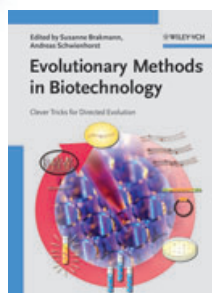




Evolutionary Methods in Biotechnology



Clever Tricks for Directed Evolution. Herausgegeben von **Susanne Brakmann** und **Andreas Schwienhorst**. Wiley-VCH, Weinheim 2004. 214 S., geb., 129.00 €. — ISBN 3-527-30799-0

Derzeit besteht ein zunehmendes Interesse an neuen industriellen Enzymen, die Prozesse unter den verschiedensten Reaktionsbedingungen katalysieren können. Gefragt sind z. B. langzeitstabile und langzeitaktive Enzyme, oder aber solche, die in nichtwässrigen Medien aktiv sind oder Umsetzungen nichtnatürlicher Substrate effizient katalysieren. Ein „rationales“ Design durch ortsgerichtete Mutagenese erfordert zum einen die Kenntnis der dreidimensionalen Proteinstruktur, zum anderen muss vorausgesehen sein, ob der Austausch einer Aminosäure den gewünschten Effekt bewirkt. Trotz zahlreicher Studien zur Proteinfaltung und den kinetischen Eigenschaften von Proteinen gibt es keine allgemeine Vorgehensweise für ein erfolgreiches De-novo-Proteindesign oder eine rationale Abänderung der Substratspezifität. F. H. Arnold konstatierte in diesem Sinne, dass der Ansatz, „*Methoden des rationalen Designs zur Gewinnung nutzbringender Proteine einzusetzen, kläglich gescheitert ist.*“

In den 80er Jahren kamen neben der „rationalen“ Vorgehensweise andere Methoden des Proteindesigns auf. Man begann sich an der natürlichen Evoluti-

on zu orientieren, die durch Mutation eine große Zahl von Abarten hervorbringt und durch Auslese die tauglichste selektiert. Der darwinistische Evolutionsprozess kann im Labor mit Standardmethoden der Molekularbiologie wie Mutation/Rekombination und Screening/Selektion nachgeahmt werden. Mit solchen Methoden der „gerichteten Evolution“ lassen sich Biomoleküle wie Enzyme mit neuen Eigenschaften schnell und direkt zugänglich machen. Ein Verständnis der komplexen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen oder die Kenntnis der Enzymstruktur und des katalytischen Mechanismus ist nicht notwendig.

Vor diesem Hintergrund kam der Erfolg des von Kai Johnsson und Susanne Brakmann 2002 herausgegebenen Buchs *Directed Evolution of Proteins* (Wiley-VCH), in dem neben Techniken der gerichteten Evolution die Erzeugung und Charakterisierung von Genbibliotheken, Hochdurchsatz-Screening und hybride rechnergestützte Optimierungsstrategien beschrieben werden, nicht überraschend. Dem nun vorliegenden Nachfolgewerk *Evolutionary Methods in Biotechnology* dürfte ohne Zweifel ähnlicher Erfolg beschieden sein, und das zurecht. Das Buch enthält eine vollständige Sammlung aller Schlüsselmethoden der gerichteten Evolution, die derzeit in der Forschung angewendet werden. Die Verfahren werden Schritt für Schritt beschrieben, ergänzt durch zahlreiche Tipps und Tricks („Troubleshooting“) zu den Experimenten. Die Angaben sind für Neulinge auf dem Gebiet ebenso nützlich wie für erfahrene Forscher. In Anbetracht der raschen Verbreitung der Methoden der gerichteten Evolution in der Biotechnologie kommt dieses Buch genau zur rechten Zeit.

Evolutionary Methods in Biotechnology ist, wie die Herausgeber in der Einführung feststellen, als „Kochbuch“ konzipiert, das detaillierte „Rezepte“ für gerichtete evolutionäre Experimente bereitstellt. Da Methoden der gerichteten Evolution in zahlreichen Forschungsbereichen verwendet werden, ist es naheliegenderweise nicht einfach, in einem Multiautorenwerk begrenzten Umfangs alle Interessen hinlänglich zu berücksichtigen. Folglich werden einige Themen ausgelassen, z. B. die Anwen-

dung der gerichteten Evolution in der Botanik (etwa zur Erzeugung von Insekten- und Herbizidtoleranz oder zur Krankheitsbekämpfung), bei Screening-Techniken als Methode zur Gewinnung von wirksameren Impfstoffen und Therapeutika mit therapeutischen Kurzzeit- oder Langzeiteffekten oder beim Screening von Proteinbibliotheken auf lösliche Varianten. Diese und verwandte Themen, die zweifellos für eine breite Leserschaft von großem Interesse sind, könnten in künftigen Ausgaben ihren Platz finden.

