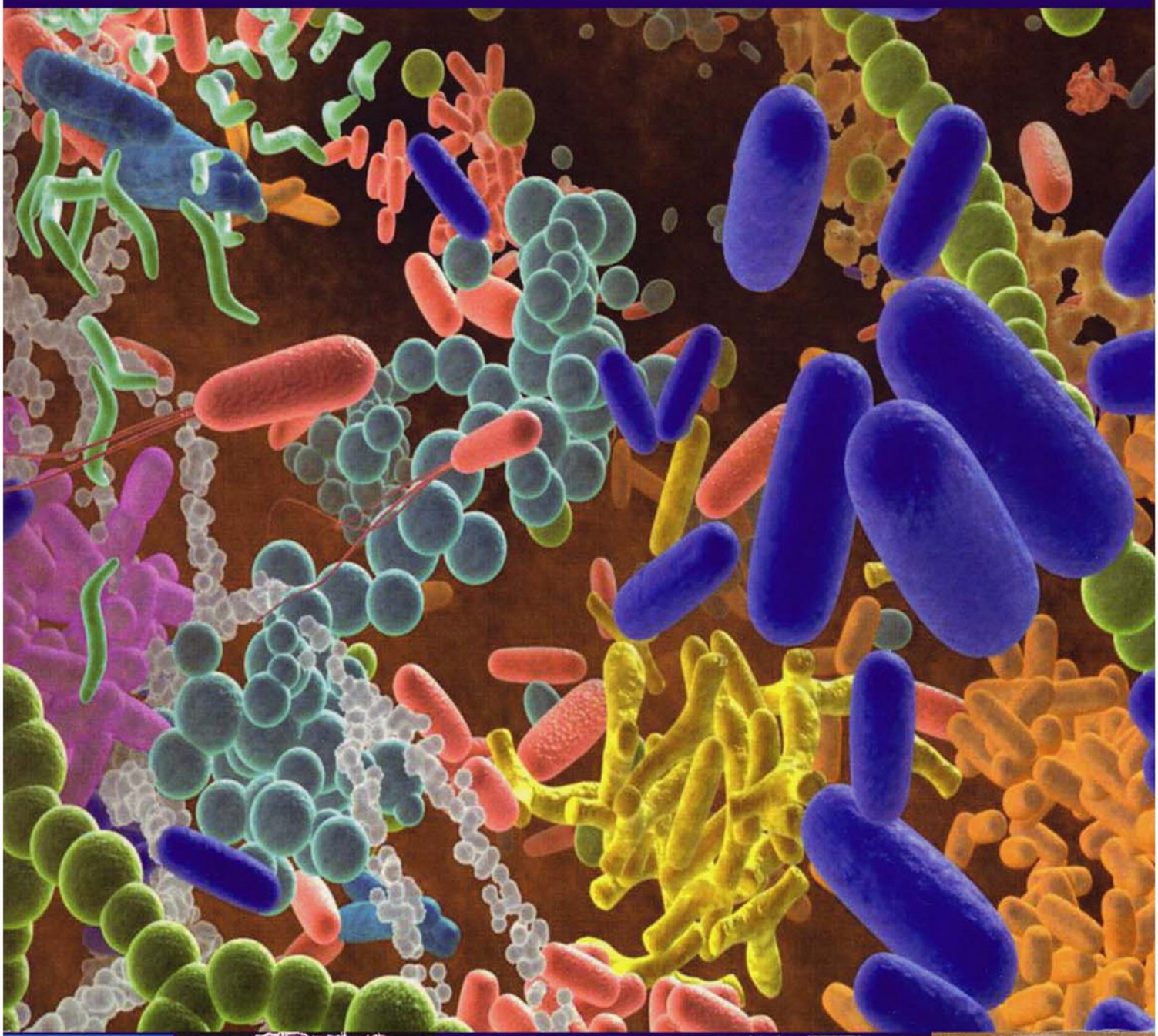
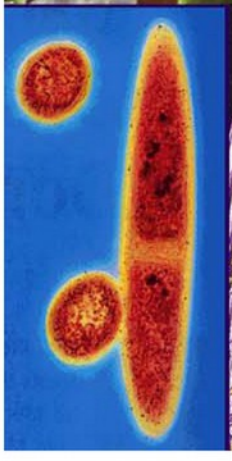
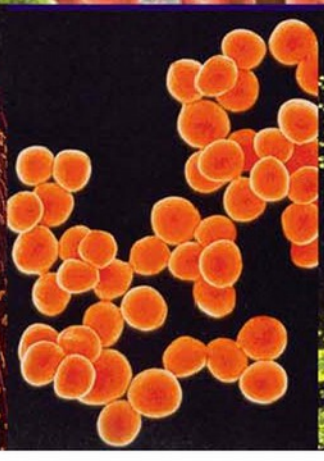
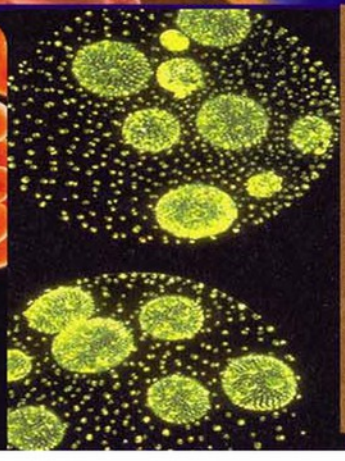
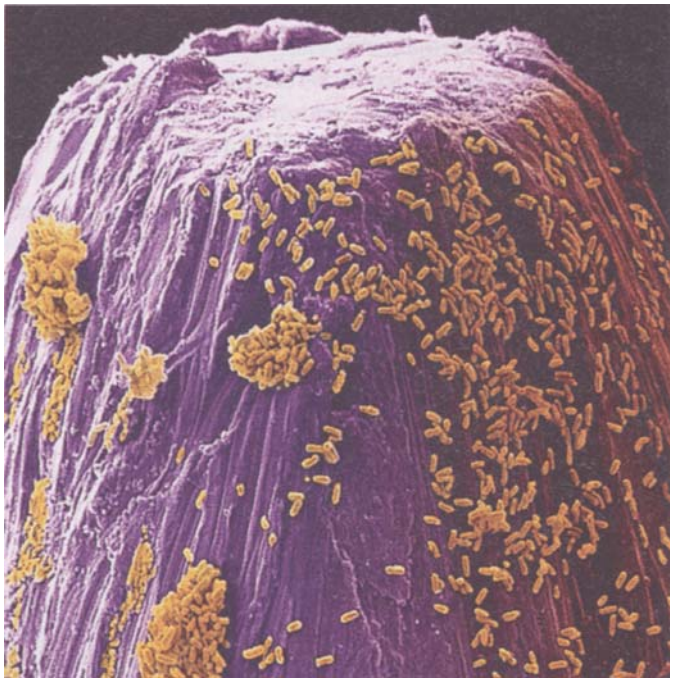
die faszination der mikroorganismen





