

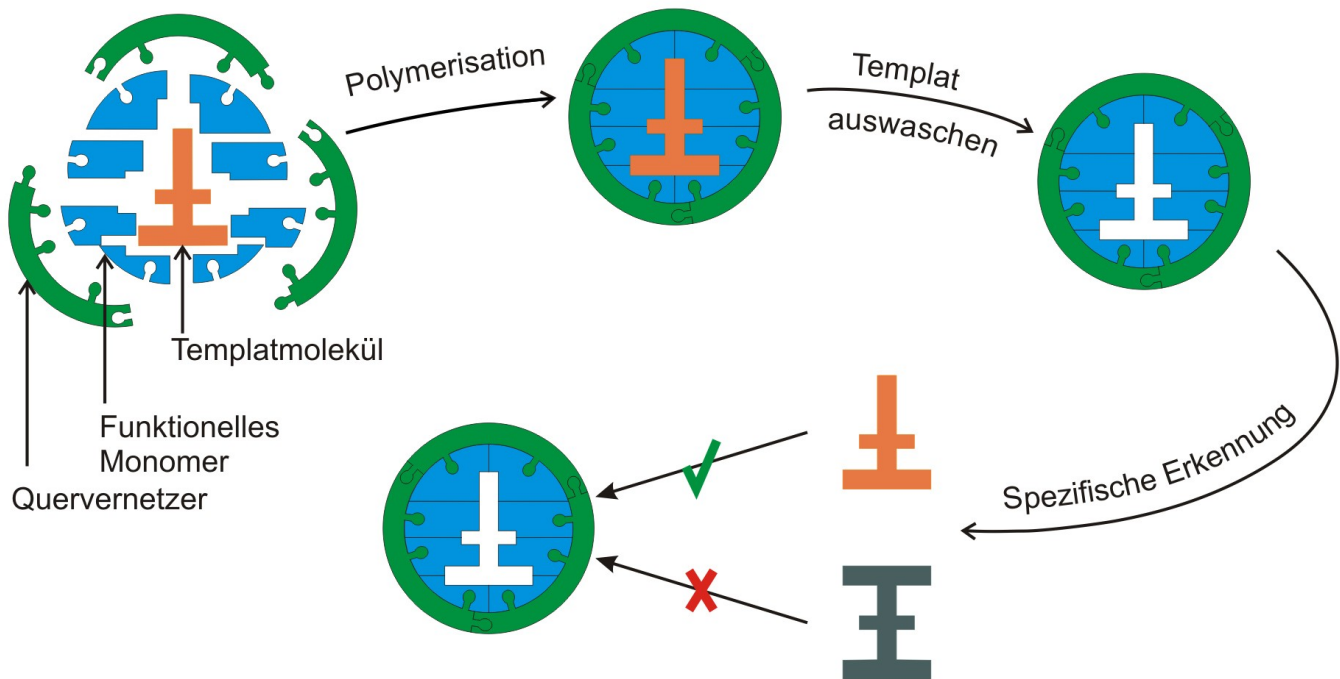
Neue Analyse-Tools mit molekular geprägten Polymeren

Mit dem steigenden Interesse an der Bioproduktion von Wertstoffen und Pharmaka steigt der Bedarf an maßgeschneiderten Analyseverfahren. Wann welche Produktmengen unter welchen Fermentationsbedingungen anfallen, ist von größter wirtschaftlicher Bedeutung für die Bioindustrie. In Tübingen und Stuttgart wird inspiriert durch natürliche molekulare Vorgänge an neuen, markierungsfreien Analysemethoden geforscht, die es erlauben, den gesamten Prozessverlauf zu beobachten.

Die Biotechnologie spielt eine immer größere Rolle in der industriellen Produktion. Feinchemikalien und auch medizinische Wirkstoffe werden mithilfe einzelliger Organismen in großen Bioreaktoren, den Fermentern, hergestellt. Der zunehmende wirtschaftliche Erfolg der Bioproduktion führt zu immer größeren Anlagen mit immer komplexerer Prozessführung. Die physikalischen Parameter wie Temperatur und Druck müssen ebenso optimiert werden wie die Zufuhr an Nährmedien und die Abtrennung sowie Aufreinigung von Produkten. Die gesamte Fermentation wird deshalb von einer ausgefeilten Prozessanalytik begleitet. Die molekulare Bionik kann dazu beitragen, die Fermentationskontrolle zu verbessern. Daran arbeitet ein Team am Tübinger Institut für Physikalische und Theoretische Chemie unter Leitung von Prof. Dr. Günter Gauglitz in enger Kooperation mit der Arbeitsgruppe PD Dr. Günter Tovar am Institut für Grenzflächenverfahrenstechnik IGVT der Universität Stuttgart.