Das Buch lässt sich in vier Themenbereiche einteilen: Erzeugung von Genbibliotheken, Selektions- und Screening-Techniken, rechnergestützte Methoden und Patentierung in der Biotechnologie. Das der Einführung folgende Kapitel 2 von S. Brakmann und B. F. Lindemann enthält eine kurze allgemeine Zusammenfassung einfacher Anleitungen zur Erzeugung molekularer Diversität durch Zufallsmutagenese oder gezielt erzeugte Mutantenstämme. Im 3. Kapitel beschäftigen sich H. Suenaga, M. Goto und K. Furukawa mit Methoden des DNA-Shufflings zur Erzeugung von Diversität durch DNA-Rekombination aus Einzelgenen, während M. Nin-kovic im 4. Kapitel die verbreitete StEP-Variante mit ihrem einfachen Experimentalprotokoll vorstellt.

Die Kapitel 5 und 6 behandeln aktuelle Entwicklungen bei Selektions- und Screening-Techniken. Zunächst beschreiben T. M. Adams, H. U. Schmoldt und H. Kolmar die Methode des FACS-Screenings von kombinatorischen Peptid- und Proteinbibliotheken an Oberflächen von Mikroorganismenzellen, wodurch große Molekülsammlungen (normalerweise mehr als 10^{10}) gerastert werden können, und im Anschluss stellt P. Soumilion Phagen-Display-Techniken unter Verwendung von Suizidsubstraten vor.

Methoden und Anleitungen zum Screening und zur Selektion von Selektionsaptameren, d. h. targetbindenden Nucleinsäuren, finden sich in Kapitel 7 von H. Fickert, H. Betat und U. Hahn. In Kapitel 8 beschreiben B. J. Holley und B. E. Eaton die Selektion von RNA-Katalysatoren mit bestimmten Funktionen aus einem großen Pool von Zufallssequenzen.

Natürliche, aus der biologischen Evolution hervorgegangene Enzyme katalysieren eine bestimmte Reaktion in der Regel hoch spezifisch und enantioselektiv. Sie sind optimal an ihre physiologische Aufgabe angepasst, für industrielle Prozesse aber hinsichtlich Aktivität und Stabilität oft kaum geeignet. M. T. Reetz berichtet in Kapitel 9 über Hochdurchsatz-Methoden zum Design von Enzymen mit maßgeschneiderter Enantioselektivität für Anwendungen in der industriellen Produktion.

In Kapitel 10 präsentieren D. Tomandl und A. Schwienhorst ein Computerprogramm, das einen gewünschten Targetsatz von Aminosäuren „zurückübersetzt“ und dazu dient, Moleküle mit gewünschten Eigenschaften in großen Substanzbibliotheken zu identifizieren. Dem Buch liegt eine CD-ROM mit Ergänzungsmaterial zu den computerorientierten Kapiteln 10–12 bei.

Ein wichtiger Aspekt in der Biotechnologie ist die Kommerzialisierung der durch gerichtete Evolution synthetisierter Enzyme, Proteine und katalytisch aktiven Biomoleküle, weshalb in diesem Forschungsbereich der Patentschutz von Methoden und Materialien eine große Rolle spielt. Vor diesem Hintergrund ist die Aufnahme des Kapitels 13 (M. Leimkühler und H. W. Meyers), das die Grundzüge des Patentrechts erläutert und praktische Hinweise zur Patentierung gibt, sehr zu begrüßen.

Fazit: *Evolutionary Methods in Biotechnology* ist gleichermaßen ein überaus praktisches Handbuch, ein „must have“ für Wissenschaftler, die sich mit der gerichteten Evolution von Proteinen beschäftigen, und ein methodenorientiertes „Kochbuch“ von höchster Qualität.