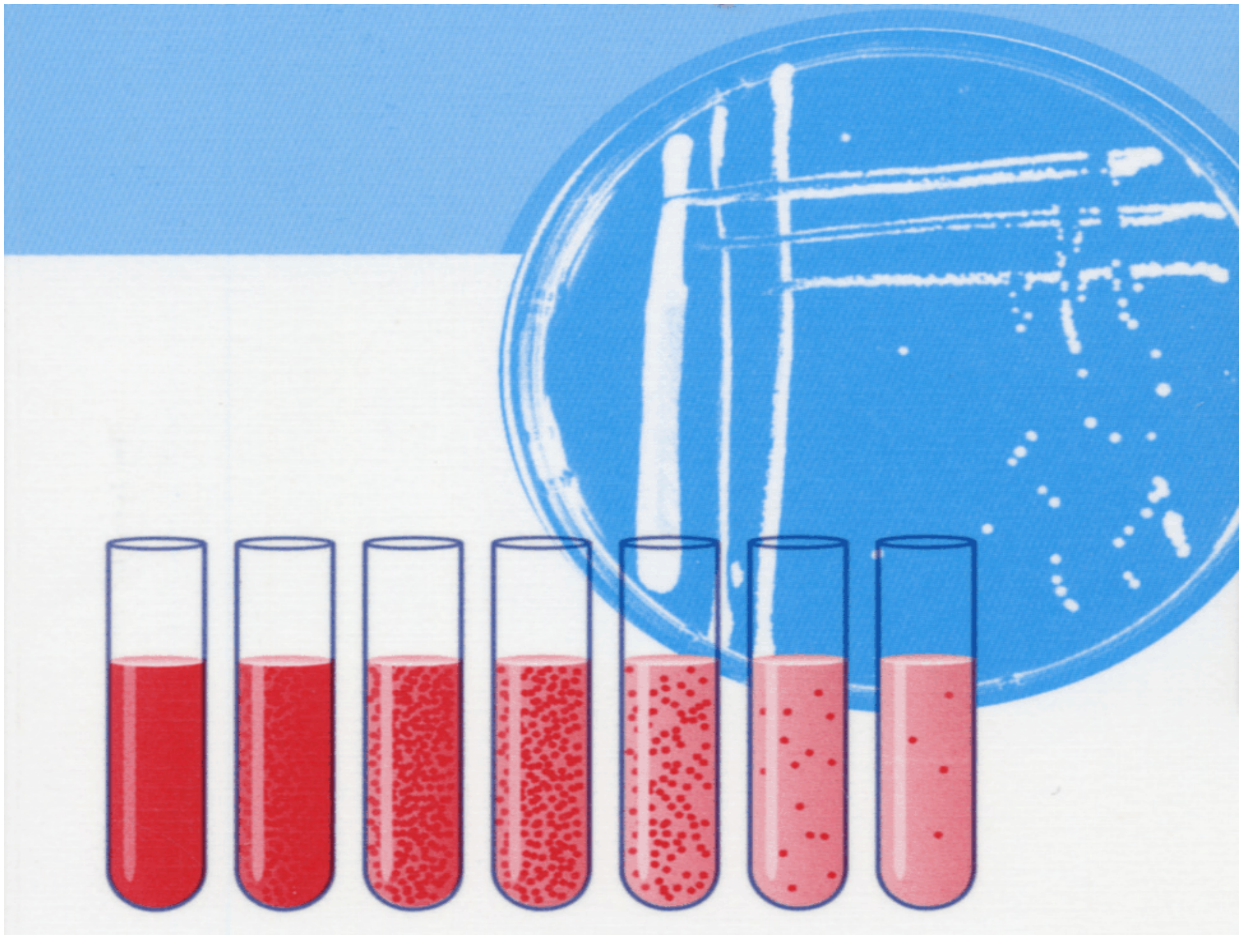






Mikrobiologie

eine erste Hinführung zu den unsichtbaren, aber unentbehrlichen Kleinstlebewesen



© Kurt P. Frischknecht PHSG 2011

Übersicht Einführung in die Mikrobiologie I-I4
Mikrobiologie I: Allgemeine Mikrobiologie 2
1. Bedeutung der Mikrobiologie [Theorie] 2
2. Bedeutung der Mikrobiologie in Natur und Gesellschaft [Theorie] 4
3. Kleine Zelldimensionen - grosse Leistungen [Theorie] 7

Mikrobiologie II: Medizinische Mikrobiologie, Biotechnologie, Gentechnologie Einleitung II
1. Einleitung: Bedeutung der angewandten Gebiete der Mikrobiologie 11
2. Der Bauplan des Lebens 12
3. Abänderung der Baupläne und Anwendungen 12

Mikrobiologie I Allgemeine Mikrobiologie

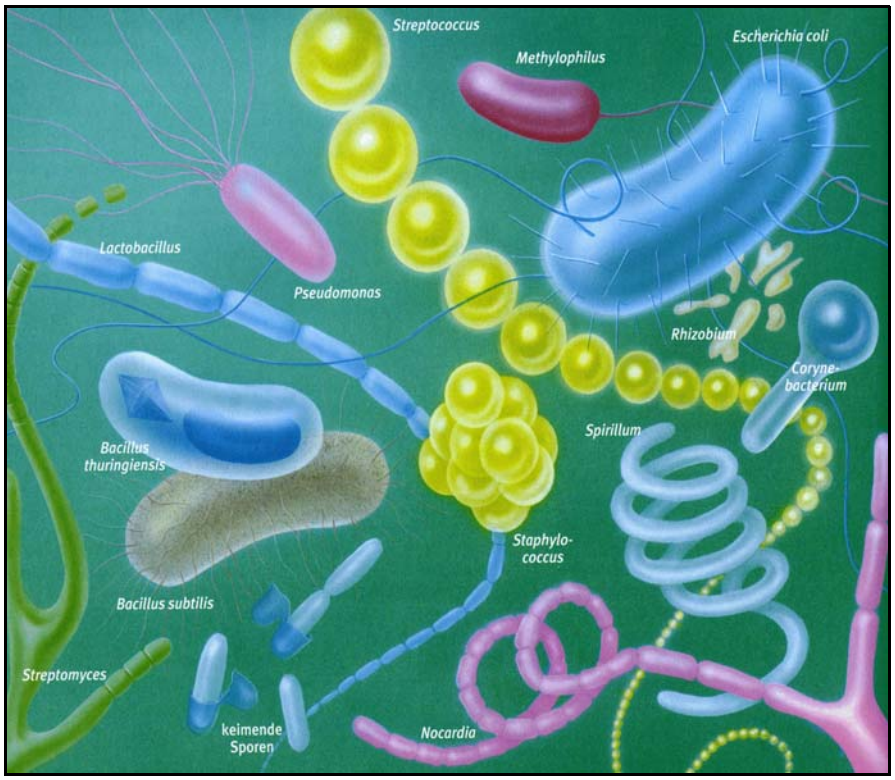


Abb. 2.1: Die "bunte" Welt der Mikroorganismen: Eine Vielzahl von Formen und Leistungen zeichen Mikroorganismen, hier Bakterien, aus! Vgl. Auch Abb. 10.1. [Quelle: RENNEBERG, 2006].

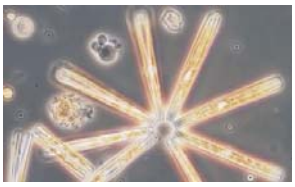
I. Einleitung: Bedeutung der Mikrobiologie

Die Mikrobiologie befasst sich mit allen Organismen, die auf Grund ihrer geringen Dimensionen von blossen Auge nicht oder kaum sichtbar sind (Abb. 2.1, Abb. 10.1). Für sie ist die Lebensweise als **Einzeller** oder als Organismen, die aus **wenigen Zellen** bestehen, charakteristisch. Damit unterscheiden sie sich von den Pflanzen, Tieren und Menschen, deren Zellen unter natürlichen Bedingungen nur im Verband mit dem vielzelligen Organismus lebensfähig sind. Mit der

einzelligen Lebensweise der Mikroorganismen oder Mikroben sind **geringe Dimensionen, ausgeprägte Umwelt-weltkontakte** und **hohe Stoffwechselaktivitäten** verbunden. Die Evolution des miniaturisierten organismischen Systems hat zu einer geringen morphologischen, aber hohen **biochemischen Mannigfaltigkeit** geführt.

Die Mikroorganismen stellen zwar eine funktionelle, aber keine taxonomische Einheit dar. Zu ihnen gehören die **Bakterien** einschliesslich der Actinomyceten (pilzähnliche Bakterien-gruppe) und Cyanobakterien ("Blaualgen"), die zu den Prokaryoten (kernlose Organismen) zusammengefasst werden. Weiterhin werden diejenigen Gruppen der Eukaryoten (kernhaltige Organismen) zu den Mikroorganismen gestellt, die als ein- oder wenigzellige Organismen leben. Es sind dies ein grosser Teil der **Pilze** einschliesslich der Hefen, die **Algen** und die **tierischen Einzeller** (Protozoen).

Einzeller: Glockentierchen.



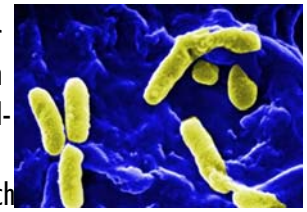
Algen: Kieselalgen.

Unterhalb der Organisationsstufe von Organismen befinden sich die **Viren**. Ihnen fehlen entscheidende Eigenschaften eines Organismus, vor allem der Stoffwechsel. Sie können nicht selbständig leben, sondern bedürfen lebender Zellen zur Vermehrung. Sie werden meist im Rahmen der Mikrobiologie behandelt, da sie mit Hilfe mikrobiologischer Methoden untersucht werden.

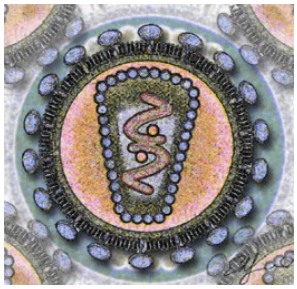
Neu dazugekommen sind die **Prionen**, die zwar weder Organismen noch virenähnliche Partikel sind, sondern "entartete" Nervenzellproteine (infektiöse Proteinpartikel), die durch ihre ver-änderte Eiweissstruktur die gesunden Prioneneiweisse zum "Umkippen" und dadurch zum Ausbruch von gefürchteten Krankheiten (BSE, Creutzfeld-Jakob-Krankheit —> Verhaltens-störungen, Demenz) führen. Da der Mikrobiologe gewohnt ist, mit kleinsten Objekten zu arbeiten, fallen auch Prionen in sein Arbeitsgebiet.

Pilzkolonien: Schimmelpilze.

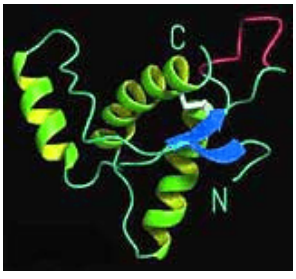
Die **Bedeutung der Mikroorganismen** für Natur und Gesellschaft hat massgeblich zur Entwicklung der Mikrobiologie beigetragen. Ihre Rolle in der Medizin, Landwirtschaft und im Gärungsgewerbe führte am Anfang letzteren Jahrhunderts zunächst zur Etablierung angewand-ter Lehrdisziplinen. Erkenntnisse über die Einheit und Mannigfaltigkeit mikrobieller Systeme bestimmten die weitere disziplinäre Entwicklung. Unlösbar damit verbunden ist die methodisch Entwicklung, die die Mikroorganismen sichtbar und handhabbar macht und das Studium der ihnen eigenen Leistungen und Gesetzmässigkeiten ermöglicht. Heute steht die Biologie an einem Wendepunkt durch die stürmische Entwicklung der Bio- und Gentechnologie, an deren Begrün-dung die Mikrobiologie masssgebend beteiligt ist. Auch die Schulbiologie muss diese stürmische Entwicklung einbeziehen und die Grundlagen zum Verständnis dieser "neuen Biologie" legen. Zudem ist die Mikrobiologie erfahrungsgemäss für Schülerinnen und Schüler eine neue und spannende Welt! Biologie = Biowissenschaften = Life Sciences = cf. hier !!



