

Entwicklung neuer Ganzzellbiokatalysatoren

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

¹Technische Universität München, Lehrstuhl für Mikrobiologie, ²Technische Universität München, Lehrstuhl 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 L-Erythrose aus Erythritol (Kosmetikzusatz) oder zur zweistufigen Oxidation von Glukose zu 5-Ketoglukonsäure, einer Vorstufe enantiomerenreiner L-(+)-Weinsäure demonstriert.

Ergebnisse

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. hansenii</i> LMG1524
Glycerol	++	+	0	+++	+	+
D-Arabitrol	+++	+++	+++	+++	+++	+++
meso-Erythritol	+++	+	++	+++	++	++
Mannitol	++	0	+	+++	++	+
Sorbitol	+++	+	+	+++	++	+
D-Ribose	+	0	+++	0	0	0
D-Glucose	0	0	++	0	/	0
L-Erythrose	++	+	0	++	++	+
Gluconat	++	0	+	+	+	+

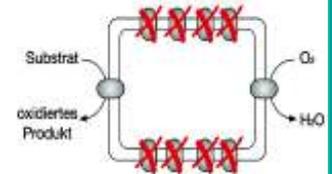
Charakterisierung von Polyol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Essigsäurebakterien.

Gezeigt sind die oxidativen Aktivitäten der verschiedenen Enzyme bezogen auf unterschiedliche Substrate.

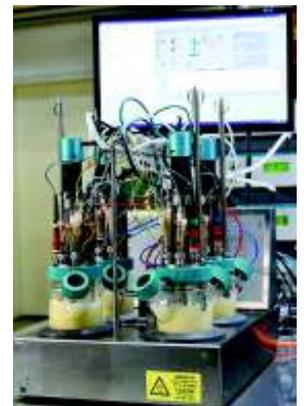
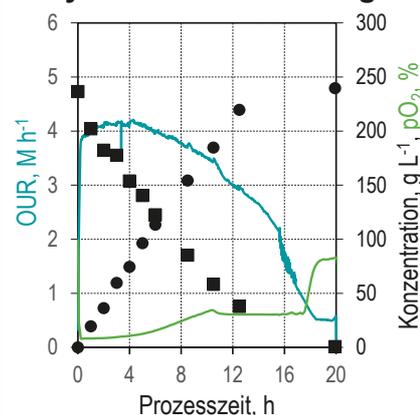
“+++” starke Aktivität, “++” mittlere Aktivität, “+” schwache Aktivität.

Essigsäurebakterien als oxidative Katalysatoren

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

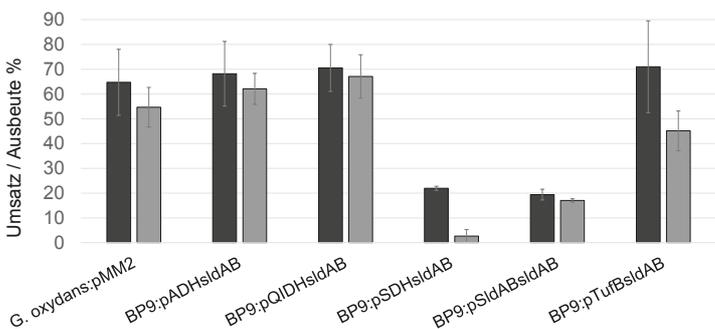


L-Erythrose Herstellung im Rührkesselreaktor



Herstellung von L-Erythrose im Satzverfahren in kontrollierten Rührkesselreaktoren mit *G. oxydans* 621H BP.8. Es konnten trotz geringer Zellkonzentrationen **238 g L⁻¹ L-Erythrose** erreicht werden. Die Gelöstsauerstoffkonzentration (pO₂) und die Sauerstoffaufnahme (OUR) zeigen vollständigen Umsatz des Substrates bereits nach einer Prozesszeit von 17,6 h.

Herstellung der L-Erythrose unter Verwendung verschiedener Produktionsstämme



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