Rolle. Die

katalytische Umsetzung mittels immobilisierter Enzyme bzw. die Aufreinigung von Bioprodukten erfordert typischerweise feststofffreie Lösungen, die sich innerhalb von Festbett- und Membranreaktoren oder Chromatographiesäulen einsetzen lassen. Die zum Erreichen eines feststofffreien Zustands eingesetzten Techniken, wie Fällung, Zentrifugation oder Mikrofiltration, machen oft ein kompliziertes vielstufiges Downstream-Processing erforderlich, das oftmals mit einem erheblichen Chemikalien- und Energieaufwand sowie einem Produktverlust verbunden ist. Strategien zur Vereinfachung von Downstream-Prozessen, beispielsweise durch Einsatz innovativer Trenn- oder Membrantechnologien, werden in diesem Themenschwerpunkt untersucht, um die Konkurrenzfähigkeit biotechnologischer Produktionsverfahren zu erhöhen.

### ICBio-Koordination

Da es sich bei *ICBio* um ein offenes Forschungsnetzwerk handelt, können die zurzeit bewilligten Projekte durch weitere Vorhaben in den oben genannten Themenschwerpunkten ergänzt werden. Übergeordnetes Ziel ist es, das herausragende Potenzial biokatalytischer Verfahren und Produkte unter einem Dach zu bündeln, um hierdurch nachhaltig innovative Strukturen und Vernetzungen zu schaffen.

Die durch das *ICBio* Management als Serviceleistung generierten Dienstleistungen finanzieren sich aus DBU-Fördermitteln, die von den beteiligten Partnern in Form von Unteraufträgen an *ICBio* weitergeleitet werden. Schwerpunkte der Aktivitäten des *ICBio* Managements sind: Kommunikation, Öffentlichkeitsarbeit und Wissenstransfer.

Um Synergieeffekte zu generieren ist eine intensive Kommunikationskultur von zentraler Bedeutung. Das *ICBio* Management ist als ständig präsenter Ansprechpartner sowohl für die Sicherstellung der internen Kommunikation zwischen den Projektpartnern als auch für die externe Kommunikation mit Interessensgruppen und der breiten Öffentlichkeit verantwortlich. Neben dem Aufbau eines Internetportals unter der Adresse [www.icbio.de](http://www.icbio.de) gehören hierzu Veröffentlichung in Form von Broschüren, Beiträgen in Sonderpublikationen sowie in fach- und populärwissenschaftlichen Zeitschriften. Um den Wissenstransfer jenseits von Großveranstaltungen wie Messen und Kongressen zu fördern, fungiert das *ICBio* Manage-

ment als Vermittlungsstelle zwischen Know-how-Gebern und -Nehmern. Im Bereich Weiterbildung bietet *ICBio* für seine Projektpartner kostenlose Seminare an. So wurde beispielsweise im Mai 2003 eine Seminarreihe zum Thema Projektmanagement gestartet, die im September 2003 weitergeführt wird.

### ICBio Taskforcegruppen

Wie die Erfahrungen im Verbund Biokatalyse gezeigt haben, sind Taskforcegruppen ein wichtiges Instrument zur Verzahnung der Projekte. Die Taskforcegruppen bearbeiten definierte, erst während der Projektlaufzeit entstandene Probleme und bieten übergreifende Lösungen an. So können die *ICBio*-Projekte flexibel an aktuelle Fragestellungen angepasst werden.

**Taskforcegruppe „Methoden“:** Diese Taskforcegruppe soll die im Rahmen von *ICBio* angewandten Methoden evaluieren, katalogisieren und allen interessierten Projektpartnern zugänglich machen. Hierdurch soll gewährleistet werden, dass die im *ICBio* vorhandene Methodenvielfalt allen beteiligten Partnern zur Verfügung steht und gegebenenfalls für eigene Arbeiten genutzt werden kann.

**Taskforcegruppe „Projektmanagement“:** Die Aufgabe der Taskforcegruppe „Projektmanagement“ besteht darin, einheitliche Strukturen des Projektmanagements und Projektcontrolling zu erarbeiten und allen *ICBio*-Partnern zur Verfügung zu stellen. Ziel ist die Etablierung eines EDV-gestützten Systems zur Sicherstellung eines effizienten Projektmanagements bei Industrie- und Hochschulpartnern.