Bakterien: Pseudomonas.



Virus: HIV (AIDS).



Prionen: entartete Gehirn-eiweisse.

2. Bedeutung der Mikrobiologie in Natur und Gesellschaft

Wesentliche Beiträge der Mikrobiologie zum Erkenntnisfortschritt der Biowissenschaften finden sich vor allem in der Genetik/Gentechnologie, Biotechnologie, Immunbiologie, Molekularbiologie, aber auch in der Medizin. Die folgenden Ausführungen beziehen sich aber vor allem auf die Bedeutung der Mikrobiologie für Natur und Gesellschaft (vgl. Abb. 4.1).

In den **Stoffkreisläufen** der Natur spielen die Mikroorganismen eine entscheidende Rolle. Biogeochemische Zyklen wären auch ohne Pflanzen und Tiere denkbar, jedoch nicht ohne Mikroorganismen. Ihnen kommen Schlüsselstellungen bei der **Mineralisierung** des breiten Spektrums organischer Stoffe zu, die durch Pflanzen und Tiere synthetisiert werden. In den Stoffkreisläufen wirken die Pflanzen als Produzenten, die Tiere und Menschen als Konsumenten, die Mikroorganismen als **Destruenten (Zersetzer)**. Im Stickstoffkreislauf führen die Bakterien neben Abbauleistungen eine entscheidende Assimilationsfunktion aus, nämlich die der **Luftstickstoffbindung**.

Durch die industrielle Produktion werden eine grosse Zahl von organischen Stoffen synthetisiert, die in der Natur nicht vorkommen. Diese **Fremdstoffe** (Xenobiotika) gelangen als Produkte und Abfälle in die Umwelt und führen zu Umweltbelastungen. Mikroorganismen können eine beachtliche Zahl dieser Fremdstoffe teilweise oder vollständig abbauen und tragen damit massgeblich zum Umweltschutz bei. Vor allem die Fremdstoffe, deren Struktur Naturstoffen ähnlich ist, können metabolisiert werden. Sehr davon abweichende Strukturen werden nicht oder nur sehr langsam metabolisiert, sie sind wider-

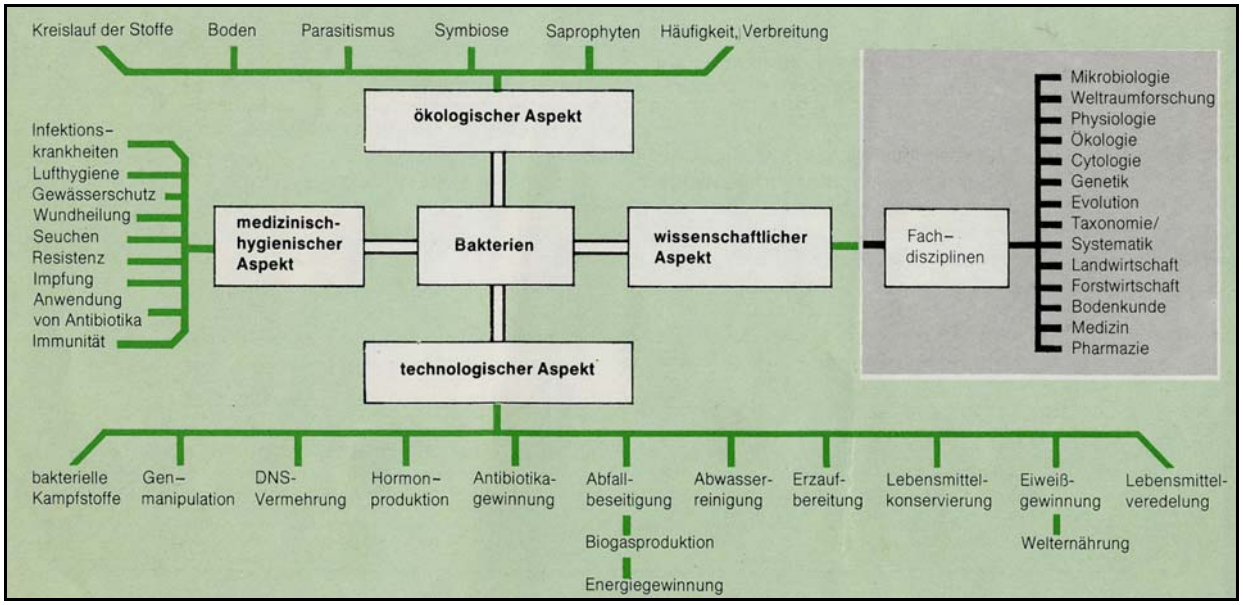


Abb. 4.1: Bedeutung der Bakterien.

standsfähig (persistent). Dazu gehören polychlorierte aromatische Kohlenwasserstoffe, halogenierte Alkane und polymere Kunststoffe. Für die Realisierung der Potenzen zum Fremdstoffabbau sind bestimmte Umweltbedingungen erforderlich. Die meisten Abbauprozesse sind Oxidationsreaktionen, sie erfordern Sauerstoff. Aber einige Dehalogenierungen erfolgen nur unter anaeroben Bedingungen. Die Konzentration der Fremdstoffe darf nicht zu niedrig sein, da vielfach die zum Abbau befähigten Arten selektiert werden müssen. Für den Umweltschutz ist die genaue Kenntnis der Möglichkeiten und Grenzen mikrobieller Abbauleistungen notwendig.

Mikroorganismen werden zunehmend für die Belange der menschlichen Gesellschaft eingesetzt. Ihr **Nutzen** überwiegt bei weitem den Schaden, den sie als Krankheitserreger sowie durch Nahrungsmittelverderb und Korrosionen hervorrufen. Das in der Öffentlichkeit und an Schulen noch vorherrschende Bild von Mikroorganismen als Schädlingen, als Feinden des Menschen, ist falsch, es ist historisch bedingt. Neben ihrer Rolle in der Natur werden sie in zunehmendem Masse als Produktionskräfte eingesetzt. Wir erleben gerade in unserer Zeit, wie zu den Nutzpflanzen und Tieren die Nutzmikroben kommen, die durch die

Möglichkeiten der klassischen Biotechnik (Mutationen, klassische Zuchtverfahren), vor allem aber durch die Gentechnik in kurzer Zeit zu Hochleistungsstämmen herangezüchtet werden. Das Nützlings-Schädlings-Denken ist insgesamt fragwürdig und muss durch eine komplexere und ökologische Betrachtungsweise ersetzt werden. Die gleichen Abbauleistungen, die im Haushalt zum Lebensmittelverderb führen, sind für den Haushalt der Natur unentbehrlich. Thiobacillen, die Korrosionsschäden verursachen, werden für die Metallaugung genutzt und für die Kohleentschwefelung erprobt. Selbst Stoffwechselprodukte von Krankheitserregern, z. B. das Toxin der Diphtheriebakterien, sind für die Entwicklung von Tumortherapeutika in Verbindung mit monoklonalen Antikörpern von Interesse.

In den folgenden Ausführungen werden wichtige Beispiele für die gesellschaftliche Nutzung mikrobieller Aktivitäten angeführt. Eine Übersicht dazu enthält Tabelle 6.1.

Für die **Ernährung** der Menschen spielen Mikroorganismen eine mittel- und unmittelbare Rolle. Mittelbar werden sie in der Pflanzenproduktion durch die Steigerung der **Bodenfruchtbarkeit** wirksam, z. B. durch die Mineralisierung der organischen Substanzen, die Boden- und Humusbildung und die Luftstickstoffbindung. Zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen werden in zunehmendem Masse mikrobielle **Schädlingsbekämpfungsmittel** eingesetzt, z. B. als Insektizide *(Bacillus thuringiensis-* und Virus-Präparate), Fungizide und Herbizide. In der Tierproduktion kommen mikrobielle Produkte als **Futterzusätze** zur Anwendung, z. B. Aminosäuren (Lysin) und Einzellerproteine (Futterhefe). Für die effektivere Futterverwertung wurden spezielle nutritive Antibiotika entwickelt. In der Silofutterherstellung strebt man den Einsatz von Leistungsstämmen an. Schliesslich geht die Verwertung der Cellulose durch Wiederkäuer auf die Mikrobenflora des Pansens zurück. In der **Lebensmittel-** und **Getränkeherstellung** für den Menschen werden neben den weiter entwickelten traditionellen, mit Mikrobenzellen durchgeführten Prozessen, wie der Herstellung von Backwaren (Bäckerhefe), alkoholischen Getränken (Bier, Wein, Alkoholika) sowie Käse- und Sauermilcherzeugnissen, mikrobielle **Enzyme** eingeführt. Amylasen werden zur Stärkehydrolyse in der Brauereiindustrie, beim Backprozess, und zur Glucosegewinnung eingesetzt. Mittels Glucoseisomerase wird Glucose in die süssere Fructose umgewandelt. Nachdem man zunächst mikrobielle Proteasen bei der Käseherstellung einsetzte, erlaubt die Gentechnik jetzt die Herstellung eines Labenzyms, dessen Aminosäurezusammensetzung dem Enzym aus dem Kälbermagen identisch ist. Die mikrobielle Aminosäureproduktion ermöglicht die Bereitstellung von essentiellen L-Aminosäuren. Glutaminsäure und Nucleotide wie Inosin werden als **Aromastoffe** eingesetzt. Mikrobiell gewonnene Zitronensäure ist ein wesentlicher Bestandteil nichtalkoholischer Getränke.

