

Entwicklung neuer Ganzzellbiokatalysatoren

Simone Gruber¹, Dr. Armin Ehrenreich¹, Prof. Dr. Wolfgang Liebl¹
Christian Burger², Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz²

Technische Universität München, ¹Lehrstuhl für Mikrobiologie, ²Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

Hintergrund & Ziele

Essigsäurebakterien werden bereits lange biotechnologisch genutzt. Diese Organismen sind in der Lage, stereo- und regiospezifische Oxidationen an verschiedensten chiralen Alkoholen, Polyolen, Zuckern und Zucker-Derivaten durchzuführen, die meist mit herkömmlichen chemischen Methoden nicht oder nur sehr ineffizient zu erreichen sind. Dabei findet die Umsetzung an der Außenseite der Zelle statt, also ohne vorherigen Transport der Substrate in die Zelle. Im Rahmen dieses Projekts soll die Einsetzbarkeit von Essigsäurebakterien für biotechnologische Umsetzungen erheblich verbessert und erweitert werden, um ausgehend von Verbindungen aus nachwachsenden Rohstoffen oxidative Ganzzellbiotransformationen umweltfreundlich und mit noch nicht gekannter Effizienz durchzuführen. Dieser neue, flexible Ansatz wird am Beispiel der Entwicklung von verbesserten Stämmen und neuen Verfahren zur Herstellung von Erythrose (Kosmetikzusatz) aus Erythritol oder zur zweistufigen Oxidation von Glucose zu 5-Ketogluconsäure, einer Vorstufe enantiomerenreiner L-(+)-Weinsäure, demonstriert. Hier werden Zwischenergebnisse des seit Juli 2015 laufenden Projekts gezeigt.

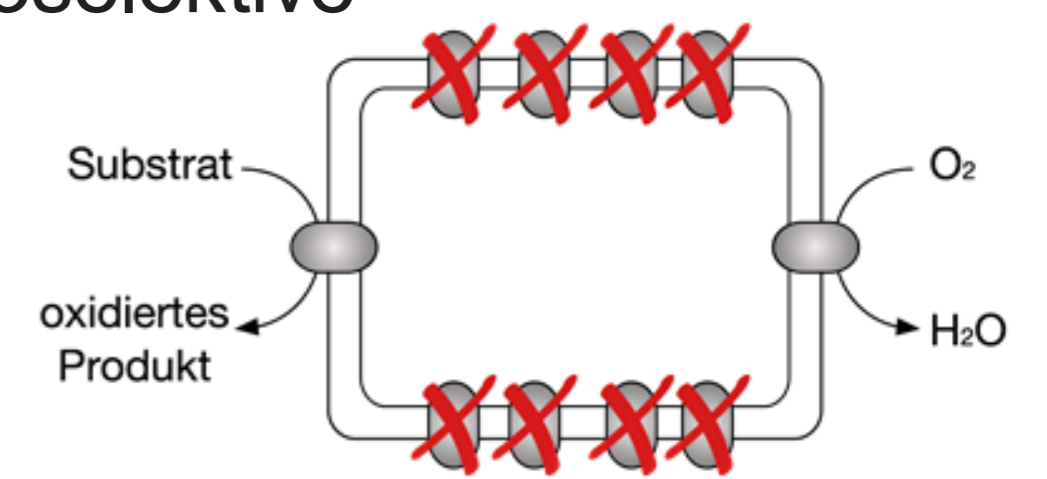
Charakterisierung von Enzymen aus verschiedenen Essigsäurebakterien

Substrate	<i>G. oxydans</i> 621H	<i>G. oxydans</i> DSM3504 (1)	<i>G. oxydans</i> DSM3504 (2)	<i>G. albidus</i> Isolate	<i>Ga. xylinus</i> LMG1693	<i>Ga. hanseni</i> LMG1524
Glycerol	++	+	0	+++	+	+
D-Arabitol	+++	+++	+++	+++	+++	+++
meso-Erythritol	+++	+	++	+++	++	++
Mannitol	++	0	+	+++	++	+
Sorbitol	+++	+	+	+++	++	+
D-Ribose	+	0	+++	0	0	0
D-Glucose	0	0	++	0	/	0
L-Erythrose	++	+	0	++	++	+
Gluconat	++	0	+	+	+	+