**Taskforcegruppe „Evaluation“:** Die Taskforcegruppe „Evaluation“ soll

Kriterien zur Verfügung stellen, welche die wesentlichen betriebswirtschaftlichen (Marktanalyse, Erlös- und Kostenanalyse, ökonomische Umfeldanalyse) und ökologischen Parameter (Inputanalyse, Outputanalyse, ökologische Umfeldanalyse) ausgewählter Projekte erfasst. Ziel ist es, schon in frühen Phasen der Entwicklung eine Abschätzung der Konkurrenzfähigkeit der neuentwickelten Verfahren und Produkte zu ermöglichen.

### Organisation von Kongressen, Messeauftritten und Statusseminaren

Das *ICBio* Koordinationsbüro veranstaltet Meetings und Kongresse mit dem Schwerpunkt Biokatalyse. Insbesondere soll der International Congress on Biocatalysis (biocat), der im Juli 2002 erstmals in Hamburg stattgefunden hat, als eine feste Plattform der in *ICBio* vernetzten Projekte auf internationaler Ebene etabliert werden (weitere Informationen: <http://www.biocatalysis.de>). Darüber hinaus werden die in *ICBio* vertretenen Projekte auf wichtigen Messen (z.B. Biotechnica) öffentlichkeitswirksam präsentiert. Die Förderung eines intensiven Erfahrungsaustausches zwischen den Projekten wird durch regelmäßig stattfindende Statusseminare sichergestellt.

### Verbund Biokatalyse und ICBio - Life Science auf hohem Niveau

Rund 90% aller Chemieprodukte durchlaufen bei ihrer Herstellung ein katalytisches Verfahren, oft unter Einsatz umweltgefährdender Katalysato-

ren. Es ist unzweifelhaft, dass Biokatalysatoren aus den verschiedensten (Mikro-)Organismen in Zukunft die selektivere und spezifischere Alternative darstellen werden. Gerade im Bereich der pharmazeutischen Industrie und der Sparte Fein- und Spezialchemikalien mit ihren hohen Anforderungen an Produktreinheit und -qualität wird die Biokatalyse eine herausragende Rolle spielen. Einer Studie von Frost & Sullivan (2001) [8] zufolge wird der Marktwert für Chiraltechnologie von 6,6 Mrd. US-\$ im Jahr 2000 auf 16 Mrd. US-\$ im Jahr 2007 anwachsen. Die Biokatalyse wird hierbei eine zunehmend wichtige Ergänzung zur asymmetrischen Synthese darstellen und dem Bereich Life Sciences entscheidende Impulse verleihen. Die Projekte im Verbund Biokatalyse und in *ICBio* sind durch ihre thematische Ausrichtung optimal in der Zukunftstechnologie Biokatalyse positioniert. Die in beiden Forschungsnetzwerken bearbeiteten Projekte werden dazu beitragen, die moderne Biotechnologie um wichtige biokatalytische Verfahren und Produkte zu bereichern. Gleichzeitig wird dem Gedanken der Nachhaltigkeit Rechnung zu tragen, indem sichergestellt wird, dass durch Biokatalyse Umweltschutz und Wettbewerbsfähigkeit in Einklang gebracht werden.

### Literatur

- [1] OECD – Organisation for Economic Co-Operation and Development (Hrsg.): *Biotechnology for Clean Industrial Products and Processes – Towards Industrial Sustainability*. Paris, 1998.
- [2] Bornscheuer, U.T., Kazlauskas, R.J. (1999). *Hydrolases in Organic Synthesis*

*Regio- and Stereoselective Bio-transformations*, Wiley-VCH, Weinheim.

