



Entwicklung neuer Ganzzellbiokatalysatoren

Simone Gruber, Dr. Armin Ehrenreich, Prof. Dr. Wolfgang Liebl,
Technische Universität München, Lehrstuhl für Mikrobiologie
Christian Burger, Prof. Dr.-Ing. Weuster-Botz,
Technische Universität München, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

Essigsäurebakterien werden bereits biotechnologisch genutzt. Diese Mikroorganismen sind in der Lage, hoch spezifische Reaktionen an verschiedensten Stoffen wie Alkoholen, Polyolen, Zuckern und ähnlichen Verbindungen durchzuführen, die meist mit herkömmlichen chemischen Methoden nicht oder nur sehr ineffizient zu erreichen sind. Essigsäurebakterien führen solche Reaktionen mit einer Vielzahl besonderer Enzyme, sogenannter membranständiger Dehydrogenasen, aus. Beispiele für den Einsatz solcher Umsetzungen liegen in der Synthese von Vitamin C oder des Arzneimittels Miglitol, das zur Behandlung eines nicht-insulinpflichtigen Diabetes eingesetzt wird. Allerdings ist mit den bereits etablierten biotechnologischen Verfahren das Potential dieser Organismen bei weitem noch nicht ausgeschöpft. Mit diesem Projekt soll die Einsetzbarkeit von Essigsäurebakterien für biotechnologische Umsetzungen erheblich verbessert und erweitert werden, um ausgehend von Verbindungen aus nachwachsenden Rohstoffen Ganzzellbiotransformationen mit noch nicht gekannter Effizienz durchzuführen.

Dieser neue, flexible Ansatz wird im Rahmen des Projekts am Beispiel der Entwicklung von verbesserten Stämmen und Verfahren zur Herstellung des Kohlenhydrats Erythrose aus der Alkoholverbindung Erythritol oder zur Umsetzung von Glukose zu Weinsäure demonstriert. Erythrose kann in Kosmetika und Weinsäure in Pharmazie und Technik eingesetzt werden. Dabei kamen neu entwickelte molekularbiologische Methoden zum Einsatz, mit denen zunächst die Vielzahl der bei Essigsäurebakterien vorkommenden membranständigen Dehydrogenasen entfernt wurde. Anschließend waren nur die für die erwünschte biotechnologische Umsetzung relevanten Enzyme aktiv. So können unerwünschte Nebenreaktionen vermieden sowie die katalytischen Aktivitäten gesteigert werden.

Im bisherigen Projektverlauf wurden am Lehrstuhl für Mikrobiologie die oxidativen Eigenschaften diverser Stämme der Gattungen *Gluconobacter* und *Gluconacetobacter* mit einem Spektrum verschiedener, für dieses Projekt relevanter Substrate untersucht. Dabei zeigten sich erstaunlich große Unterschiede zwischen den Stämmen. Durch molekularbiologische Modifizierung konnten bereits einige neue *G. oxydans* Stämme erhalten werden. Die neuen Stämme wurden bezüglich ihrer Fähigkeit, *meso*-Erythritol mit hoher Ausbeute zu L-Erythrose umsetzen zu können, charakterisiert. Die Arbeiten zur Stammverbesserung haben gezeigt, dass die Effizienz der Stämme durch molekularbiologische Veränderungen in weiten Grenzen modifizierbar ist. Die hinsichtlich ihrer Oxidationsaktivität vielversprechendsten rekombinanten *G. oxydans* Stämme wurden daraufhin am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik in kontrollierten Rührkesselreaktoren charakterisiert. Dabei zeigte sich, dass es reaktionstechnisch sinnvoller ist, die Herstellung der Ganzzellbiokatalysatoren von der Biotransformation zu entkoppeln. Von besonderem Vorteil ist dabei die hohe zellspezifische Oxidationsaktivität ausgewählter *G. oxydans* Stämme zur Herstellung von L-Erythrose, so dass mit geringen Zelldichten und damit geringen Kosten für den Ganzzellbiokatalysator bei der Biotransformation gearbeitet werden kann.