Nediljko Budisa

Junior Research Group

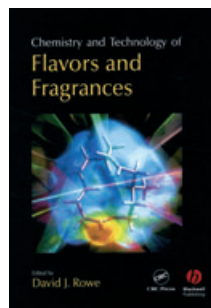
„Molecular Biotechnology“

Max-Planck-Institut für Biochemie

Martinsried

DOI: 10.1002/ange.200285223

Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances



Herausgegeben von David J. Rowe.
Blackwell, Oxford
2005. 352 S., geb.,
95.00 £.—ISBN
1-4051-1450-9

Die Vergabe des Nobelpreises für Physiologie oder Medizin 2004 an Richard Axel und Linda Buck für Entdeckungen im Bereich der Geruchsrezeptoren und der Organisation des Geruchssinns ist ein perfekter Zeitpunkt, um ein Buch über die Chemie und Technologie von Geschmacks- und Geruchsstoffen zu veröffentlichen. Dies gilt umso mehr, als es die Absicht des Buches ist, eine allgemeine Einführung in die Chemie der Aromastoffe zu geben und sich an Leser zu wenden, die weniger gut mit dem Gebiet vertraut sind, wie etwa Studenten oder Wissenschaftler aus anderen Industriezweigen. Die Monographie umfasst 13 Kapitel unterschiedlicher Autoren – und auch recht unterschiedlicher inhaltlicher Qualität –, die jeweils spezielle Aspekte der Parfüm- und Aromenindustrie abdecken.

Die Organisation des Buches basiert im Wesentlichen auf Molekülstrukturen, weshalb es grundlegende Kenntnisse in organischer Chemie voraussetzt. Ein eher allgemein gehaltenes Kapitel (Kapitel 4) umfasst Aromachemikalien, die aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff zusammengesetzt sind, was für fast alle Verbindungen in der Parfüm- und Aromenindustrie zutrifft. Die Verbindungen sind nach funktionellen Gruppen geordnet, mit kurzen Angaben zu ihrem Ursprung und ihrer Herstellung, einigen Geruchseigenschaften, ihrer Verwendung sowie möglichen Problemen. Zusätzliche Literaturangaben für eine vertiefende Lektüre hätten diese Übersicht sinnvoll ergänzen können.

Neben der Einteilung von Verbindungen nach ihren chemischen Funktionen werden Aromastoffe oft auch in Familien mit ähnlichen Geruchseigen-

schaften geordnet. Ein gutes Beispiel sind die Moschusverbindungen, die didaktisch gut aufbereitet in Kapitel 7 beschrieben sind. Die Strukturen werden in ihrem historischen Zusammenhang dargestellt, und die Entwicklung neuer Gebiete wird aufgezeigt. Die Erwähnung einiger Parfümmarken, in denen typische Moschusverbindungen enthalten sind, stellt den Bezug zur Feinparfümerie her. Ebenfalls in Kapitel 7 werden Ansätze zum rationalen Design von Geruchsstoffen anhand von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen vorgestellt. Eine andere Strategie zum Design von Parfümstoffen anhand von Schwingungsspektren wird in Kapitel 11 diskutiert, wobei anzumerken ist, dass diese Herangehensweise nicht dem heutigen Kenntnisstand der Chemorezeption gerecht wird, deren Bedeutung gerade durch die Nobelpreisvergabe an Axel und Buck unterstrichen wurde.

Ein besonderer Schwerpunkt der Monographie sind Geschmacksstoffe, die in einer Reihe von Kapiteln, unter anderem über Schwefelverbindungen und Pyrazine, behandelt werden. Kapitel 3 gibt z. B. einen Überblick über die Bildung von Geschmacksstoffen im Essen, etwa beim Kochen oder bei Gärungsprozessen. Die Vielzahl der angegebenen Literaturzitate macht dieses Kapitel zu einem guten Ausgangspunkt für weiterführende Lektüre. Kapitel 6 behandelt die Chemie von Schwefelverbindungen, wobei Vorteile und Probleme einer Reihe von Schlüsselreaktionen anhand einiger gut ausgewählter Beispiele gegeneinander abgewogen werden. Kapitel 8 schildert schließlich die wichtigsten Prozesse, die die Grundlage für die Bildung natürlicher Geschmacksstoffe bilden, und gibt zahlreiche Beispiele.

Kapitel 9 widmet sich den Themen Geschmack und Geschmacksempfindungen (z. B. Prickeln, Erfrischen, Bitterkeit, Astringenz) sowie dem Zusammenspiel von Molekülen mit Rezeptoren, die ein biologisches Signal aussenden. Dieses vor allem auf der Molekülstruktur beruhende Kapitel ist aus dem Blickwinkel der organischen Chemie geschrieben und dient als eine gute Einführung in das Thema, obwohl das Konzept der Zungenkarte inzwischen überholt ist.