- [3] Schoemaker, H.E., Mink, D., Wubolts, M.G., *Science* 299 (2003), 1694-1697.
- [4] Sylđatk, C., Hauer, B., May, O., *BIOspektrum* 2 (2001), 145-147.
- [5] Antranikian, G., Klenk, H.-P., Freudl, R., Sterner, R., Liebl, W. (2001). In: *BIOspektrum Sonderband Biokatalyse*, S. Heiden, R. Erb (Hrsg.), Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 44-48.
- [6] Grote, R., Bertoldo, C., Antranikian, G. (2001). In: *Biotechnologie als interdisziplinäre Herausforderung*, S. Heiden, C. Buschel, R. Erb (Hrsg.), Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 294-331.
- [7] Sahm, H., Freudl, R., Sprenger, G. (1999). In: Heiden, S., Bock, C., Antranikian, G. (Hrsg.). *Industrielle Nutzung von Biokatalysatoren - Ein Beitrag zur Nachhaltigkeit*. 15. Osnabrücker Umweltgespräche. Initiativen zum Umweltschutz, Band 14, Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- [8] Frost & Sullivan (2001). *An Assessment Of The Global Chiral Technology Market (Report 3835)*, New York.

### Korrespondenzadresse

**Dr. Ralf Grote**  
 Koordinationsbüro Verbund  
 Biokatalyse und ICBio  
 TU Hamburg-Harburg  
 Technische Mikrobiologie  
 Kasernenstraße 12  
 D-21073 Hamburg  
 Tel.: 040-42878 3336  
 Fax: 040-42878 2729  
 eMail: [grote@tuhh.de](mailto:grote@tuhh.de)  
 Web: [www.biokatalyse.de](http://www.biokatalyse.de),  
[www.icbio.de](http://www.icbio.de)

Besuchen Sie unsere Homepage

**[www.dbu.de](http://www.dbu.de)**

Dort finden Sie weitere  
 Biotechnologie-Projekte in  
 unserer Projektdatenbank  
 ([www.dbu.de/db/](http://www.dbu.de/db/))



## BiocatCollection

### „Haus der Biokatalyse“ macht Enzymdiversität verfügbar

Dr. Rainer Erb<sup>1</sup>, Dr. Ralf Grote<sup>2</sup>,

Prof. Dr. Dr. h. c. Garabed Antranikian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zentrum für Umweltkommunikation der Deutschen Bundesstiftung Umwelt gGmbH, Osnabrück

<sup>2</sup>Technische Universität Hamburg-Harburg, Technische Mikrobiologie



Abb. 1: Das Prinzip der BiocatCollection im Überblick.



Abb. 2: Im Labor der BiocatCollection werden die eingehenden und gelagerten Enzymproben einer regelmäßigen Qualitätskontrolle unterzogen.

In Hochschulen, Instituten und Forschungseinrichtungen lagert ein Enzymschatz, den es für die Entwicklung nachhaltiger Produkte und Prozesse zu nutzen gilt. Im Rahmen der DBU-Initiative InnovationsCentrum Biokatalyse ICBio wird diese enzymatische Vielfalt durch den Aufbau einer internationalen Sammlung von Biokatalysatoren, der BiocatCollection, archiviert, dokumentiert und interessierten Nutzern aus Industrie und Hochschulen zur Verfügung gestellt. Die BiocatCollection nimmt dabei eine Schnittstellenfunktion zwischen Enzymanbietern und Enzymnutzern ein, die im Sinne eines Maklers zusammengeführt werden, um bestehende Innovationshemmnisse abzubauen. Die BiocatCollection wird mit einer internetbasierten Enzymdatenbank und einem umfassenden Angebot von Enzymen und Enzym-Kits der Partner für alle Fragen und Projekte zur Biokatalyse, zur Kontakt- und Kommunikationsbörse sowie zur Quelle von Enzymen und enzymbasierten Verfahrensentwicklungen.

► Wer kennt das Szenario nicht? Der Doktorand beendet seine Arbeit und verlässt das Labor. Mehrere neue Enzyme hat er gefunden, eines davon charakterisiert und die Ergebnisse publiziert. Nach seinem Weggang hinterlässt er eine ganze Reihe Enzymextrakte, die in der Regel in geringsten Mengen, teilweise aufgereinigt und partiell charakterisiert in den Gefriertruhen der Arbeitsgruppe zurück bleiben.

Diese Hinterlassenschaft ist ein Schatz! Denn auch wenn die Enzyme lediglich in geringsten Mengen und unvollständig beschrieben vorliegen, so stellen sie für einen Kollegen möglicherweise die Lösung seines Problems dar; nur weiß der nichts davon. Die Idee, diesen Enzymschatz, der in Hochschulen, Instituten und Forschungseinrichtungen lagert, zu heben und für die Entwicklung nachhaltiger Produkte und Prozesse zu nutzen, war die Geburtsidee der BiocatCollection.

