

Dipl.-Chem. Frank Lammers, Münster

Neue Enzymthermistoren für die On-line-Prozeßkontrolle in der Biotechnologie

Reihe **8**: Meß-, Steuerungs-
und Regelungstechnik

Nr. **553**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Zielsetzung	1
2. Grundlagen	5
2.1 Biosensoren und Biosensorsysteme	5
2.2 Fließinjektionsanalyse	8
3. Entwicklung eines neuartigen kompakten Vier-Kanal-Enzymthermistors	14
3.1 Prinzipien und Stand der Technik kalorimetrischer Biosensoren	14
3.2 Aufbau des kompakten Vier-Kanal-Enzymthermistors	22
3.2.1 Meßwerterfassung und Meßwertverarbeitung	23
3.2.2 Temperaturregelung des Aluminiumzylinders	26
3.2.3 Programmierung des Vier-Kanal-Enzymthermistors	28
3.2.4 Kompakter Aufbau	29
3.3 Entwicklung eines miniaturisierten Temperatursensors für FIA-Systeme	32
4. Kompakte Fließinjektionsanalysatoren	36
4.1 Kommerzielle FIA-Systeme	36
4.2 Der Zwei-Kanal-Fließinjektionsanalysator	37
4.3 Der Vier-Kanal-Fließinjektionsanalysator	39
5. Immunanalytik therapeutisch relevanter Proteine	45
5.1 Stand der Technik immunanalytischer Verfahren	45
5.2 Enzymatische Verstärkungsreaktionen	49
5.3 Ermittlung und Optimierung einer geeigneten Detektionsreaktion	53
5.4 Bestimmung von polyklonalem Kaninchen-IgG mit Protein G	55
5.5 Bestimmung von polyklonalem Human-IgG mit Protein A bzw. Protein G	59
5.6 Bestimmung von monoklonalem Maus-IgG2a mit anti-Maus-IgG	63
5.7 Bestimmung von rekombinantem t-PA	66
5.8 Bestimmung von polyklonalem Human-IgM mit anti-Human-IgM	69
5.9 Automation des TELISA	71
5.10 Zusammenfassung und Ausblick	73
6. Einsatzmöglichkeiten in der Medizin	74
6.1 Creatinbestimmung als frühzeitiger Marker für die Herzinfarkt Diagnostik	75
6.2 On-line-Medical-Monitoring am Beispiel der Hämodialyse	79
6.3 Bestimmung von Acetylsalicylsäure (Aspirin)	83

7. Bestimmung von Enzymaktivitäten	85
7.1 Arginase	86
7.2 Acetylcholinesterase	88
7.3 Glucoseoxidase	92
7.4 Ausblick	95
8. Einsatzmöglichkeiten in der Lebensmitteltechnologie	97
8.1 On-line-Kontrolle der Rohmilch-Sterilisation mit Wasserstoffperoxid	98
8.2 Bestimmung von Acetat über Hemmung von Sarcosinoxidase	101
8.3 Bestimmung des künstlichen Süßstoffes Aspartam	105
9. Aminosäureanalytik	109
9.1 L-Arginin	109
9.2 L-Asparagin	112
9.3 L-Glutamin	114
10. Enantiomerenanalytik	119
10.1 D,L-Aminosäuren	120
10.2 D,L-Lactat	124
10.3 D,L-Malat	128
10.4 D,L-Aminosäureester	132
11. Einsatz des Enzymthermistors zur On-line-Prozeßkontrolle bei Bio-transformationen	139
11.1 Enzymatische Racematspaltung von N-Acetyl-D,L-Methionin	140
11.2 Enzymatische Synthese von Ampicillin	147
11.3 Enzymatische Synthese von L-Ornithin	155
11.4 Enzymatische Synthese von Furaneol-Intermediaten	160
11.5 Enzymatische Synthese von Fructose	167
11.6 Ausblick	174
12. Vermessung von Realproben aus verschiedenen Bioprozessen	176
12.1 On-line-Glucosebestimmung	176
12.1.1 <i>Escherichia coli</i> 5K (pHM12)	176
12.1.2 <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)pLysS pET3	180
12.1.3 <i>Sphingomonas spec.</i> DSM 6900	182
12.2 L-Asparagin und Saccharose bei Kultivierungsproben von <i>Claviceps purpurea</i>	184
12.3 L-Glutaminbestimmung bei einer Kultivierung von CHO-Zellen	190

12.4 Monoklonale Antikörper (anti-ICAM-1) aus einer Hybridomazellkultivierung	193
13. Zusammenfassung und Ausblick	199
14. Anhang	205
14.1 Enzyme	206
14.2 Immunchemikalien	207
14.3 Feinchemikalien	207
14.4 Testkits	208
14.5 Medien	209
14.6 Geräte	210
14.7 Herstellung von Antikörper- bzw. Antigenperoxidase durch Periodatkopplung	212
14.8 ELISA-Vorschrift	212
14.9 NIPAB-Test	213
14.10 Puffer	213
14.11 Bedienung des Lund-Enzymthermistors	214
14.12 Allgemeine Anmerkungen zur Immobilisierung	214
14.13 Abkürzungsverzeichnis	214
14.14 Symbolverzeichnis	216
14.15 Schaltplan der Vier-Kanal-Enzymthermistor-Platine	217
14.16 Schaltplan der Regelplatine	218
14.17 Konstruktionszeichnungen der Thermostatisierungseinheit	219
15. Literaturverzeichnis	221