Im **Gesundheitswesen** hat sich durch die Erkenntnisse der Mikrobiologie ein tiefgreifender Fortschritt vollzogen, der weiter anhält. Am Anfang dieses Jahrhunderts waren es die Massnahmen der Hygiene und die Gewinnung von Impfstoffen mit Hilfe der tierischen Antikörpersynthese, die den ersten Wandel bewirkten. Mit der Entwicklung der **Antibiotika** wurde eine neue Ära eingeleitet, die zu einem breiten Spektrum hochwirksamer Pharmaka zur Bekämpfung von Infektionserkrankungen geführt hat. Durch den Einsatz werden aber Mikrobenstämme selektiert, die gegen bestimmte Antibiotika resistent werden. Die Antibiotikaforschung steht daher immer wieder erneut vor der Aufgabe, neue und strukturell abgewandelte Wirkstoffe zu entwickeln, gegen die keine Resistenz besteht. Ungelöste Probleme gibt es bei der Therapie von Virus- und Krebserkrankungen. Mit der Gentechnik werden Möglichkeiten geschaffen, Abwehrstoffe des menschlichen Körpers, die als **Immunstimulatoren** wirken (z. B. Interferone, Interleukine), mit Hilfe von Mikroorganismen zu produzieren. Von diesen und weiteren Wirkstoffen erwartet man neue therapeutische Ansätze zur Viren- und Krebsbekämpfung. **Antikörper** werden mit genetisch bearbeiteten Mikroorganismen erzeugt, z. B. zur Therapie der Gelbsucht (Hepatitis B). Das Spektrum mikrobiell gewinnbarer Wirkstoffe wird durch die Verfahren der Gentechnik, bei denen Mikroorganismen die genetische Information für neue Leistungen erhalten, in ganz entscheidendem Masse erweitert. Die gentechnische Gewinnung menschlicher **Hormone** wie Insulin stellt einen Anfang dar. Auch der Zugang zu Enzymen, die bei der Pharmakasynthese bedeutsam sind, wird durch die Gentechnik wesentlich ökonomischer gestaltet. Heute sind es wenige stereochemische Umsetzungen, die mit Hilfe von mikrobiellen Zellen hergestellt werden, z. B. Steroidwirkstoffe wie Prednison. Mikrobielle und enzymatische Biotransformationen werden in der pharmazeutischen und chemischen Industrie schnell an Bedeutung gewinnen.

Gesellschaftliche Belange	Volkswirtschaftsbereich	Produkte Bsp.
Gesundheit	Pharmazeutische Industrie	Antibiotika Steroidpräparate (Bsp. Cortison, Östradiol und Testosteron in der "Pille") Hormone Immunregulatoren (Bsp. Interferone) Antikörper Diagnostika (Nachweisverfahren) Enzyme (z.B. zur Blutzuckerbestimmung)
Ernährung	Nahrungsmittel- und Getränkeindustrie Futtermittelindustrie Agrochemische Industrie und Landwirtschaft	Enzyme (z.B. stärkespaltende Amylasen) Aminosäuren Aromastoffe Starterkulturen (z.B. für Joghurtherstellung) Einzellerproteine Aminosäuren Biopestizide (z.B. Bacillus thuringiensis Präparate gegen Mückelarven wie Malaria-Moskito) pflanzliche Wachstumsregulatoren N_2-bindende Bakterien
Rohstoff- und Energiegewinnung	Chemische Industrie und Abfallnutzung Bergbau	Ethanol (Alkohol) Organische Säuren (Bsp. Citronensäure) Biogas Metallaugung, Kohleentschwefelung
Umweltschutz	Abwasserreinigung	Phosphatrückgewinnung, Metallrückgewinnung Nitrateliminierung, sauberes Wasser

Tab. 6.1: Gesellschaftliche Nutzung mikrobieller Aktivitäten (Auswahl).

Ein weiteres globales Problem ist das der **Rohstoffgewinnung**. Die Begrenztheit der fossilen organischen Rohstoffe wie Erdöl und Erdgas erfordert zukünftig eine weitaus stärkere Nutzung der regenerierbaren Rohstoffe. Das sind vor allem die Komponenten der pflanzlichen Biomasse, die durch die Photosynthese gebildet werden. Zur Nutzung der verschiedenen pflanzlichen Polysaccharide und des Lignins müssen sie in ihre niedermolekularen Bausteine wie Zucker und Aromaten zerlegt werden, die dann weiteren mikrobiellen und chemischen Stoffwechslungen zugängig sind. Mikrobielle Prozesse sind sowohl für die **enzymatische Depolymerisation** der pflanzlichen Makromoleküle (enzymatischer Abbau) als auch für die **Vergärung zu Industriechemikalien** wie Ethanol, Aceton und Butanol bedeutsam. Während die Ethanolproduktion in grossem Umfang betrieben wird, befinden sich andere Prozesse im Entwicklungsstadium. Aber auch für die Optimierung der Ethanolgewinnung ergeben sich neue Möglichkeiten. So wurden thermophile Bakterien gefunden, die Polysaccharide zu Ethanol vergären. Anorganische Rohstoffe, vor allem Kupfer und Uran, werden bereits in grosstechnischem Masse mit Hilfe chemoautotropher Bakterien aus erzarmen Gesteinen und Abraumhalden gewonnen. Mikroorganismen sind nicht nur zur Erzlaugang (engl. leaching) von Gesteinen befähigt, sondern auch zur **Akkumulation von Metallen** aus Industrieabwässern, z. B. von Silber und Quecksilber. Bei der Abwasserreinigung lassen sich Phosphate bakteriell anreichern und rückgewinnen.

Die zuletzt genannten Anwendungen tragen zum **Umweltschutz** bei. Ein Prinzip des Umweltschutzes ist die Rezirkulation, d. h. die Schaffung geschlossener Kreisläufe. Dieses in der Natur seit Jahrmillionen wirksame und bewährte Prinzip muss in die gesellschaftlichen Prozesse (volkswirtschaftliche Kreisläufe statt "Durchlaufwirtschaft") integriert werden. Zur mikrobiellen

Wertstoffgewinnung aus Abfällen werden die Biogasgewinnung aus landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern sowie die mikrobielle Eiweissproduktion aus Abfällen der Zelluloseindustrie (Sulfitablauge) eingesetzt. Bisher führt die mikrobielle **Abwasserreinigung** vor allem zu einer Mineralisierung der organischen Inhaltsstoffe. Da die Mineralstoffe zur Eutrophierung der Gewässer führen, müssen in diesem Bereich neue Wege zur Wertstoffgewinnung intensiv erforscht werden.

Die Ausführungen zeigen, dass wir bei aller Bedeutung, die die Mikrobiologie bereits für Ernährung, Gesundheit, Rohstofferschliessung und Umweltschutz hat, am Anfang einer Entwicklung stehen. Bisher wird von der Fülle mikrobieller Aktivitäten erst ein geringer Teil genutzt. Viele Prozesse sind zu wenig erforscht. In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl neuer Mikroorganismen mit neuen Leistungen isoliert. So bestehen Möglichkeiten zur Wasserstoffgewinnung durch photoautotrophe Bakterien. In diesen wie in vielen anderen Fällen erlaubt der Erkenntnisstand noch keine Aussagen über eine ökonomisch vertretbare Anwendung. Die Lösung der globalen Probleme erfordert eine tiefgründige Erforschung des mikrobiellen Leistungspotentials, um es umfassend zum Wohle von Mensch und Natur anwenden zu können. Dafür genügt es nicht, die Einzelprozesse zu kennen. Erst wenn wir das Zusammenwirken der einzelnen Prozesse verstehen, können wir der Gefahr begegnen, natürliche Gleichgewichte zu stören.

3. Kleine Zelldimensionen - grosse Leistungen

Auch wenn die Grössenordnung der pro- und eukaryotischen Mikroorganismen sehr differieren kann, so ist doch die **kleine Zelldimension** die charakteristische Eigenschaft. Von ihr leiten sich folgende weitere Charakteristika ab: grosses Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, hohe Leistungen und Anpassungsfähigkeit .
Die Bakterien, welche in den folgenden Ausführungen als typische Mikroorganismen behandelt werden, haben einen Zelldurchmesser um 1 Mikrometer (µm, 1/1'000 mm). Grössere Bakterien, wie die Cyanobakterien, erreichen Zelldimensionen um 10 µm. In der Grössenordnung von 10 µm liegt der Zelldurchmesser der Pilze und Hefen. Die eukaryotischen Mikroben haben im Durchschnitt einen 10 mal grösseren Durchmesser als die Prokaryoten. In Abbildung 8.1 sind die Dimensionen des mikrobiellen, subzellulären und molekularen Bereiches zusammengefasst.

