

Der DNA auf der Spur- Analyse per Voltammetrie und Enzym

Von Kirsten Lindloff

Jährlich länger wird die Liste gentechnisch erzeugter Medikamente wie beispielsweise das Insulin oder Interferon. Zum Schutze der Gesundheit soll allerdings möglichst wenig DNA oder RNA in den biologisch hergestellten Präparaten enthalten sein. Eine quantitative Analysemethode, die diese Erbgutbausteine einfach und kostengünstig aufspürt, hat Dr. Stephan Reher im Rahmen seiner Promotion bei Professor Dr. Georg Schwedt, Institut für Anorganische und Analytische Chemie, entwickelt. Veröffentlicht wurden die Ergebnisse im „Fresenius' Journal of Analytical Chemistry“ (Issue 7 (2000) pp 720-726).

„Die Voltammetrie ist eine elektrochemische Analysemethode, die mittels Strom-Spannungskurven Aussagen über Art und Menge von gelösten Stoffen in einer Probe erlaubt“, erklärt Dr. Stephan Reher. Der Clou bei seiner Untersuchungsmethode ist der Brückenschlag zur Biochemie, indem dem Probenansatz ein Enzym hinzugefügt wird. Dieser als extrazelluläre Endonuklease *Serratia marcescens* bezeichnete Katalysator zerteilt vorhandene DNA und RNA in viele kleine Bruchstücke, die an der Meßelektrode absorbiert werden und ein ganz spezifisches Signal erzeugen. „Da viele kleine Stücke ein größeres Signal ergeben als wenige große, wird die Analyse deutlich sensitiver“, erläutert Reher.

Durch diesen Ansatz gelang es nicht nur die von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) empfohlene Nachweisgrenze von 100 pg pro Dosis zu erreichen, sondern auch die von der amerikanischen Federal Drug Administration (FDA) empfohlenen 10 pg pro Dosis.

„Ohne das Enzym in der Probenvorbereitung wäre es nicht gegangen; diese Empfindlichkeit hätten wir sonst nie erreicht“, betont Professor Georg Schwedt, in dessen Arbeitskreis die vom BMBF geförderte Promotionsarbeit von Dr. Stephan Reher entstand. Im Vergleich zu anderen Verfahren, die ähnlich sensitiv DNA/RNA nachweisen können, besticht diese Form der Voltammetrie sowohl in punkto Durchführung, Kosten wie auch Zeit: „Das Verfahren ist wirklich einfach zu handhaben, man kann es in einen Koffer packen und mitnehmen und es ist von jedem Diplomand durchführbar.“ In Zahlen ausgedrückt liegen die Gerätekosten für den voltammetrischen Weg bei rund 20.000 Mark, während Massenspektrometrie mit 100.000 oder das Tre-Shold-System mit 1 Millionen Mark zu Buche schlagen. Die Einzelmessung per Voltammetrie dauert etwa 20 Minuten, ist damit vergleichsweise auch schnell gegenüber den anderen derzeit üblichen Methoden und ob der einfachen Handhabung entfallen Kosten für besonders geschultes Personal. „Der einzige kleine Nachteil ist augenblicklich noch, dass die Voltammetrie noch nicht

automatisierbar ist. Aber in zwei, bis drei Jahren wird das auch kein Problem mehr sein und ähnlich wie in der Gaschromatographie hunderte von Proben gleichzeitig automatisch messbar“, ergänzt Reher.

Video-Beitrag:

<http://www.tu-clausthal.de/presse/video/pm-voltammetrie-112000.ram>

MPEG-Download unter <http://www.tu-clausthal.de/presse/video/pm-voltammetrie-112000.mpg>

Veröffentlichung in Fresenius' Journal of Analytical Chemistry

Abstract Volume 368 Issue 7 (2000) pp 720-726

Druckversion der Dissertation "DNA-/RNA-Analytik mit voltammetrischen, potentiometrischen und optischen Methoden unter Einsatz der extrazellulären Endonuklease *Serratia marcescens*" ISBN 3-89825-030-X

Weitere Informationen:

Dr. Stephan Reher

Fraunhofer Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie

Auf dem Aberg 1

57392 Schmallingenberg

Tel.: 02972-302-208

Fax: 02972-302-319

E-Mail: stephan.reher@gmx.de

Ein faseroptischer Lasersensor, mit dem erfolgreich der Schwefelwasserstoffgehalt heißer austretender Gase an einem Vulkan gemessen werden konnte, soll nun für die Messung der Verbrennungsgase in einem Glasschmelzofen weiterentwickelt werden. Eine Forschungsk Kooperation mit der Firma Genthe Glas in Goslar bewilligte das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF).

