

FEINCHEMIKALIEN

Feinchemie braucht Weiße Biotechnologie

Dr. Marc Struhalla und Carsten Fietz, c-LEcta GmbH, Leipzig

Die Nutzung biotechnologischer Verfahren für industrielle Anwendungen außerhalb der Bereiche der Medizin und der Pflanzenzucht, das ist die Weiße Biotechnologie. Sie kann in die Bereiche Bioprozesse (Biokatalysatoren), Bioprodukte (z.B. Enzyme) und Biorohstoffe (z.B. Zucker und Öle) unterteilt werden. Es zeigt sich, daß dieser älteste Bereich der Biotechnologie – zu dem auch klassische industrielle Prozesse wie Bierbrauen oder Käseproduktion gezählt werden – enormes Potential ganz besonders in der chemischen Industrie besitzt. Dokumentiert wird dies durch aktuelle Bekenntnisse deutscher Chemiekonzerne wie etwa der BASF AG oder der Degussa AG, die beide verstärkt auf Weiße Biotechnologie setzen (vgl. S. 21) oder großen Erfolgen, die die niederländische DSM in diesem Bereich erzielt. Nach dem Aufkommen der Grünen sowie der Roten Biotechnologie spricht man hier von der dritten Welle der Biotechnologie.

In ihrem Zentrum steht die Biokatalyse, worunter man die Nutzung von Enzymen oder mikrobiellen Zellen zur Produktion von Feinchemikalien versteht. Dieser Bereich der chemischen Industrie entwickelt sich zunehmend zu einem unersetzba-

ren Teil des methodischen Inventars der synthetischen Chemie. Die Frage, wie mit Hilfe biotechnologischer Methoden neue enzymatische Synthesen entwickelt werden können, steht dabei im Zentrum.

Wandel der chemischen Industrie birgt großes Potential

Vor dem Hintergrund der zunehmenden Globalisierung und der einhergehenden Wettbewerbsintensivierung steht die chemische Industrie vor einem Umbruch, welcher durch einen steigenden Kosten- und Innovationsdruck gekennzeichnet ist. Ein Ausweg oder viel besser die Lösung wird in der Weißen Biotechnologie gesehen. Hieraus folgend gehen Studien von einer enormen Zunahme biotechnologischer Verfahren in der chemischen und pharmazeutischen Industrie aus. In Abbildung eins wird deutlich, daß in dem bis 2015 moderat wachsenden chemischen Markt der Anteil biotechnologischer Verfahren stark überdurchschnittlich zunimmt.

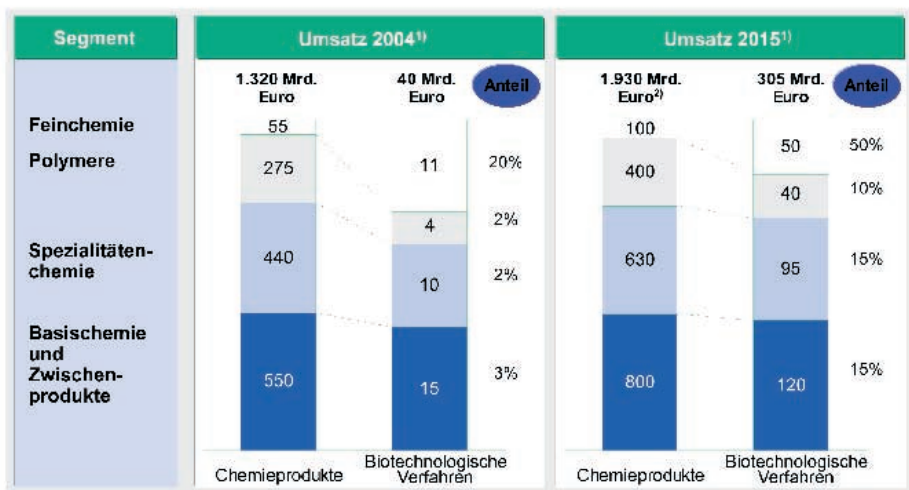
Im Jahr 2004 beruhten lediglich 3% des Gesamtumsatzes auf biotechnologischen Verfahren. 2015 werden nach Schätzungen

von Festel Capital bereits rund 15% der Umsätze auf biotechnologische Verfahren zurückzuführen sein. Betrachtet man die einzelnen Bereiche der chemischen Industrie, so wird schnell ersichtlich, daß die Zweige der Fein- und Spezialchemikalien besonders attraktiv für biotechnologische Applikationen sind. Es wird prognostiziert, daß sich der Markt für Feinchemikalien in diesem Zeitraum verdoppelt, der entsprechende Anteil der biotechnologischen Verfahren jedoch von 20% oder 11 Mrd. US-\$ auf 50% oder 50 Mrd. US-\$ steigt.