Es fällt uns schwer, in den Dimensionen des µm-Bereiches zu denken. Da das aber zum Verständnis der Mikroorganismen notwendig ist, seien einige Grössenvergleiche angeführt (Abb. 8.1). Eine Bakterienzelle von 1 µm Durchmesser (z. H. *Staphylococcus aureus)* wird mit Hilfe des Lichtmikroskopes auf das 1'000-fache vergrössert, um von unseren Augen als 1 mm grosses Gebilde gesehen zu werden. Würde ein Kind von 1 m Grösse um das 1'000fache vergrössert werden, würde es uns als 1'000 m grosser Riese erscheinen, selbst eine 1 cm lange Fliege würde bei 1'000-facher Vergrösserung zu einem 10 m grossen Monster werden. Das Volumen eines Bakteriums liegt in der Grössenordnung von 1 μm^3. Eine Milliarde Zellen würden 1 mm^3 Volumen einnehmen, fünf Milliarden Bakterien (das entspricht fast der Zahl der Menschen auf der Erde) würden in 5 mm^3 Platz finden. Das ist etwa das Volumen der Glaskügelchen, die am Kopf mancher Stecknadeln angebracht sind. Ein cm^3 Komposterde enthält etwa eine Milliarde Bakterien. Trotzdem nehmen sie nur ein Tausendstel dieses cm^3 ein. Auch im Belag eines Zahnes lassen sich eine Milliarde Bakterien nachweisen. Das Vorkommen in dieser **hohen Individuenzahl** trägt massgeblich zu den hohen Aktivitäten in der Natur bei.

Die geringe Zelldimension bedingt ein sehr grosses Verhältnis von **Oberfläche zu Volumen**. Deutlich wird diese Beziehung in einem Gedankenexperiment. Zerteilt man einen Würfel von 1 cm^3 und 6 cm^2 Oberfläche in Würfel der Grössenordnung von Bakterien (1 μm^3), so erhält man 10^{12} kleinere Würfel, deren gesamte Oberfläche 10'000mal grösser als die des Ausgangswürfels ist. Die Relationen für eine Bakterien- und Hefezelle sind in Tabelle 9.1. angegeben. Bei einem 10 mal grösseren Zelldurchmesser ist das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen 10mal geringer. Das grosse Verhältnis von Oberfläche zu Volumen ermöglicht intensive Wechselwirkungen mit der Umwelt. Mikroorganismen haben eine **"extrovertierte" Lebensweise**. In Zusammenhang mit den relativ geringen Transportwegen in der führt das zu hohen **Stoffwechselleistungen**. Die

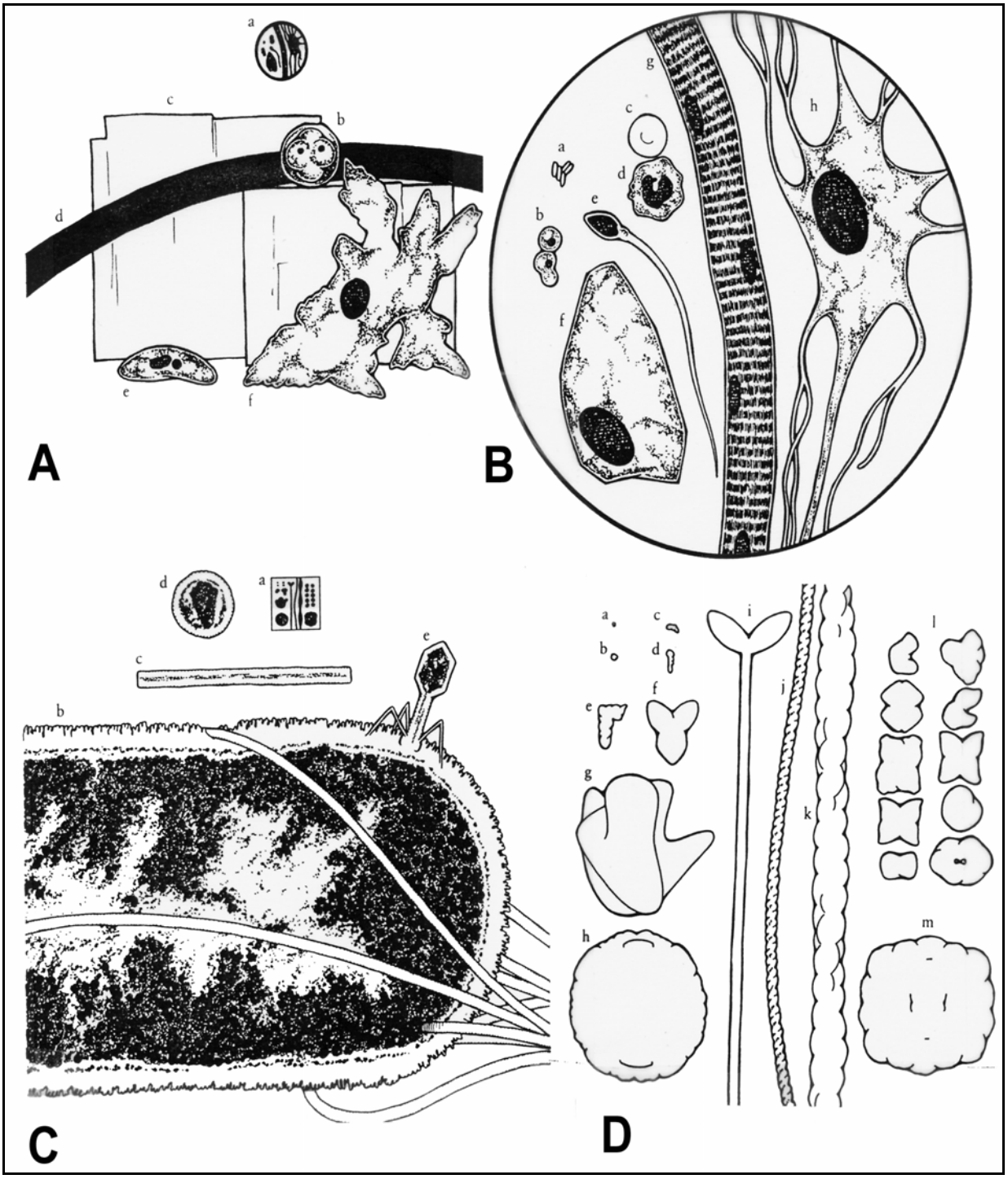


Abb. 8.1: "Mikrobielle" Dimensionen.

A: **100**-fache Vergrösserung: a: Sammlung einiger Zellen, b: die grösste menschliche Zelle (Eizelle), c: Salzkörnchen, d: menschliches Haar, e: tierischer Einzeller (Paramaecium multimicronucleatum), f: Einzeller Amoeba proteus.

B: **1'000**-fache Vergrösserung: a: 5 Bakterien (Escherichia coli), b: 2 knospende Hefezellen (Saccharomyces cerevisiae), c: menschliche rote Blutkörperchen (Erythrozyten), d: menschliche weisse Blutkörperchen (Lymphozyten), e: menschliche Spermazelle, f: epidermale Zelle, g: Zelle der gestreiften Skelettmuskulatur, h: menschliche Nervenzelle.

C: **100'000**-fache Vergrösserung: a: Sammlung von Biomolekülen (cf. b-e), b: bakterielle Zelle (a in B), c: Tabak-Mosaik-Virus, d: HIV-Virus, e: Bakteriophage (Bakterien-befallender Virus).

D: C-Atom, b: Glucose, c: ATP, d: Chlorophyll, e: tRNA, f: Antikörper, g: Ribosom, h: Poliovirus, i: Muskelprotein Myosin, j: Erbsubstanz DNA, k: Muskelprotein Aktin, l: die 10 Enzyme der Glykolyse, m: Enzymkomplex Pyruvatdehydrogenase.

Atmung ist ein Mass für den Stoffumsatz. Bei Bakterien liegt die Atmungsrate (QO_2 = µL O_2 pro l mg Zelltrockensubstanz . h^{-1}) um 1000, bei Hefen um 100, bei tierischen und pflanzlichen Geweben um 1-10 (Tab. 8.1). Für den bakteriellen Stoffumsatz gibt das folgende Beispiel ein anschauliches Bild: Ein Lactose vergärendes Bakterium setzt in einer Stunde das 1000 bis 10'000fache seines Eigengewichtes an Substrat um, ein Mensch würde für den 1'000fachen Zuckerumsatz seines Eigengewichtes ungefähr 250'000 Std., etwa die Hälfte seines Lebens, benötigen!

Eigenschaften	Bakterien	Hefen	Pflanzliche und tierische Zellen
Durchmesser [µm]	1	10	100
Volumen [μm^3]	1	1000	>10'000
Oberfläche/Volumen [μm^{-1}]	1	0.1	Gewebe
Atmungsrate [QO_2]	1000	100	10
Generationszeit [h]	0.3-1	2-10	etwa 20
DNA (Basenpaare)	4×10^6	20×10^6	$500\text{-}5'000 \times 10^6$
"Gene"	4'000	20'000	>50'000
Ribosomengrösse	70 S	80 S	80 S
QO_2 = µL O_2 . mg Trockengewicht^{-1} . h^{-1}			

Tab. 9.1: Zellen im Vergleich: Zwei Mikroorganismen - Bakterien und Hefen - sowie pflanzliche/tierische Zellen.
[S: durch Ultrazentrifugation bestimmte Teilchendichte]

Ein weiterer Ausdruck des hohen mikrobiellen Leistungspotentials ist das Wachstum. Bakterien, wie *Escherichia coli,* haben unter günstigen Bedingungen eine Generationszeit von 20 min, Hefen von 2 Std. In dieser Zeit verdoppelt sich jeweils die Biomasse. Das setzt sich in exponentieller Weise fort. Aus Kalkulationen zur mikrobiellen Eiweissproduktion stammt der Vergleich, dass in einer Futterhefefabrik mit 500 kg Proteinausgangsbiomasse in 24 Std. 50'000 kg Protein produziert werden können, ein Rind von 500 kg bildet dagegen in 24 Std. Nur 0.5 kg Protein. Die Biomasse von jungen Rindern verdoppelt sich in 1-2 Monaten, also etwa in 2'000 Stunden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass Mikroorganismen, bezogen auf die Biomasse, etwa 100-1'000fach höhere Leistungen als Pflanzen und Tiere vollbringen! Daher sind sie nicht nur für die Nutzung, sondern auch für Schulversuche von grossem Interesse!