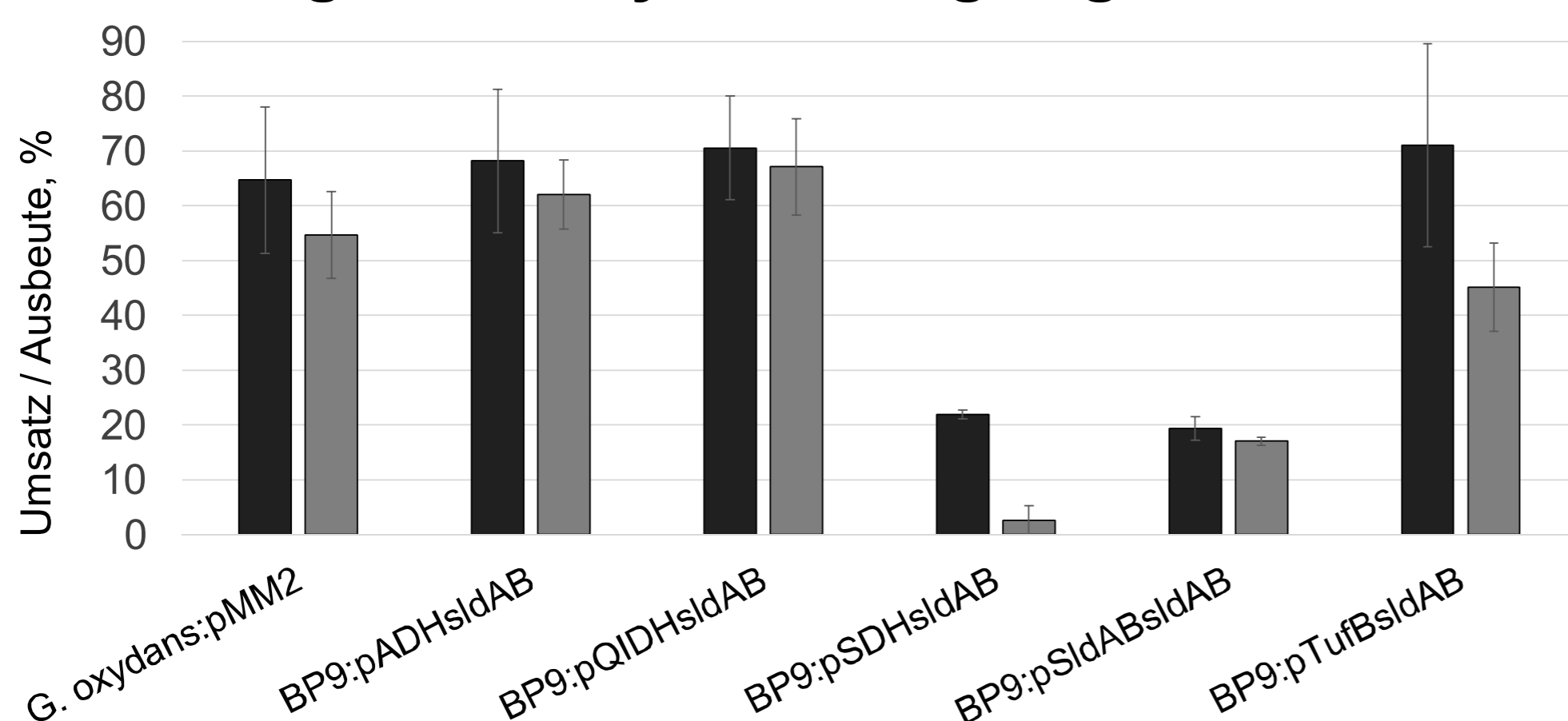
Charakterisierung von Polyol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Essigsäurebakterien. Gezeigt sind die oxidativen Aktivitäten der verschiedenen Enzyme bezogen auf unterschiedliche Substrate.
“+++” starke Aktivität
“++” mittlere Aktivität
“+” schwache Aktivität

Essigsäurebakterien als oxidative Katalysatoren

Gezielte stereo- und regioselektive Oxidation von Substraten und Vermeidung von Neben- und Folgereaktionen durch Deletion unerwünschter Dehydrogenasen und selektive Expression.