Die Arbeitsgruppe „Angewandte Photonik“ um Professor Dr. Wolfgang Schade, Institut für Physik und Physikalische Technologien, hat einen faseroptischen Lasersensor entwickelt, mit dem der Schwefelwasserstoffgehalt heißer Gase in sogenannten Fumerolen, die in den Kratern von Vulkanen austreten, bestimmt werden können. Im letzten Jahr bestand das System seinen ersten Praxistest bei dem Vulkan Solfatara in Italien. Nun soll dieser Sensortyp für eine neue Problemstellung weiterentwickelt werden: Bei ei-

Lasersensor wird Messung der Verbrennungsgase in einem Glasschmelzofen ermöglichen

Von der Messung an Vulkanen zur technischen Anwendung

nem Glasschmelzofen der Firma Genthe Glas in Goslar den Verbrennungsprozeß insitu und online erfassen. Das wirtschaftliche Einsparpotential einer optimierten Verbrennung wird auf rund 100.000 Mark pro Jahr und Ofen geschätzt. Über 500 Glasschmelzöfen gibt es in Deutschland.

„Herkömmliche Verfahren messen im Abgasstrom. Die Ergebnisse können durch von außen in den Kamin eingesaugte, sogenannte Falsch-

luft, verfälscht sein. Wir werden mit unserem Faser-Lasersensor direkt im Ofen messen und Temperatur und Massenströme relevanter Gase wie Methan und Sauerstoff bestimmen“ erklärt Professor Schade. Dadurch soll zukünftig eine automatisierte, stöchiometrische Prozeßsteuerung mit dem genannten Einsparpotential möglich werden.

Die hochauflösende Laser-Absorptionsspektroskopie im nahen und mittleren Infrarotbe- ▶

reich eignet sich sehr gut zum selektiven und empfindlichen Nachweis verschiedenster Molekülspezies und damit auch zur Analytik eines komplexen Gasgemisches. Der Nachteil der Methode: Eine Messung ist nur in optisch dünnen Medien, beziehungsweise solchen mit geringer Streuung möglich. Das ist aber in einem Glas-schmelzofen nicht notwendigerweise der Fall. Die Clausthaler Wissenschaftler entwickeln daher einen speziellen faseroptischen Lasersensor, der Temperaturen bis zu 1500 °C standhält. Der verwendete Lichtleiter wird so modifiziert, dass er an einer Stelle absichtlich ein „Lichtleck“ besitzt. „Wie viel Licht die Faser nun an die Umgebung abgibt, hängt von dem Verhältnis des Brechungsindex von Glasfaserkabel zum Um-

gebungsmedium ab. Das Verhältnis von Reflexionsanteil des Laserlichtes (an der Innenseite des Lichtleiters) zu den an die Umgebung abgegebenen Verlusten ändert sich je nach der gewählten Wellenlänge des Lasers und in Abhängigkeit vom umgebenden Medium. Daher kann aus Änderung der übertragenen Lichtintensität am Ende des Lichtleiters auf die Konzentration der umgebenden Gase zurückgeschlossen werden“, berichtet Dipl.-Phys. Ulrike Willer, Doktorandin in der Arbeitsgruppe „Angewandte Photonik“.

Die Entwicklung geeigneter miniaturisierter Laserlichtquellen und die notwendigen spektroskopischen Untersuchungen zur Bestimmung von Konzentrationen und Temperaturen werden von der TU Clausthal vorgenommen, die Elek-

tronikentwicklung und der Systemaufbau erfolgen durch die Firma Systektum. Erprobt wird das Meßsystem in Zusammenarbeit sämtlicher Verbundpartner bei der Firma Genthe Glas in Goslar.

Weitere Informationen:

TU Clausthal

Institut für Physik und

Physikalische Technologien

Dipl.-Phys. Ulrike Willer

Leibnizstraße 4

38678 Clausthal-Zellerfeld

Tel. 05323/72-2280

Fax: 05323/72-3600

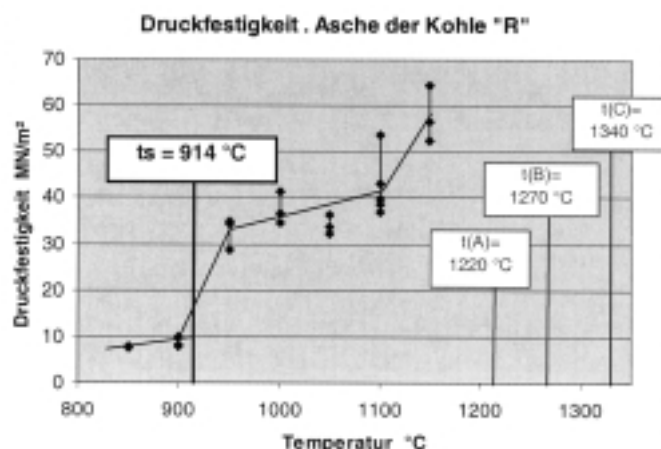
<http://www.pe.tu-clausthal.de/AGSchade/index.html>