Miniglossar:

Actinomyceten:	formenreiche, heterogene Bakterienordnung. Charakteristisch ist das Auftreten verzweigter, filamentöser (fädiger) Zellen bzw. echter Mycelien (typischer Vegetationskörper der Pilze).
Chemoautotroph:	mikrobieller Ernährungstyp, gekennzeichnet durch CO_2-Assimilation unter Nutzung anorganischer Substanzen als Energiequelle und Elektronen- bzw. H-Donator.
Cyanobakterien:	syn. Blaualgen. Alte Gruppe photoautotropher Bakterien.
Eutrophierung:	"Überdüngung": durch erhöhte Nährstoffzufuhr bedingte Zunahme der Biomasse z.B. in einem See (Algenmassenentwicklung, Sauerstoffschwund).
Hepatitis B:	Hepatitis-B-Virus; DNS-Virus, Erreger der Virushepatitis B, einer Leberentzündung, die v.a. mit dem Blut (Transfusion, Injektion, kontaminierte Instrumente) übertragen wird.
Monoklonale Antikörper:	von einer einzigen Plasmazelle bzw. von einem Klon (Population von erbgleichen Zellen), der aus einer einzigen Plasmazelle hervorgegangen ist, ausgeschiedene Antikörper.
Prednison:	Glukokortikoid (Nebennierenrindenhormon) mit vielseitigen Wirkungen (z.B. Stimulation der Kohlenhydratbildung aus Aminosäuren, Unterdrückung der zellvermittelten Immunität, Wirkungen auf den Muskel-, Elektrolyt- und Eiweissstoffwechsel).
Prokaryonten:	syn. Prokaryoten: alle niederen Organismen ohne echten Zellkern und geringen Differenzierungsgrad (Bsp. Bakterien).
Protozoen:	Artenreicher Stamm des Tierreiches, umfasst einzellige, in manchen Fällen koloniebildende Formen und ist daher zu den Mikroorganismen zu rechnen. Bsp.: Tierische Einzeller (Pantoffeltierchen).
Thermophil:	wärmeliebend. Temperaturoptimum thermophiler Organismen liegt über 45°C und kann bis 110 °C reichen.

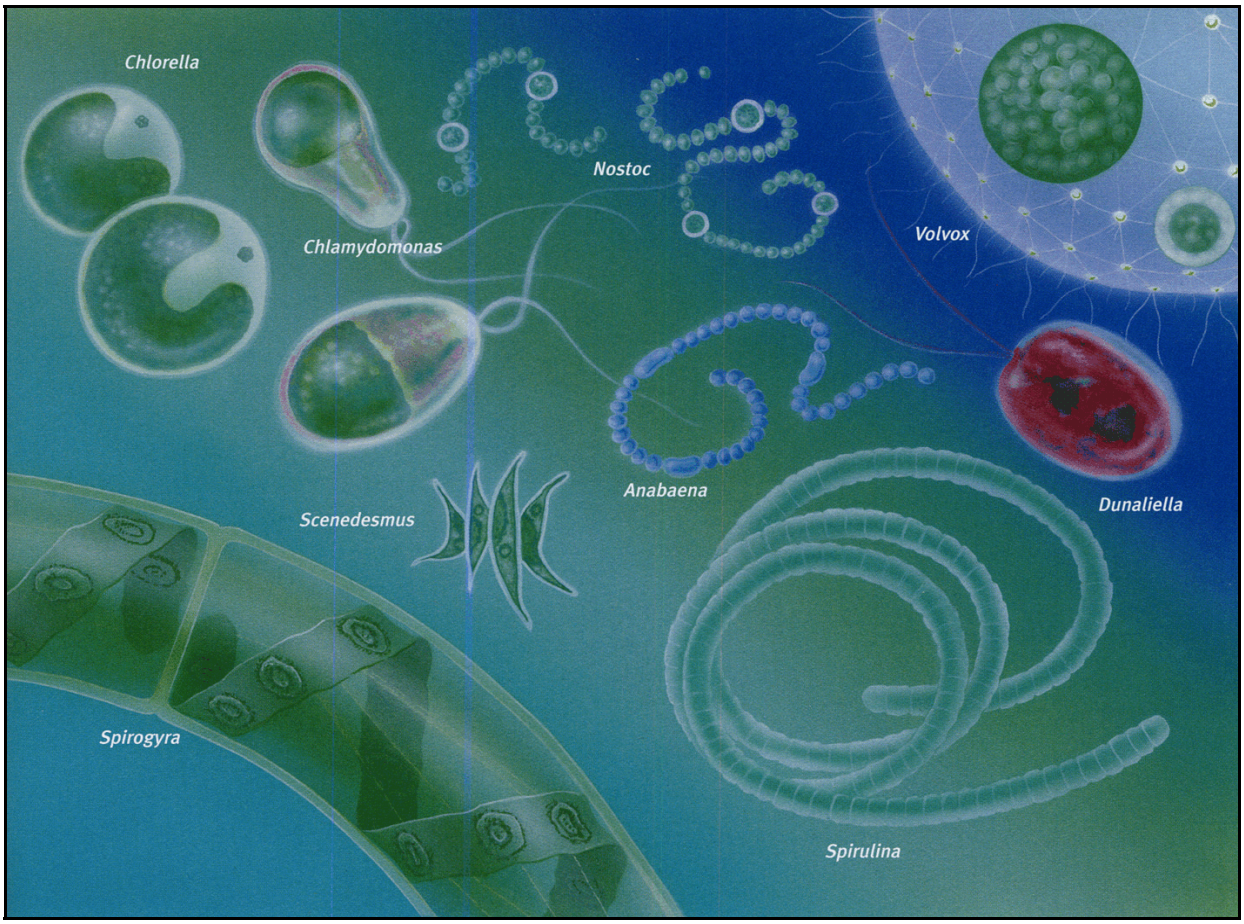


Abb. 10.1: Auch Mikroorganismen - die Fotosynthetiker Algen und Cyanobakterien ("Blaualgen") [Quelle: Renneberg, 2007].

Mikrobiologie II

Medizinische Mikrobiologie, Biotechnologie, Gentechnologie Einleitung

I. Einleitung: Bedeutung der angewandten Gebiete der Mikrobiologie

Nichts wäre falscher als anzunehmen, Biotechnologie* sei eine Entwicklung der neuesten Zeit. Das Gegenteil ist der Fall: Biotechnologie ist fast so alt wie die menschliche Kultur schlechthin. Nach der Entdeckung des Feuers war sie wahrscheinlich die zweitälteste Entwicklung, die es der Menschheit ermöglichte, Stoffumwandlungen durchzuführen. So diente sie schon vor vielen tausend Jahren der Herstellung von Brot, Käse, Joghurt, Kefir, Bier und vielem anderem mehr. Aber ebenso spielten "böse" (= pathogene*) Mikroorganismen eine dominante Rolle bei Infektionskrankheiten. Dieser Aspekt bestimmt heute noch bei vielen Menschen (inkl. Schülerinnen und Schüler) das Bild über Mikroorganismen: respektvolle Neugier und Angst zugleich.

Medizinische Mikrobiologie und Hygiene

Die medizinische Mikrobiologie ist die Lehre von den Mikroorganismen, die für die körperliche Verfassung des Menschen von Bedeutung sind. Sie befasst sich speziell mit den Krankheitserregern und der Infektabwehr. Der Aufgabenbereich umfasst die *Prävention* (vorbeugende Gesundheitspflege, z.B. das Impfen), *Diagnose* und *Therapie* bei einer Infektion und die *Epidemiologie* (Aufdecken und Unterbrechen von Infektionsketten). Die *Hygiene* ist ein Teilgebiet der medizinischen Mikrobiologie, das sich vor allem mit der Prävention von Infektionskrankheiten befasst. Dazu gehören z.B. die allgemeine Hygiene (z.B. das tägliche Waschen, Hautpflege), die Sterilisation* und die Desinfektion*. Trotz aller hygienischer Massnahmen bleiben "Keime" unsere täglichen Begleiter (spannender Artikel hier !!).