Dabei stand der Gedanke Pate, Innovationstransfer über eine gemeinnützige, im Sinn eines „ehrlichen Maklers“ als Multiplikator agierende Organisation unter Nutzung etablierter Strukturen anzustoßen. Von diesem Angebot werden Nutzer sowohl aus Hochschulen wie auch der Industrie profitieren. In besonderem Maße sind dies kleine und mittlere Unternehmen, die bevorzugte Klientel der DBU, denen auf diese Weise ein Zugang auch zu bisher nicht oder nur begrenzt zugänglichen Enzymen geboten wird.

Ein wesentlicher Erfolgsfaktor der BiocatCollection ist daher die Glaubwürdigkeit als kompetenter und vertrauenswürdiger Partner sowie die Neutralität sowohl gegenüber Enzymzulieferern als auch -abnehmern. Die BiocatCollection hat deshalb die Rechtsform einer Non-Profit-Organisation, die als eigenständiger Geschäftsbereich der TuTech Innovation GmbH, der Wissens-,



Abb. 3: Die BiocatCollection produziert Biokatalysatoren in eigenen Fermentern bis zum 300-Liter-Maßstab.

Technologie- und Innovationstransfergesellschaft der Hamburger Hochschulen, geführt wird.

#### Korrespondenzadresse:

Zentrum für Umweltkommunikation  
der Deutschen Bundesstiftung Umwelt gGmbH  
Dr. Rainer Erb  
An der Bornau 2  
D-49090 Osnabrück  
Tel.: 0541-9633 950  
Fax: 0541-9633 990  
r.erb@dbu.de

# Biokatalysatoren im Einsatz

Die BiocatCollection macht Enzymvielfalt verfügbar



► Dr. Christian Elend,  
Leiter F&E, BiocatCollection



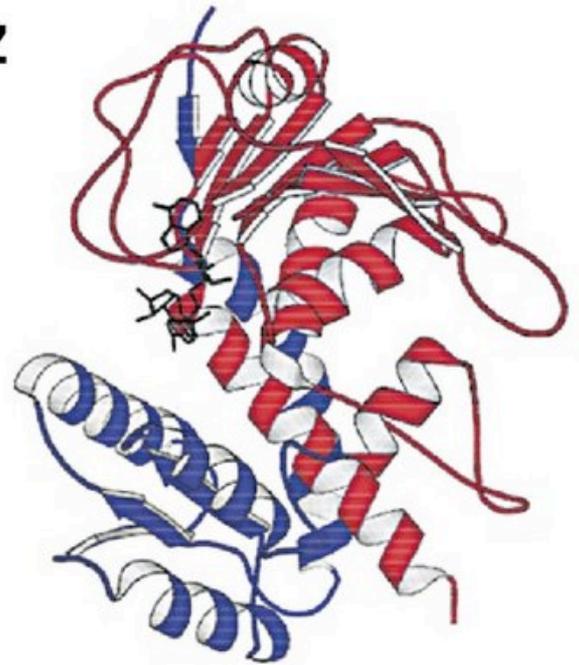
► Dr. Ralf Grote,  
COO, BiocatCollection



► Prof. Dr. Dr. h.c. Garabed Antranikian,  
wissenschaftlicher Direktor, BiocatCollection

## Enzyme in der Weißen Biotechnologie

Enzyme haben sich sowohl in der heutigen Bioindustrie als auch im alltäglichen Leben einen festen Platz erarbeitet. Auch in der chemischen Industrie spielen sie als Ersatz für traditionelle Katalysatoren (Schwermetalle) eine wichtige Rolle [1]. Dennoch bestehen nach wie vor Vorbehalte gegen den innovativen Einsatz von Enzymen in Produktionsprozessen. Die Verfügbarkeit neuer Biokatalysatoren stellt meist den zeitbe-



Die BiocatCollection ist ein DBU-gefördertes Projekt, welches sich zum Ziel gesetzt hat, die in den Gefrierschränken der Hochschulen ungenutzt lagernde Enzymvielfalt einem breiten Nutzerkreis zugänglich zu machen. Die derzeit etwa 300 Enzyme umfassende Sammlung bietet bereits jetzt einzigartige kommerziell nicht erhältliche Enzyme an. Als Dienstleister rund um biokatalytische Fragestellungen soll sie in Zukunft eine zentrale Anlaufstelle für die Suche nach neuen Enzymen werden.