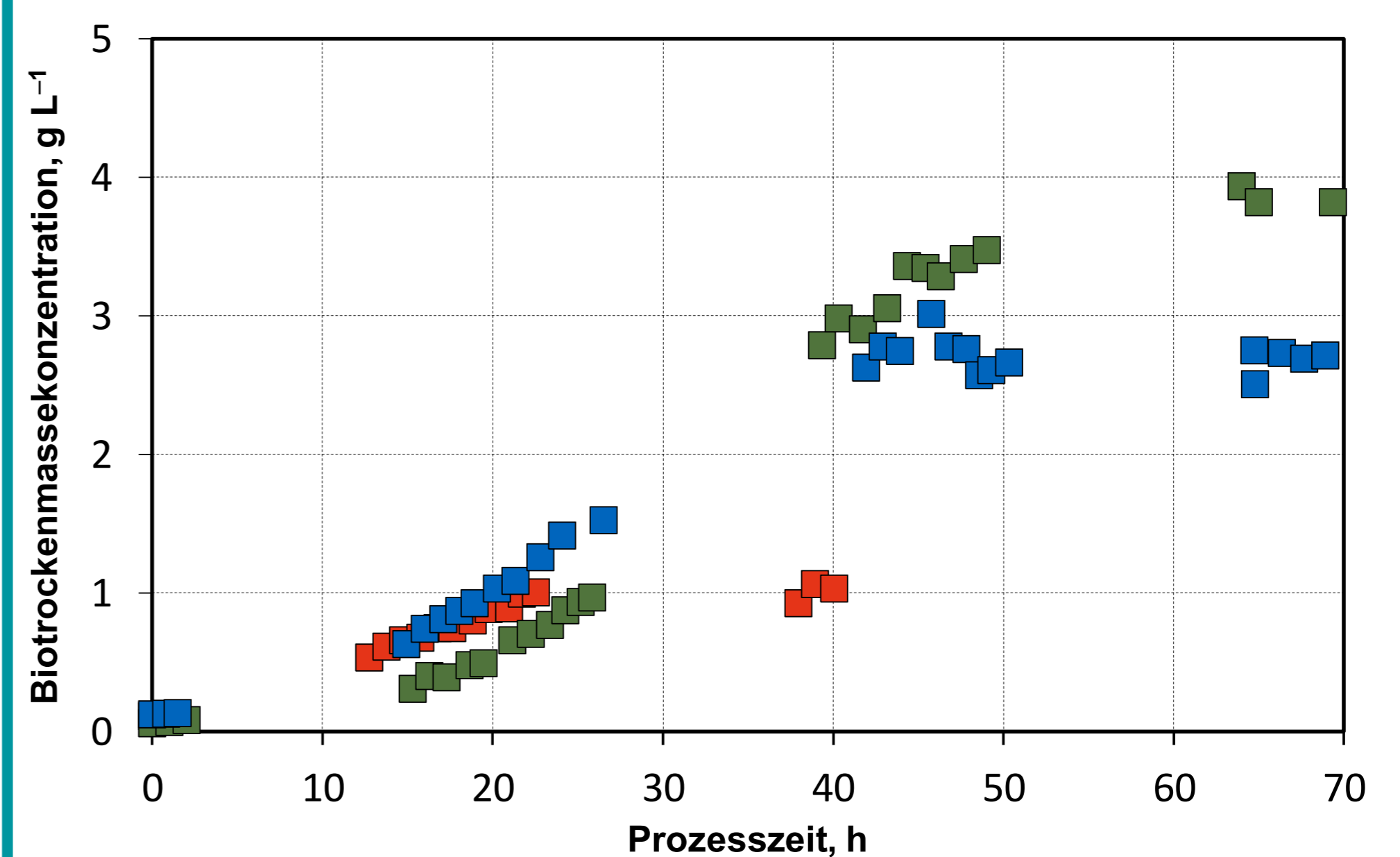


Verschiedene Produktionsstämme sind für die Herstellung von L-Erythrose geeignet



Meso-Erythritol Umsatz (dunkelgrau) und L-Erythrose Ausbeute (hellgrau) nach 6 h einer wachstumsentkoppelten Biotransformation. Durch Charakterisierung von verschiedenen Produktionsstämmen kann die Effizienz der L-Erythrose-Produktion verbessert werden.

Herstellung des Biokatalysators im Rührkesselreaktor



Herstellung der Essigsäurebakterien bei unterschiedlichen Glucoseausgangskonzentrationen von 5 (■), 30 (■) und 50 g L⁻¹ (■). Durch Erhöhung des vorgelegten Substrats Glucose wurden höhere Biotrockenmassekonzentrationen erzielt. Die Zellausbeuten verringerten sich jedoch. Mögliche Gründe können eine Inhibierung durch Acetat oder eine Limitierung aufgrund von nicht ausreichend vorhandenen Komplexmedienbestandteilen sein.