



Entwicklung neuer Ganzzellbiokatalysatoren

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. Dabei findet die Umsetzung an der Außenseite der Zelle statt, ohne vorherigen Transport der Substrate in die Zelle. Dies stellt einen wesentlichen Vorteil gegenüber der herkömmlichen Ganzzellbiokatalyse dar, da der Transport des Substrats nicht limitiert ist. Dazu kommt, dass manche Essigsäurebakterien auch in hochkonzentrierten Reaktionslösungen aktiv sind, was die Wirtschaftlichkeit deutlich erhöht. Beispiele für den Einsatz solcher Umsetzungen liegen in der Synthese von Vitamin C oder des Arzneimittels Miglitol, das für Diabetiker verschrieben 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 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. Dieser Ansatz soll darüber hinaus zukünftig auch für die Stamm- und Prozessentwicklung zur Herstellung weiterer neuer Produkte anwendbar sein.

Dabei kommen neu entwickelte molekularbiologische Methoden zum Einsatz¹, mit denen zunächst die Vielzahl der bei Essigsäurebakterien vorkommenden membranständigen Dehydrogenasen entfernt werden². Anschließend sind nur die für die erwünschte biotechnologische Umsetzung relevanten Enzyme aktiv. Auf diese Weise können unerwünschte Nebenreaktionen vermieden, sowie die katalytischen Aktivitäten gesteigert werden. Die Entwicklung und physiologische Untersuchung der Stämme geht dabei Hand in Hand mit der Charakterisierung dieser Stämme unter technischen Bedingungen, um optimale und in den industriellen Maßstab skalierbare Produktionsverfahren gestalten zu können. Alle Verfahrensschritte werden nach dem Stand der Technik in geschlossenen Anlagen durchgeführt. Mit dem hier vorgestellten Vorhaben soll eine auf Essigsäurebakterien basierte neue Produktionsplattform für ein ganzes Spektrum niedermolekularer Produkte (organische Säuren, Aldehyde, Ketone) erarbeitet werden.

1. Kostner D, Peters B, Mientus M, Liebl W, Ehrenreich A. (2013) Importance of *codB* for new *codA*-based markerless gene deletion in *Gluconobacter* strains. *Appl Microbiol Biotechnol.* 97(18):8341-9.

2. Peters B, Mientus M, Kostner D, Junker A, Liebl W, Ehrenreich A. (2013) Characterization of membrane-bound dehydrogenases from *Gluconobacter oxydans* 621H via whole-cell activity assays using multideletion strains. *Appl Microbiol Biotechnol.* 97(14):6397-412.