Abb. 1: Das Vermittlungsprinzip der BiocatCollection

stimmenden Schritt bei der Entwicklung neuer Produkte und Produktionsverfahren dar, die Suche nach neuartigen Enzymen für aktuell gewünschte Reaktionen kann Monate oder gar Jahre dauern. Zudem ist die Auswahl am Markt zugänglicher Enzyme häufig sehr eingeschränkt. An dieser Stelle bietet die BiocatCollection schnelle Hilfe, indem sie als eine zentrale Anlaufstelle eine Vielzahl an Enzymen anbietet, von denen viele in der Regel kommerziell nicht erhältlich sind.

Auch wenn in der Fachliteratur bislang eine enorme Zahl an biotechnologisch relevanten Enzymen beschrieben ist, existiert bislang keine zentrale Anlaufstelle oder gar eine Hinterlegungspflicht für Biokatalysatoren nach dem Vorbild von Stammsammlungen für Mikroorganismen und Zellkulturen.

Die Geburtsidee lag nun darin, einen Großteil dieser wertvollen

Enzymvielfalt schnell und zentral verfügbar zu machen. Insbesondere an Universitäten lagern viele gut charakterisierte Enzyme, welche häufig nach Abschluss einer Doktorarbeit in der Gefriertruhe in Vergessenheit geraten. An anderer Stelle können aber genau diese Enzyme der Schlüssel zur Lösung biokatalytischer Fragestellungen sein.

Zudem sind Enzyme neben ihren „eigentlichen“ Aufgaben häufig in der Lage, Nebenreaktionen zu katalysieren und somit unverhofft eine Alternative für neuartige Reaktionen sein (Enzympromiskuität). So haben sich in der Vergangenheit beispielsweise einige Lipasen für die Knüpfung von C-C-Bindungen als geeignet erwiesen [2]. Ziel und Aufgabe ist es hierbei, eine möglichst hohe Anzahl von Enzymen zu sammeln, zu dokumentieren und als zentrale Anlaufstelle der interessierten For-

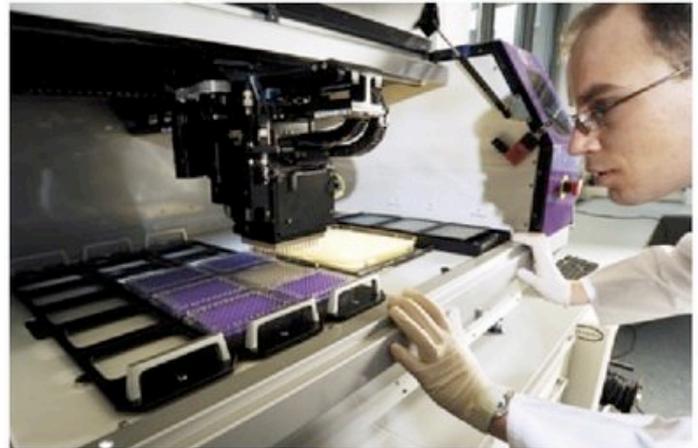


Abb. 2: Screening nach neuartigen Enzymen mittels Robotersystemen

schungsgemeinschaft leicht zugänglich zu machen. Durch die schnellere Verfügbarkeit lassen sich neue, nachhaltige und somit umweltfreundlichere Prozesse beschleunigt entwickeln und wertvolle Zeit und Ressourcen sparen. Zudem möchte die BiocatCollection hierdurch auch erreichen, bestehende Vorbehalte gegen den Einsatz von Enzymen als Alternative zu etablierten chemischen Prozessen abzubauen und die Zeit bis zur Marktreife von Biokatalysatoren entscheidend zu verkürzen.

## Die Enzyme

Die BiocatCollection verfügt über ein breites Spektrum an Enzymen, die von verschiedenen Anbietern aus dem In- und Ausland zur Verfügung gestellt wurden. Das Gesamtportfolio umfasst derzeit rund 300 Enzyme.