Ursachen der Anlagenverschmutzung beim Kohleeinsatz erforscht

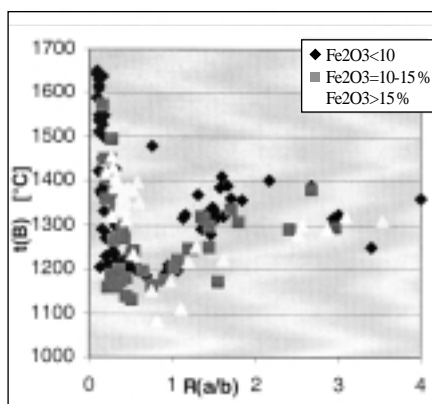
Risikoabschätzung möglich

Die Neigung einer Kohle zäh haftende Ascheansätze an Feuerungswänden zu bilden, kann erhebliche Schäden und Betriebs-schwierigkeiten in Kraftwerken anrichten. Um dies zu vermeiden und rechtzeitig entsprechende Gegenmaßnahmen anzuwenden, werden Kohlen nach solchen Eigenschaften ihrer Asche seit mehr als 50 Jahren in der Leitz-Apparatur untersucht. Diese DIN-Methode ermöglicht das Ascheschmelzverhalten zu messen und damit das Auftreten dieser unerwünschten Kohleeigenschaft erst oberhalb von 1100 Grad Celsius abzuschätzen. Aus der Praxis der modernen Stickoxid-armen Kohleverbrennungstechnik sind immer wieder Fälle bekannt, in der Ascheansätze unerwartet unterhalb von 1100 Grad Celsius gebildet wurden und große Schwierigkeiten verursachten.

Professor Dr.-Ing. Arvo Ots von der Universität Tallinn in Estland und Professor Dr.-Ing. Jacek Zelkowski, Institut für Energieverfahrenstechnik und Brennstofftechnik der TU Clausthal, haben Grundlagen zur Lösung des Problems gelegt. Sie werteten die Daten von 180 Kohlen aus der ganzen Welt aus und zeigten, welche statistischen



Die Druckfestigkeit einer Kohlenasche, gemessen in der neuen Apparatur, zeigt den aus der Praxis bekannten Anstieg der Verfestigung bereits deutlich unterhalb von 1100 Grad Celsius



Halbkugeltemperatur t(B) als Funktion des vereinfachten Basen/Säuren Verhältnisses und des eisenoxidgehaltes in der Asche. Halbkugeltemperatur = Aschepellet nimmt Halbkugelform an

$$R(a/b) = \frac{Fe_2O_3 + CaO + MgO}{SiO_2 + Al_2O_3}$$

Zusammenhänge zwischen bestimmten chemischen Komponenten einer Kohle (Calcium, Natrium, usw.) und ihrer Neigung zur Ansatzbildung bestehen und mit welcher Kennzahl (ein vereinfachtes Basen-Säuren-Verhältnis) diese unerwünschte Kohleeigenschaft am besten abzuschätzen ist.

Darüber hinaus haben die Wissenschaftler ein Konzept einer neuen Apparatur erarbeitet und erprobt, wie man eine Neigung einer Kohleasche zur Ansatzbildung bei Temperaturen unterhalb von 1100 Grad Celsius messen kann. So wird die nach DIN hergestellte Asche zu Pellets gepreßt, vier Stunden in einem Ofen bei einer bestimmten Temperatur gehalten, abgekühlt und im Anschluß die Dichte und Druckfestigkeit der thermisch behandelten Pellets gemessen. Auf diese Weise kann die Temperatur bestimmt werden, bei der eine starke Verfestigung der Kohleasche auftritt. Damit kann die aus der Praxis bekannte, experimentell jedoch bislang nicht zugängliche Sinter-eigenschaft einer Kohle unterhalb von 1100 Grad Celsius gemessen werden.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft ermöglichte im Rahmen des Mercator-Programms den einjährigen Forschungsaufenthalt von Professor Dr.-Ing. A. Ots an der TU Clausthal.