Feinchemikalien zeichnen sich durch einen hohen Funktionalisierungsgrad aus, der durch mehrere chemische Reaktionszentren und häufig durch Chiralität gekennzeichnet ist. Bei der oft komplexen und mehrstufigen Synthese dieser komplexen Strukturen erlaubt der Einsatz von Biokatalysatoren – vor allem der von Enzymen – Ressourcen- und Energieeinsparungen gegenüber der klassischen chemischen Produktion. Diese Vorteile werden das Marktvolumen von Biokatalysatoren für die breite Anwendung in der chemischen Industrie für das Jahr 2006 bereits auf prognostizierte 26 Mrd. US-\$ wachsen lassen.

Neue Systemlösungen

Auf der einen Seite haben biotechnologische Verfahren das Potential, klassisch chemische Verfahren zu substituieren – vor allem durch geringeren Materialverbrauch, geringere Investitions- und Entsorgungskosten sowie einen geringeren Energieverbrauch. Auf der anderen Seite bietet die Weiße Biotechnologie aber auch eine Basis für neue Produkte und Systemlösungen. An dieser Stelle sind vor allem Enzyme mit ihrer sehr guten Enantioselektivität zu nennen. Denn Enzyme sind aufgrund eigener Chiralität in der Lage, Produktsynthesen mit hoher Enantioselektivität zu katalysieren. Das ist auch in der pharmazeutischen Industrie von erheblichem Interesse, da derzeit in neun von zehn neuen Arzneimitteln (FINANCIAL TIMES DEUTSCHLAND, 7.07.05) chira-



1) Welt-Chemieumsatz ohne Pharmaumsatz, aber inklusive Vorprodukte, die bei Chemieunternehmen hergestellt werden (Quelle: CEFIC)

2) Hochrechnung bei einem durchschnittlichen Wachstum des Welt-Chemieumsatzes von 3,5% p.a.

Abb. 1: Entwicklung des Anteils biotechnologischer Verfahren an der Gesamtproduktion chemischer Produkte, aufgeteilt nach Produktgruppen

le Verbindungen enthalten sind. Die großen Möglichkeiten der Nutzung von Enzymen für die asymmetrische Synthese von Chemikalien liegen auch in der enormen Diversität an enzymatischen Aktivitäten begründet, die die Natur zur Verfügung stellt. Darüber hinaus bietet die moderne Gentechnologie die Möglichkeit, Enzym-Eigenschaften durch Engineering zu optimieren. Die zukünftige Anwendung der Biokatalyse wird ausschließlich limitiert durch die Verfügbarkeit entsprechender Biokatalysatoren. Ein wichtiger Erfolgsfaktor ist zudem die Dauer der Entwicklungszeit biotechnologischer Anwendungen im Vergleich zu Alternativen im Bereich der chemischen Synthese.

Screening: Genotyp und Phänotyp entkoppelt

Obwohl sich anders als in der Roten Biotechnologie, die Aktivitäten weniger in Start-ups als in Weltkonzernen abspielen, gibt es doch auch kleine und mittelständische Unternehmen in diesem Bereich. Eines davon ist die c-LEcta GmbH. Das in Leipzig ansässige Unternehmen kann eingebettet in ein breites Netzwerk (www.chiralis.de) die gesamte Palette technologischer Kompetenzen abdecken, die nötig sind, um aus natürlichen Biokatalysatoren effiziente Werkzeuge der Industrie zu machen: Von der Identifikation neuer Enzyme in der Natur, der Optimierung von Enzym-Eigenschaften mit Hilfe von Enzym Engineering bis zur effizienten Produktion dieser Biokatalysatoren.

Immer wenn neue enzymatische Aktivitäten benötigt werden, steht man vor der Herausforderung, daß komplexe Enzym-Bibliotheken durchmustert werden müssen. Unabhängig von der Art der DNA-Bibliotheken – ob genomisch, metagenomisch oder künstlich erzeugt – die Screening-Effizienz und -Geschwindigkeit sind die entscheidenden Erfolgsfaktoren.