Eine wertvolle Eigenschaft vieler Enzyme ist ihre Herkunft aus extremophilen Mikroorganismen. Durch die Nutzung des Ressourcenpotentials der Extremophilen, die ökologische Nischen bevölkern, an denen menschliches Leben nicht möglich ist, stehen eine Vielzahl an robusten Biokatalysatoren zur Verfügung. Diese sind auch unter extremen Bedingungen, wie sie in Produktionsprozessen häufig herrschen, d.h. bei stark sauren oder stark basischen pH-Werten oder Temperaturen am Siedepunkt noch aktiv. Beispielsweise stehen Amylasen und Cellulasen aus hyperthermophilen Organismen wie *Pyrococcus* oder *Thermotoga* zur

Verfügung, die bei Temperaturen von 100°C optimale Aktivität aufweisen [3, 4]. Auch hohe Salzkonzentrationen, Lösungsmittel und Temperaturen am Gefrierpunkt stellen für einige der Enzyme kein Problem dar. Zudem lagern in den Gefriertruhen der BiocatCollection viele Enzyme aus gemäßigten Habitaten.

Im Detail umfasst das Portfolio der BiocatCollection derzeit Enzyme aus den Klassen EC1 bis EC5, lediglich Ligasen (EC 6) finden sich (noch) nicht im Angebot der BiocatCollection. Den Schwerpunkt bilden derzeit hydrolytische Enzyme wie Lipasen und Esterasen sowie Cellulasen. Gerade im neu aufkommenden Forschungsfeld „Bio-raffinerie“ spielen letztere Enzyme eine wichtige Rolle beim Abbau von lignocellulolytischer Biomasse (Pflanzenabfälle) zur Gewinnung von Zuckern für die Produktion von Bioethanol und Biogas. Auch bei der Nutzung nachwachsender Rohstoffe vor dem Hintergrund schwindender fossiler Rohstoffvorkommen kommt diesen Enzymen eine zentrale Bedeutung zu [5, 6]. Besonderheiten im Angebot der BiocatCollection sind Enzyme, die kommerziell nicht verfügbar sind wie bakterielle Amylomaltasen oder Verzweigungsenzyme.

Aus dieser Vielfalt heißt es für den Anwender nun „nur noch“, die zu seinem Problem passende Lösung in Form eines Enzyms zu finden. Die BiocatCollection übernimmt hierbei eine Maklerfunktion, d.h. der Anbieter stellt seine Enzyme der BiocatCollection zur Verfü-



Abb. 3: Produktionskapazitäten – Fermentation im 300 L-Maßstab

gung, behält jedoch die vollen Rechte an seiner Entdeckung. Die BiocatCollection ihrerseits archiviert und produziert die Enzyme und vermarktet sie über ihre Internetplattform, auf Messen oder anderem Wege. Bei Interesse an bestimmten Enzymen stellt die BiocatCollection dann anschließend den Kontakt zwischen Nutzer und Anbieter her (Abb. 1).

### Dienstleistungen

Es werden auch Dienstleistungen rund um die Biokatalyse angeboten, beispielsweise Untersuchungen und Messungen von Enzymaktivitäten oder das gezielte Screening nach neuartigen Enzymaktivitäten. Hierfür kann auf eine Vielzahl an Gen- und Metagenombanken zurückgegriffen werden, wodurch ein schnelles Screening nach neuen Enzymen ermöglicht wird. Desweiteren bietet die Organisation die Optimierung vorhandener Enzyme durch gerichtete Evolution hin zu den gewünschten Eigenschaften an.

Zur Durchführung dieser Angebote, stehen umfassende Laboreinrichtungen nach dem neu-

esten Stand der Technik zur Verfügung. Hierunter automatisierte Liquid-Handling-Systeme und Pickroboter zum Hochdurchsatzscreening (Abb. 2) sowie Fermentationskapazitäten bis hin zum 300-L-Maßstab (Abb. 3). Die Einbindung in umfassende Netzwerke wie Biokatalyse2021 ([www.biokatalyse2021.de](http://www.biokatalyse2021.de)) oder das Netzwerk Industrielle Biotechnologie Nord (IBN, [www.ibnord.de](http://www.ibnord.de)) bietet Kontakte zu Experten mit dem entsprechenden Know-how oder der nötigen Ausrüstung.

