



RFT-Projekt: Angewandte Biokatalyse und enzymatische Nanoanalytik

Applied Biocatalysis and Enzymatic Nanoanalytics

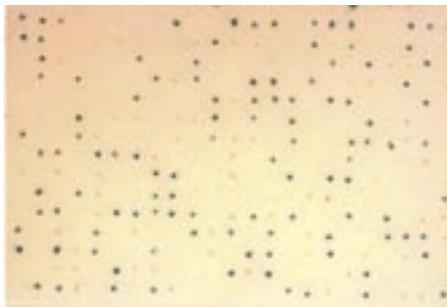
Biokatalysatoren, die Enzyme, steuern Reaktionen innerhalb und außerhalb der Zellen eines lebenden Organismus. Die Umsetzungen verlaufen mit hoher Selektivität und naturgemäß unter physiologischen Bedingungen. Es ist möglich, diese Katalysatoren auch zur Steuerung von Vorgängen einzusetzen, die nicht in der Natur sondern im Laboratorium, der Klinik oder in der industriellen Technik ablaufen. Obwohl diese Anwendung der Enzyme seit längerer Zeit bekannt ist, hat erst in den letzten Jahren eine intensive Beschäftigung mit dieser Thematik eingesetzt, die zu zahlreichen industriellen und auch klinischen Anwendungen geführt hat. Für Österreich werden Forschungsarbeiten auf diesem sich sehr rasch entwickelnden Gebiet vorzugsweise vom Kompetenzzentrum Angewandte Biokatalyse durchgeführt.

In Anbetracht der großen Bedeutung der Biokatalyse ist es notwendig, hier die Entwicklungen rasch voranzutreiben. Es gilt, eine Vielzahl von Daten zu gewinnen und diese entsprechend auszuwerten. Um dies zu ermöglichen, ist die Beherrschung von drei Arbeitstechniken notwendig, die im Rahmen des vorliegenden Projektes angewendet werden:

Arbeitstechniken

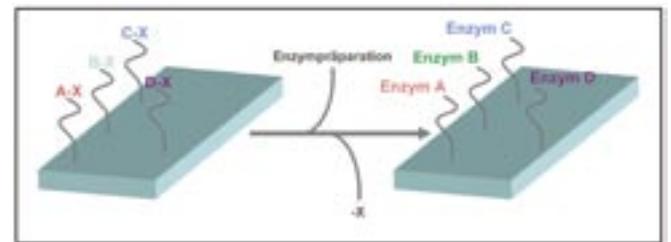
1.) Eine Miniaturisierung der Methodik führt zur Entwicklung von Mikro- und Nanotechnologien. Diese ermöglichen es, bei einem Minimalaufwand von Probenmaterial in kurzer Zeit eine Vielzahl von Proben zu bearbeiten und zu untersuchen. Dies betrifft

- ein Screening von Enzymen, die mit den Methoden der molekularen Biotechnologie erhalten werden, um den bestgeeigneten Biokatalysator zu finden. Dies erfolgt über eine geeignete Anordnung der zu untersuchenden Proben (Array-Techniken), wobei in der Regel 96 Proben gleichzeitig untersucht werden. Es sind jedoch auch Anordnungen mit über 1000 und mehr Probefeldern möglich;
- die Entwicklung von Chiptechnologien für die Analytik und medizinische Diagnostik. Hier sind auf einem Träger („Chip“) eine Vielzahl von verschiedenen Reagenzienpunkten angeordnet, sodass eine gleichzeitige Gewinnung von Analysendaten möglich ist.



Microarray zur Bestimmung von Enzymenaktivitäten

- 2.) Den Einsatz von Robotern. Diese werden einerseits verwendet
- um die Vielzahl der Analysenpunkte und Träger anzubringen.
 - Andererseits ist ein weiterer wichtiger Bereich die Anwendung in der die biokatalytischen Untersuchungen begleitenden organischen Synthese. Auf diese Weise ist es möglich, eine zeitökonomische Optimierung der Versuchsparameter zu erzielen.



Mikroarray spezifischer Molekülsonden für die simultane Bestimmung verschiedenartiger Enzyme in einer Probe.

3.) Das Vorhandensein eines entsprechenden Auswertesystems, um mit der Array- bzw. Chiptechnologie erhaltene Daten auswerten zu können.

Die Chiptechnologie in der Enzymanalytik

In einem definiertem Array sind Enzyme oder ihre spezifischen Reaktions- oder Bindungspartner („Biospezifische Sonden“) auf einer geeigneten Unterlage angeordnet

Wird ein derartiger Chip mit einer Probe in Kontakt gebracht, binden nur die Moleküle, die mit den vorhandenen Spots in einem Array spezifisch wechselwirken. Werden die Sonden auf dem Chip oder die Moleküle einer Analysenprobe mit einem Fluorophor geeignet vormarkiert, kann aus dem Fluoreszenzmuster des Biochips auf Art, Menge und Bindung der gebundenen Probenmoleküle geschlossen werden.