Hoher Grad an Automatisierung

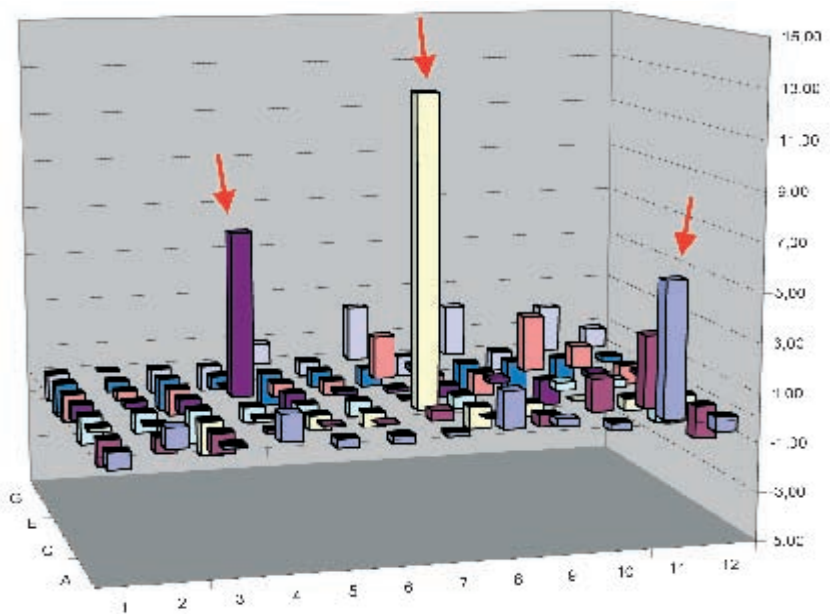
Die bisherige State-of-the-art-Technologie um dieser Herausforderung zu begegnen sind Hochdurchsatz-basierte Techniken (High-Throughput Screening – HTS) welche auf der Analyse vereinzelter Enzym-Varianten oder Klonen basieren. Diese Techniken benötigen einen hohen Grad an Automatisierung und Miniaturisierung, welche mit hohen Kosten und geringer Flexibilität verbunden ist. Neben HTS werden *in vivo*-Screenings verwendet, bei denen die Überlebensfähigkeit der Wirtsorganismen an eine bestimmte enzymatische Aktivität gekoppelt wird. Des weiteren kommen Agarplattenassays

zum Einsatz, bei denen eine Hofbildung um Kolonien eine gesuchte Enzymaktivität anzeigen. Beide letztgenannten Ansätze sind allerdings nur in Spezialfällen einsetzbar.

Dogma gebrochen

Sämtliche etablierten Methoden basieren bisher auf der Kopplung von Geno- und Phänotyp mit der Konsequenz, daß nur individuelle Proben gescreent werden können. C-LEcta Cluster-Screening bricht mit diesem Dogma und erlaubt eine partielle Entkopplung von Geno- und Phänotyp. Die hohe Sensitivität entwickelter Enzym-Assays,

scher kultiviert, exprimiert und gescreent werden, ohne die Notwendigkeit auf komplexe Labor-Automation zurückgreifen zu müssen. Zum Beispiel erlaubt das Verfahren das Screenen Tausender mikrobieller Genome in wenigen Tagen (vgl. Applikationsbeispiel). Das Cluster-Screening ist somit sehr robust und sehr flexibel. Es ist kompatibel mit Protein-Tag-Strategien und erlaubt den Einsatz einer großen Spanne von Enzym-Assays basierend auf Absorption, Fluoreszenz, HPLC, GC- oder Massenspektrometrie. Mit Hilfe des Verfahrens werden neue Enzyme identifiziert und künstliche Enzym-Bibliotheken nach optimierten Enzym-Varianten durchmustert. C-LEcta verwendet



Genom-Screening mit Hilfe der Cluster-Technologie von c-LEcta: Die genomische DNA von neun *Pseudomonas sp* wurde isoliert und daraus eine Genombank erstellt. 100.000 Klone wurden auf einer 96-Well-Platte auf Acetoacetat-abhängige Aktivität durchmustert. Drei eindeutige Hits (Pfeile) wurden identifiziert und konnten einer Alkoholdehydrogenase aus *Pseudomonas putida* zugeordnet werden.

kombiniert mit effizienten rekombinanten Expressionsystemen, erlauben, daß im Cluster-Screening Hunderte bis zu Hunderttausende Enzyme gleichzeitig analysiert werden können. Individuelle Enzym-Varianten werden dann in einem etablierten Vereinzelungsregime erhalten und können schließlich charakterisiert werden. Das Cluster-Screening arbeitet während des gesamten Prozesses zu keinem Zeitpunkt mit einzelnen Klonen bis die Vereinzelung abgeschlossen ist. Enzym-Bibliotheken mit Komplexitäten von bis zu 10^8 werden produziert, amplifiziert und aufbewahrt und können dann beliebig nach unterschiedlichen Enzym-Aktivitäten durchmustert werden. Das Verfahren kommt somit komplett ohne die Verwendung von Agarplatten aus. Millionen von Klonen können von einem einzelnen For-

mehr als 30 Expressionsysteme, um im Anschluß die applikationsreifen Enzyme effizient und kostengünstig zu produzieren.

In der chemischen Industrie wurde unterdessen eine große Reihe biokatalytischer Prozesse industriell umgesetzt: Von der biokatalytischen Synthese von Bulk Chemikalien bis hin zur Produktion von enantioselektiv anspruchsvollen chiralen Building-Blocks für die Produktion hochaktiver Pharmazeutika. Nichtsdestotrotz steht die Weiße Biotechnologie vor der großen Herausforderung, Methoden und Verfahren zu entwickeln und umzusetzen, um effizient und schnell neue Biokatalysatoren für neue Prozesse bereitzustellen. Gelingt dies, wird sich das erhebliche Potential der Weißen Biotechnologie noch deutlicher offenbaren. ■