Als Ableger des DBU-gegründeten Projektes InnovationsCentrum Biokatalyse (ICBio, 2002-2007) wird die BiocatCollection ebenfalls von der DBU gefördert und ist als Non-Profit-Organisation ein eigenständiger Geschäftsbereich der TuTech Innovation GmbH, der Wissens- und Technologietransfergesellschaft der Hamburger Hochschulen.

### Referenzen

- [1] Schmid A. et al.: *Curr Opin Biotechnol* 13, 359–366 (2002)
- [2] Hult K. und Berglund P.: *Trends Biotechnol* 25, 231–238 (2007)

- [3] Bertoldo C. et al. *Biotechnology* 10, 61–103 (2001)
- [4] Antranikian G. et al.: *Adv Biochem Engin Biotechnol* 96:219–262 (2006)
- [5] Sotaert W. und Vandamme E.: *Biotechnol J* 1, 756–769 (2006)
- [6] Busch R. et al.: *Biotechnol J* 1, 770–776 (2006)

### Autoren

Dr. Christian Elend, Leiter F&E  
 Dr. Ralf Grote, COO  
 Prof. Dr. Dr. h.c. Garabed Antranikian, wissenschaftlicher Direktor

### ► KONTAKT

**BiocatCollection**  
 Hamburg,  
[grote@tuhh.de](mailto:grote@tuhh.de)  
[info@biocatcollection.de](mailto:info@biocatcollection.de)

## Showcase

### „Live Cell Imaging“ Mikroskop und Inkubator in einem System vereint:

Nikon's BioStation IM ist ein komplett integriertes Mikroskop-System für die Aufzeichnung lebender Zellen unter exakten Kulturbedingungen. Durch die nahtlose Kombination präziser Regel- und Kontrolltechnik eines professionellen CO<sub>2</sub>-Inkubators mit hochwertiger Mikroskopoptik für Drift-freies „Live Cell Imaging“ revolutioniert Nikon's BioStation IM die Methode, lebende Zellen während der Beobachtung durch konstant optimale Kulturbedingungen bestmöglich zu schonen. Neu für die BioStation IM sind Vorrichtungen für Perfusion und Medienwechsel.



Die BioStation IM gestattet bei konstanter Temperatur, Feuchtigkeit und CO<sub>2</sub>-Konzentration Zeitraster-Mikroskopie von lebenden Zellen, beispielsweise in der regenerativen Medizin, Toxikologie, Pharmakologie, sowie in der Zell- und Stammzellforschung, Hirnforschung und Entwicklungsbiologie. Die berührungsfreie und ferngesteuerte Bedienung reduziert erheblich den Spielraum für unerwünschte Kontaminationen beim Live Cell Imaging.

Herausragend ist auch die einfache Bedienbarkeit der BioStation IM. Benutzer ohne Vorkenntnisse in der Lebendzell-Mikroskopie können sofort mit der Durchführung von „Live Cell Imaging“-Experimenten starten.

Im Platz sparenden, vibrationsfreien Gehäuse birgt die BioStation IM alles, was für hochwertiges Langzeit-Imaging notwendig ist. Die besondere Konstruktion der BioStation IM („I“ = Incubation, „M“ = Monitoring) eliminiert thermischen Drift, sodass Bildsequenzen über Tage hinweg scharf im Fokus bleiben.

Das optische System erzeugt hoch auflösende Phasenkontrast- und Fluoreszenzbilder. Die „Plan-Fluor“-Optik hat bei 20x–80x Vergrößerung die N.A. 0,80 (bei Petrischalen mit Deckglasböden). Die Version für Gefäße mit Plastikböden hat LD-Optik (10x–40x Vergrößerung, N.A. 0,50). Als Fluoreszenzlichtquelle dient Nikon's neues „Intensilight“ mit Long-life 100W HBO Lampe und Lichtleiter (2 Standard-Filterblöcke). Eine gekühlte CCD Digitalkamera nimmt die Zellen in variabel programmierbaren, zeitlichen Intervallen auf. Die Zeitrasteraufnahmen können schon während des Experimentes mit der Preview-Funktion angeschaut und ausgewertet oder in Datenbanken gespeichert werden.



NIKON GmbH  
 Mikroskope  
[joerg.kukulies@nikon.de](mailto:joerg.kukulies@nikon.de)  
[www.nikoninstruments.eu](http://www.nikoninstruments.eu)