Erstaunliche Fähigkeiten

Louis Pasteur* (frz. Chemiker u. Bakteriologe, 1822-1895) hatte im letzten Jahrhundert als erster erkannt, dass die vorindustrielle Biotechnologie auf der phänomenalen *Vielfalt der Stoffwechselaktivitäten von Mikroorganismen* beruhte. Dank der systematischen Erforschung der Mikroorganismen konnten in unserem Jahrhundert die Anwendungsbereiche ungeheuer ausgeweitet werden. So wurden grosstechnische Prozesse zur Herstellung von Azeton, Glyzerin, Ethanol, Milchsäure, Essigsäure und Aminosäuren ausgearbeitet. Die mikrobiellen Verfahren zur Herstellung von Antibiotika dürfen wohl zu den bedeutendsten Entwicklungen der Menschheit gezählt werden, erlaubten sie doch, das jahrtausende alte Übel von Infektionen bei Krankheit und Verletzung zu meistern.
Auf den erstaunlichen biochemischen Fähigkeiten von Mikroorganismen beruhen auch die biologische Abwasser- und Abluftreinigung, die Entfernung von Nitrat aus Trinkwasser, die Herstellung von Biogas und gewisse Verfahren für den Abbau von Erzen. Etwa ein Drittel des Kupfers wird heute biotechnologisch abgebaut.

Der biotechnologische Prozess

Die wissenschaftliche Forschung hat die *fundamentalen Funktionsmechanismen* aufgeklärt, die der Biotechnologie zugrunde liegen (Abb. 12.1). Lebendige Zellen nehmen ständig Substanzen aus ihrer Umgebung auf und geben andere ab, um zu überleben, sich zu ernähren und sich zu vermehren. In einem typischen biotechnologischen Prozess werden solche Zellen in einem geeigneten Medium kultiviert, aus welchem sie die Moleküle des Ausgangsproduktes (Bsp. Zucker im Fall der Alkohol-Fermentation*) assimilieren. In ihrem Innern werden diese biochemisch zum gewünschten Produkt (Bsp. Alkohol) umgewandelt. Letzteres wird ins Kulturmedium ausgeschieden, aus dem es nach dem Ende der Kultur isoliert werden muss, oder es kann auch im Innern der Zelle verbleiben, aus der es dann in einem meist mehrschrittigen Verfahren aufwendig isoliert werden muss.
Als eigentliche Werkzeuge der Stoffumwandlung im Innern der Zellen dienen die *Enzyme,* die, chemisch gesehen, sehr grosse Proteinmoleküle sind. Die Aufgabe der Enzyme ist es, die vielen tausend biochemischen Reaktionen, welche die Zelle für ihren Stoffwechsel durchführen muss, zu “katalysieren”, d. h. bei geringem Energieaufwand in Gang zu setzen. Jede einzelne Reaktion wird durch ein spezielles Enzym katalysiert, das jeweils in Tausenden von Kopien in der Zelle vorhanden ist.

2. Der Bauplan des Lebens

Enzyme müssen, wie andere Proteine auch, als die "molekularen Maschinen des Lebens" betrachtet werden. Ihre ungeheuer komplizierte Bauweise ist für jedes spezielle Protein auf der *Erbsubstanz,* der *DNA,* eincodiert. Wenn die Zelle das Bedürfnis hat, ein spezielles Enzym zu synthetisieren, so wird ein Teil der DNA, ein sogenanntes *Gen,* wie ein Tonband abgelesen (—> Transkription*, DNA-Kopie = mRNA*) und die entsprechenden Proteinmoleküle werden "exprimiert"*, d.h. getreu nach Plan an den Ribosomen mit Hilfe der "Transport-RNA" (=tRNA*) aus den einzelnen Aminosäuren-Bausteinen aufgebaut (=Proteinbiosynthese, bzw. Translation*). Durch verschiedene natürliche Mechanismen, welche die Grundlage der Evolution bilden, kann die DNA abgeändert, verstümmelt oder um weitere Baupläne (Gene) bereichert werden. Da der Organismus dadurch andere oder neue Proteine herstellen kann, ändern sich seine Eigenschaften.

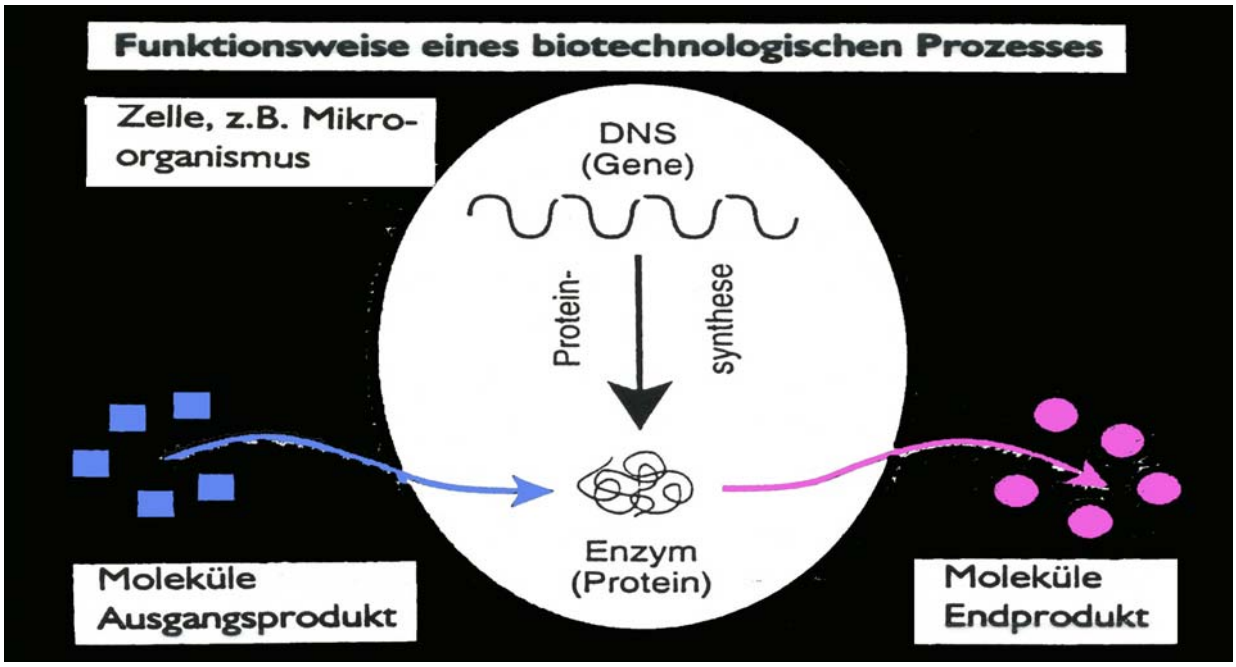


Abb. 12.1: Erstaunliche Fähigkeiten: Bakaterien (Einzeller, Einzelzellen) als Werkzeug der Stoffumwandlung.

Solche Veränderungen hat die Menschheit seit Tausenden von Jahren mehr oder weniger zufällig durch Kreuzen und Züchten bei Pflanzen und Tieren herbeigeführt. Welch enormes Veränderungspotential diesen konventionellen Methoden innewohnt, zeigt z.B. die Artenvielfalt der Hunde, die alle aus dem Wolf herausgezüchtet wurden.

3. Abänderung der Baupläne und Anwendungen

Die *Gentechnologie* ist eine Unterdisziplin der Biotechnologie, die erst in den letzten 25 Jahren entwickelt wurde. Sie beruht auf einer speziellen wissenschaftlichen Grundlage, der *Molekularbiologie.* Basierend auf den bahnbrechenden Arbeiten des Schweizer Nobelpreisträgers Werner Arber und anderer Pioniere, hat sie der Wissenschaft die notwendigen Instrumente zur Verfügung gestellt, um gewisse Abschnitte der DNA einer Zelle abzuändern, herauszuschneiden oder Baupläne für neue Proteine hinzuzufügen. Das Transskriptionssystem liest dann auch die veränderten oder neu hinzugefügten Abschnitte ab, und die neuen, sogenannten *rekombinanten Proteine* werden mit den natürlichen zusammen ebenfalls synthetisiert.
Dadurch eröffnet sich die Möglichkeit, Mikroben und andere Organismen für neue Aufgaben zu "programmieren". Die Möglichkeiten gehen zwar grundsätzlich nicht über das hinaus, was im Laufe der Evolution und durch Züchtung entstehen könnte. Die Veränderungen können aber unendlich viel gezielter, ohne die bei der Züchtung unberechenbaren Zufälle und auch um Grössenordnungen schneller durchgeführt werden.

Einsatz in der Medizin

Da die DNA die Gene für Proteine trägt und den Zellen die Herstellung von funktionsfähigen Proteinen ermöglicht, liegt es auf der Hand, dass die Gentechnik* zunächst dazu verwendet wurde, für die *Humanmedizin wichtige Proteine* herzustellen. Das Beispiel des Wachstumshormons soll diese Art von Biotechnologie illustrieren.
Gewisse Kinder können infolge eines genetischen Defektes nicht genug dieses Hormons herstellen. Will man verhindern, dass sie zwergenhaft klein bleiben, muss man ihnen regelmässige Dosen dieses Proteins verabreichen. Trotz den spektakulären Syntheseleistungen

der Mikroben können diese keine spezifisch menschlichen Proteine herstellen. Die einzige Quelle sind des-halb menschliche Hypophysenzellen, die man aber nicht isoliert züchten kann.
Vor der Einführung eines rekombinanten Wachstumshormons im Jahre 1985 war man deshalb auf die Extraktion dieses Proteins aus menschlichen Hypophysen* angewiesen. Pro Kind und Jahr braucht man 60 Hypophysen. Um den weltweiten Jahresbedarf von ca. 3 kg zu decken, benötigt man 600'000 Hypophysen aus ebenso vielen Leichen. Diese Art der Gewinnung ist nicht nur unangenehm und teuer, sondern birgt auch erhebliche Infektionsgefahren.
Dank der Gentechnik konnte das DNA-Teilstück, welches das Gen für dieses Protein enthält, aus den menschlichen Zellen isoliert und in die DNA eines Bakteriums eingefügt werden. Die damit ausgerüsteten Bakterien stellen das menschliche Wachstumshormon her und können in einem grossen Bioreaktor* gezüchtet werden, wodurch eine gefahrlose, saubere Produktion möglich wird.