„Zurzeit werden zur Fermentationskontrolle fast ausschließlich der pH-Wert sowie die CO₂- und manchmal die Glucose-Konzentration gemessen. Es gibt jedoch keine direkte Messung der Fermentationsprodukte online während der Fermentationslaufzeit, das heißt in der Regel über Tage hinweg, durch Probennahme mit anschließender Analyse“, erklärt Gauglitz den Stand der Dinge. Den möchte er ändern. Es soll zeitnah messbar werden, wie sich das Produkt im Fermenter entwickelt, wann ein Maximum an Ausbeute erreicht ist, wann die zugegebenen Substanzen verstoffwechselt sind und wann die Produktion am sinnvollsten beendet wird.

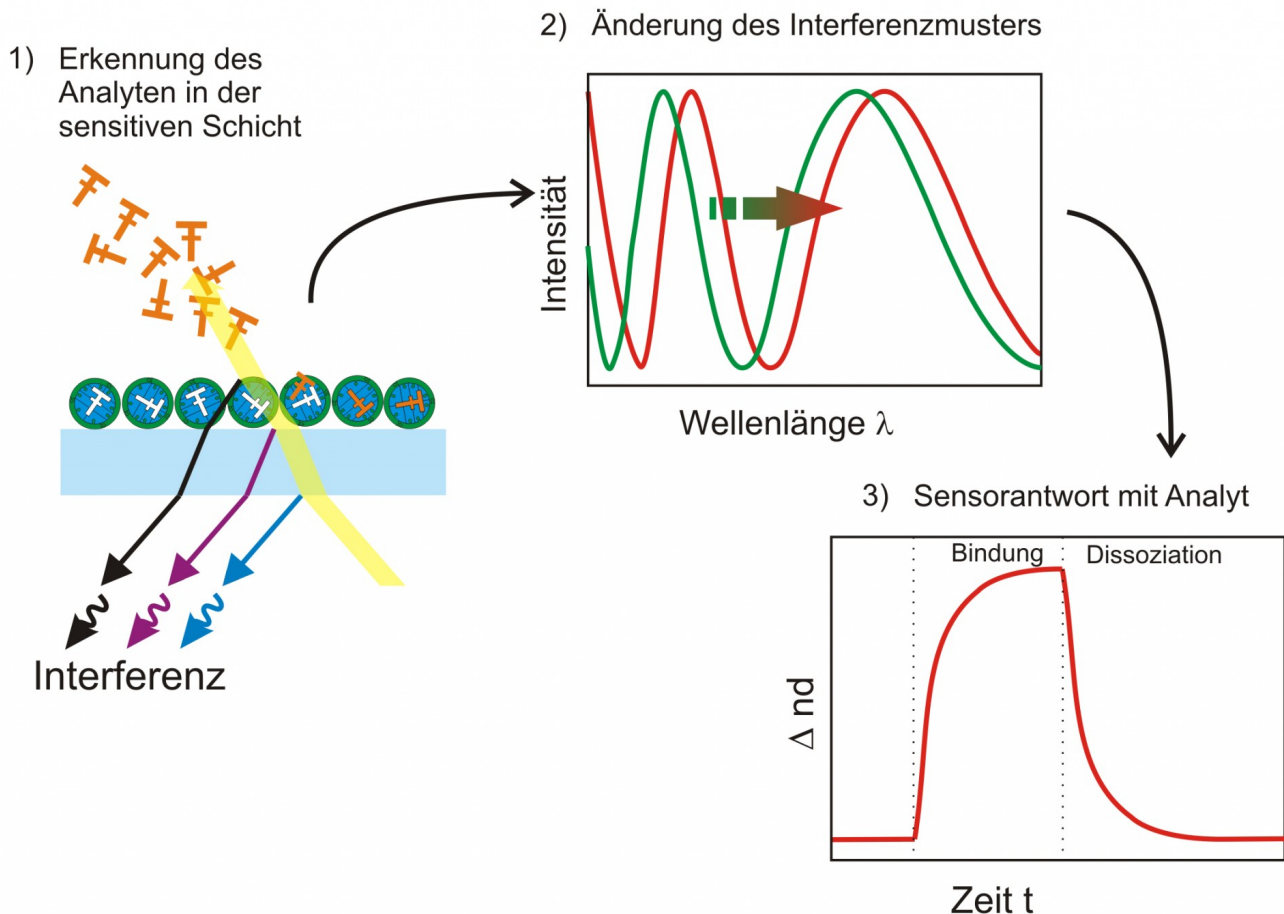
Die Höhen und Tiefen der Produktbildung live verfolgen



Während der Herstellung von Polymeren werden diese auf ihre Analyten geprägt.
 © IPTC, Uni Tübingen