Weitere Projektbereiche

Biologisch adressierbare optische Nano- und Mikrosensoren

Im Gegensatz zur Chiptechnologie sind hier die Sensoren Nano- bzw. Mikropartikel (winzige Kügelchen). Die Oberfläche ist modifiziert, sodass diese als Sonden an der Oberfläche von Zellen andocken können und es damit beispielsweise gestatten, hier die Sauerstoffkonzentration zu messen, ein für biologische Vorgänge äußerst wichtiger Parameter

Biokatalytische Synthese

Mit Hilfe von Enzymen ist es möglich, Synthesen von Wirkstoffen für Arzneimitteln oder Agrochemikalien höchst selektiv und ohne Belastung der Umwelt durchzuführen.

Modifikation der Oberfläche von Kunststoffen und Fasern

Eine Veränderung der Oberfläche von Kunststoffen und Fasern ist für die anwendungstechnischen Eigenschaften von größter Bedeutung. Es gelingt, diese Veränderung mit biokatalytischen Methoden durchzuführen, dadurch eine besonders schonende und umweltfreundliche Prozessführung möglich ist.

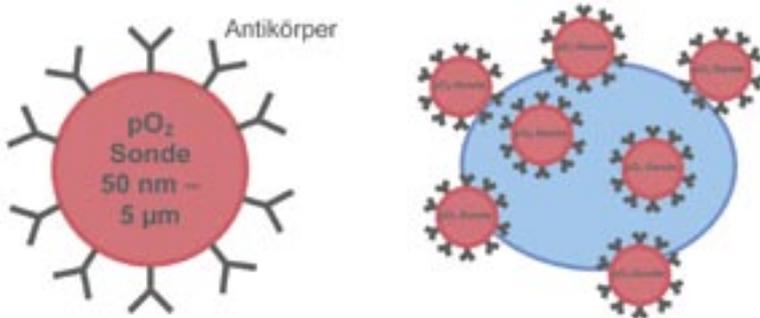
Entwicklung von Enzymen mit Methoden der molekularen Biotechnologie

Die Auffindung neuer Enzyme und die anwendungstechnische Optimierung ihrer Eigenschaften ist eine Voraussetzung für die Schaffung von biokatalytischen Verfahren von potenzieller industrieller Bedeutung.

Analytische Charakterisierung von Biokatalysatoren und biokatalytischen Reaktionen

Um Aussagen über die Strukturen der Biokatalysatoren, den Verlauf der biokatalytischen Reaktionen und die Art der Reaktionsprodukte zu erhalten, ist das Vorhandensein einer leistungsfähigen Analytik eine Voraussetzung. So wurden im Kompetenzzentrum die Möglichkeiten geschaffen, diese Analysen entsprechend dem apparativen Stand der Technik durchführen zu können.

Weitere Informationen: www.applied-biocat.at



Ein sauerstoffsensitives Mikro- oder Nanopartikel, das an der Oberfläche Antikörper trägt (links) dockt an eine Zelle an und ermöglicht die Messung des Sauerstoff-Partialdrucks an der Zelle

Applied Biocatalysis and Enzymatic Nanoanalytics

Biocatalysts or 'enzymes' control reactions in- and outside cells of living organisms. The reactions are highly selective and normally happen under physiological conditions. However, it is also possible to use catalysts to control processes in laboratories, clinics and industrial technology. Although this aspect has been known for quite some time, only the past few years brought a thorough occupation with it leading to a series of industrial and clinical applications. In Austria, research work in this rapidly growing area is primarily conducted by the Research Center for Applied Biocatalysis.

Given the great importance of biocatalysis it is necessary to rapidly advance the developments in this field. An enormous amount of data has to be collected and interpreted. In order to succeed, three working techniques are required in the present project:

- 1) The development of micro- and nanotechnologies by miniaturization of the methodology. This enables us to investigate a multitude of samples in a short time with a minimum input of sample material,*
- 2) the use of robots,*
- 3) the development and use of an analytical system in order to analyze the data gained by array- or chip technology.*

Current Projects

- *Application of chip technology for enzyme analyses, especially for diagnostic use*
- *Biologically addressable optical nano- and microsensors*
- *Biocatalytic synthesis*
- *Modification of the surface of plastic materials and fibers*
- *Development of enzymes using molecular biotechnology*
- *Analytical characterization of biocatalysts and biocatalytic reactions*