Tiere statt Bakterien?

Heute werden heute nicht mehr nur Bakterien verwendet, um gewünschte Proteine in dieser Art herzustellen, sondern auch andere Mikroorganismen werden als Expressionssysteme eingesetzt. In vielen Fällen ist man dazu übergegangen, die DNA-Stücke in das Genom* von *Säugetierzellen* einzubauen und diese dann wie Mikroorganismen in Bioreaktoren zu züchten.
In neuerer Zeit wird sogar davon gesprochen, ganze Tiere als Expressionssysteme einzusetzen. So können zum Beispiel auch die Zellen im Euter einer Kuh mit den nötigen DNA-Stücken oder Genen ausgerüstet werden, worauf diese Zellen dann das gewünschte Protein in die Milch absondern. Dieser auf sogenannten *transgenen* Tieren* beruhende Ansatz kann Sinn machen, wenn die Produkte direkt mit der Milch oral eingenommen werden können. Ob sich dieses Verfahren trotz vieler technischer Schwierigkeiten und gegen ethische Bedenken wird durchsetzen können, bleibt abzuwarten.

Im Menschen selber

Die *somatische Gentherapie,* ein Randgebiet der Biotechnologie, macht den Menschen selber zum Expressionssystem. Einem Patienten, der infolge eines genetischen Defektes ein lebenswichtiges Protein nicht herstellen kann, setzt man mit geeigneten Methoden die nötigen Gene in einige seiner betroffenen Zellen ein, so dass sie den fehlenden Faktor synthetisieren können.

Umrüsten von Pflanzen

Die bisher aufgeführten Beispiele zielen mehrheitlich auf die Herstellung bestimmter Proteine ab. Wenn einem Organismus Gene für neue Enzyme eingesetzt werden können, lassen sich aber auch Zellen mit neuen Stoffwechselwegen erzeugen. Im Prinzip ist es dadurch möglich, Pflanzen genetisch so auszurüsten, dass sie ihre eigenen Biopestizide herstellen können und dadurch gegen bestimmte Schädlinge resistent werden.
Der berühmten "Flavr Savr Tomate" wurde das Gen für ein Enzym aus der DNA herausgeschnitten, das für Abbaureaktionen in der reifen Tomate zuständig ist. Solche Tomaten können in späterem, reiferem Zustand geerntet werden und enthalten auch nach Transport und Lagerung mehr Aroma. Die bei der Entwicklung solcher *transgener Pflanzen* früher oder später not-wendigen Freilandversuche erregen in der Schweiz erheblichen Widerwillen.

Ausserhalb lebendiger Zellen

Aber auch Enzyme in Mikroben können durch Veränderungen an der DNA eingefügt, ausgewechselt oder abgeändert werden. Dadurch lassen sich Mikroorganismen oder auch einzelne Enzyme für bestimmte Aufgaben optimieren. Die *Enzymtechnologie* beschäftigt sich damit, solche Enzyme durch Züchtung der Mikroorganismen in grosser Menge herzustellen und jene dann gereinigt, ohne lebendige Zellen mit Erbgut, für biotechnologische Umwandlungen einzusetzen. Der Einsatzbereich solcher Enzyme ist ausserordentlich gross, von der Käseherstellung (Labenzym) zur Diagnostik (z.B. Blutzuckerspiegel), von der Zuckerherstellung (Glucose aus Stärke durch α-Amylase [Stärke ----> Dextrine], Amyloglucosidase [Dextrine ----> Fructose + Glucose] und Glucose-Isomerase [Fructose ----> Glucose]) bis zum Alltagswaschmittel (Bsp. Migros: Elan, Minil).

Herausforderung für die Ingenieure

Obschon man im Zusammenhang mit Biotechnologie zuerst an das Manipulieren der in der DNA vorhandenen biologischen Information denkt, spielen aber bei der praktischen Umsetzung insbesondere die *Ingenieurwissenschaften* eine zentrale Rolle. Es genügt bei weitem nicht, die DNA zu rekombinieren und nachzuweisen, dass ein gewünschtes Protein exprimiert wird.
Um nützliche Mengen davon zu realistischen Preisen herstellen zu können, müssen die Kulturen in grossem Massstab auf effiziente Weise angesetzt werden können. Dies bedingt intensive und *zeitraubende Optimierungen* der betreffenden Kulturen und Prozesse. Ein grosser

Arbeitsaufwand muss normalerweise auch geleistet werden, um Verfahren zur *Isolierung der Produkte* aus den Zellen oder der Kulturbrühe in technischem Massstab auszuarbeiten, welche die Kontamination* des Endpräparats mit gefährlichen biologischen Agenzien (z.B. Viren, die als "Gentaxi" eingesetzt wurden) mit Sicherheit ausschliessen. Der *Bau von Bioreaktoren* und anderer bintechnologischer Apparate erfordert hochqualifizierte Präzisionsarbeit und ist deshalb eine in der Schweiz gut vertretene Industrie.

Miniglossar

Bioreaktor	auch: Fermenter. Behälter, in dem die jeweiligen Mikroorganismen bzw. Zellen, chemisch aktiven Zellbruchstücke oder Enzyme eingesetzt werden, um bestimmte Stoffe in industriellem Massstab herzustellen.
Biotechnologie	Biotechnologie ist die vernetzte Verwendung von Biochemie, Mikrobiologie und Ingenieurwissenschaften zur technischen Anwendung des Potentials, das Mikroorganismen, kultivierten Gewebezellen und deren Teilen innewohnt.
Desinfektion	Abtötung oder drastische Verminderung bestimmter infektionserregender Mikroorganismen.
Expression	Umsetzung genetischer Information in eine Ribonukleinsäure (RNA) oder ein Protein.
Fermentation	Vom lat. fermentum = Gärung abgeleiteter Ausdruck, mit dem heute die Gesamtheit aller Reaktionen in einer Massenkultur von Mikroorganismen umfassen (Substratverbrauch, Erzeugung von Bio-polymeren, Endprodukten).
Genom	Der gesamte Chromosomen-Satz eines Organismus, resp. die Gesamtheit der auf allen Chromosomen bzw. DNA lokalisierten Gene.
Gentechnik	Verfahren zur Neukombination von Erbinformation (Genen) durch direkten Eingriff in die Erbsubstanz (DNA) mit biochemischen Methoden.
Hypophyse	Haselnussgrosse Hirnanhangsdrüse am Boden des Zwischenhirns; produziert verschiedene Hormone (Hypophysenhormone: z.B. Somatotropin [STH], follikelstimulierendes Hormon [FSH]), bzw. speichert Hypothalamushormone (Vasopressin [Einfluss auf Wasserrückgewinnung in Nierennephronen, u.a.], Oxytocin [bewirkt u.a. Kontraktion der Gebärmuttermuskulatur]).
Kontamination	Verunreinigung mit unerwünschten Stoffen (Bsp. Schadstoffe) bzw. mit Mikroorganismen (Bsp. Lebensmittel mit Staphylokokken), jedoch ohne das Eindringen in den Organismus.
mRNA	messenger-RNA oder Boten-RNA: RNA, die eine Kopie eines DNA-Stranges darstellt. Ihre Information wird in die Aminosäurereihenfolge eines spezifischen Proteins umgesetzt.
Pasteur	Louis Pasteur (1822-1895). Neben dem Deutschen Robert Koch der erste bedeutende Erforscher der Infektionskrankheiten und ihrer Bekämpfungsmethoden. Widerlegte die angebliche Urzeugung in faulenden Subsatnzen, erkannte 1865 lebende Hefezellen und andere Mikroorganismen als Ursache der Gärung, führte die Pasteurisierung als Konservierungsmethode und ab 1881 die Schutzimpfung mit abgeschwächten Krankheitserregern gegen Milzbrand, Tollwut u.a. ein.
Pathogen	krankmachend.
Sterilisation	Abtötung aller Mikroorganismen (Protozoen, Pilze, Bakterien, Viren), insbesondere auch der bakteriellen Sporen.
Transgen	Transgene Organismen: Organismen, die in ihrem Genom fremde DNA enthalten, die durch die modernen Methoden der Gentechnologie eingeführt wurde.
Transkription	Abschrift. Synthese von mRNA (Boten-RNA): "Abschreiben" der DNA in RNA zum Zweck der Proteinsynthese. Da sich die DNA bei eukaryontischen Zellen (Zellen mit echtem Zellkern, Bsp. Mensch, Tier, Pflanze) im Zellkern befindet und zahlreiche Gene enthält, die Proteinsynthese aber im Zellplasma stattfindet, wird eine Botensubstanz gebildet, welche die Information für bestimmte Gene aus dem Zellkern in das Zellplasma transportiert.
Translation	Übersetzung der mRNA an den Ribosomen in die Proteine.
tRNA	Transfer-RNA: kleine RNA-Moleküle, die während der Proteinbiosynthese je eine ganz spezifische Aminosäure aus dem Cytoplasma zu den Ribosomen heranschleppen.