Theoretisch gibt es bereits Möglichkeiten, die Produkte zu analysieren, zum Beispiel über ihre Reaktion mit Antikörpern. „Antikörper haben jedoch den Nachteil, dass sie häufig unter den Fermentationsbedingungen leiden und dass ihr Einsatz nur in gewissen Konzentrationsbereichen zweckmäßig ist“, sagt Gauglitz. Er lässt sich mit seinen Projektpartnern am IGVT von natürlichen Bindungs- und Prägemechanismen auf molekularem Niveau inspirieren. Proteine und Peptide dienen dabei genauso als Anschauungsobjekt wie Nukleinsäuren und Kohlenhydrate. Die Gruppe um Tovar will molekular geprägte Polymere einsetzen, an die die Fermentationsprodukte zur Analyse spezifisch, aber reversibel binden können. Der Prägevorgang wird ermöglicht, indem während des Polymerisationsprozesses der Analyt zugegeben wird. Die Kunst besteht darin, die Bedingungen so zu wählen, dass der Analyt nicht fest an das entstehende Polymer gebunden wird, auf kovalente Bindungen soll weitgehend verzichtet werden. Dann ist es möglich, den Analyten durch Zugabe von Lösungsmittel sofort wieder zu entfernen. Auf der anderen Seite muss die Polymerisation so durchgeführt werden, dass nur der spezifische Analyt und kein anderes Molekül, das sich womöglich in der Fermentationsbrühe befindet, bindedefähig ist. Es ist also ein kniffliges Wechselspiel molekularer Interaktionen, die austariert werden müssen.

Polymere werden während ihrer Entstehung auf den Analyten geprägt



Die Reflektometrische Interferenzspektroskopie (RIFS) bietet den Vorteil, dass der Nachweis markierungsfrei erfolgt.
© IPTC, Uni Tübingen

„Wir wollen Polymere einsetzen, die chemisch sehr viel inerte sind als Antikörper, und mit denen ein weiter Konzentrationsbereich abgedeckt werden kann. Wir haben den Ehrgeiz, damit den gesamten Fermentationsprozess zuverlässig analytisch zu begleiten“, so Gauglitz. Über die Bindung zwischen dem Produktmolekül als Analyt und Polymer lässt sich dann die Konzentration bestimmen. Dabei sollen in Tübingen entwickelte, markierungsfreie, direkte Analyseverfahren zum Einsatz kommen. Während die Herstellung der Polymere das Hauptarbeitsgebiet der Stuttgarter Projektpartner ist, legt die Tübinger Gruppe den Schwerpunkt auf die Entwicklung der passenden Beobachtungsmethode. Gauglitz und seine Mitarbeiter können bereits auf wesentliche Erfolge bei der Entwicklung von Analyseverfahren auf Basis der Reflektometrischen Interferenzspektroskopie (RIFS) zurückblicken. Diese optische Methode zur Bioanalyse wollen sie nun an das neue System zur Prozessanalytik anpassen. „Speziell in der Prozessanalytik macht es keinen Sinn, Produktmoleküle auch noch zu markieren und zum Beispiel teure Goldpartikel in den Prozess einzubringen. Außerdem können die Temperaturen während des Fermentationsprozesses schwanken. Man müsste also zudem die Temperaturprobleme ausschalten“, so Gauglitz zur Motivation, markierungsfreie reflektometrische Lösungen zu suchen.

Markierungsfreie Detektion mit optischen Analyseverfahren

Da das Gesamtprojekt noch ziemlich am Anfang steht, müssen noch zahlreiche Hürden genommen werden. „Ein solches Analyse-System ist eben keine Lambda-Sonde im Auto. Das Verfahren muss zum Beispiel auch auf die Fluidik im Fermenter abgestimmt werden“, so Gauglitz. Die Selektivität und die Reversibilität der Polymere müssen exakt steuerbar sein und die Ansprechzeiten der Polymere müssen definiert werden, ergänzt der Arbeitsgruppenleiter. Gauglitz geht zurzeit davon aus, dass der gesamte Vorgang zur Analytbindung und Messung in einem Fünf- bis Zehn-Minuten-Zeitraum machbar sein wird.

Für zunächst ein Jahr wird das Projekt unter Beteiligung Stuttgarter und Tübinger Wissenschaftler im Rahmen des Landesprogrammes zur Molekularen Bionik gefördert. Projektleiter Gauglitz hofft, dass das Vorhaben dann so weit gediehen ist, dass ein Förderantrag mit längerer Projektlaufzeit angeschlossen werden kann. „Im Moment ist das Ganze noch ein Visionsprojekt, und unser erstes Ziel ist eine Feasibility Study“, so Gauglitz. Bei aller wissenschaftlichen Vorsicht sieht er doch bereits das Potenzial für die Anwendung in der aufstrebenden Bioindustrie und sucht das Gespräch mit potenziellen Industriepartnern.