

Entwicklung maßgeschneiderter mikrobieller Produktionsplattformen für die Industrielle Biotechnologie

Zahlreiche Produkte der Industriellen Biotechnologie leiten sich von nur wenigen Intermediaten des zellulären Zentralstoffwechsels ab. Vor allem Pyruvat ist die Vorstufe für einer Reihe industriell relevanter Stoffgruppen wie Alkohole, Amino- und organische Säuren und stellt über die Umsetzung zu Acetyl-CoA, durch den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex (PDHC), eine Schnittstelle zwischen Glykolyse und dem Citratzyklus dar. Um eine Produktionsplattform mit erhöhter intrazellulärer Pyruvatverfügbarkeit zu entwickeln, wurde als Kernelement der PDHC in dem industriell etablierten Bakterium *Corynebacterium glutamicum* inaktiviert als auch graduell abgeschwächt. Davon abgeleitet wurden entsprechende Produktionsstämme durch gezielte Eingriffe im Stoffwechsel konstruiert, weiter optimiert und in Abhängigkeit des Produkts aerobe als auch anaerobe *dual phase* Produktionsverfahren in Bioreaktoren entwickelt. Dabei wurden hocheffiziente Stämme für die Isobutanolproduktion konstruiert als auch ein aerober *intermittent fed-batch*-Prozess für die Produktion von bis zu 86 g L-Valin L⁻¹ etabliert. Zusätzlich wurden ausgehend von der Plattform mit abgeschwächten und inaktiven PDHC, Stämme und effiziente Fermentationsverfahren für weitere Produkte entwickelt (Abb. 1). Die erarbeiteten Ergebnisse bildeten die Basis für ein erteiltes Patent, einen Buchartikel sowie 17 Originalarbeiten und 6 Übersichtsartikel in international anerkannten Fachzeitschriften.

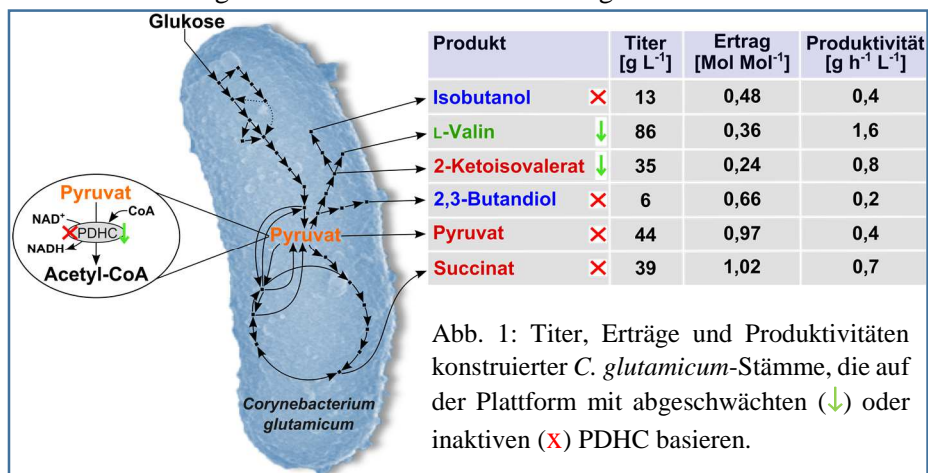


Abb. 1: Titer, Erträge und Produktivitäten konstruierter *C. glutamicum*-Stämme, die auf der Plattform mit abgeschwächten (↓) oder inaktiven (X) PDHC basieren.

Die Produktivität ist ein wichtiger Faktor für den wirtschaftlichen Erfolg eines industriellen Fermentationsprozesses und wesentlich durch die Biomasse-spezifische Substratverbrauchsrate (q_s) des mikrobiellen Systems limitiert. Da der q_s von der Wachstumsrate (μ) abhängig ist, identifizierten wir in einer Literaturrecherche *Vibrio natriegens* als potentiell neues Arbeitstier für zukünftige biotechnologische Verfahren. *V. natriegens* ist das nicht-pathogene Bakterium mit den höchsten Wachstumsraten auf unserem Planeten (Eagon, 1962). Vorarbeiten mit diesem Organismus bestätigten das schnelle Wachstum auf Komplexmedium mit Verdoppelungszeiten von 9,4 Minuten und zeigten, dass *V. natriegens* eine Vielzahl industriell relevanter Substrate verstoffwechseln kann. Darüber hinaus wächst *V. natriegens* sowohl aerob als auch anaerob und zeigt dabei in Minimalmedium mit Glukose außergewöhnlich hohe q_s -Werte, welche signifikant höher sind als beschriebene Werte etablierter mikrobieller Systeme wie *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* oder Hefen. Auch ruhende *V. natriegens*-Zellen unter anaeroben Bedingungen blieben metabolisch aktiv und bildeten die Fermentationsprodukte Acetat, Laktat, Succinat, Formiat, Alanin und Ethanol mit volumetrischen Produktivitäten (Q_P) zwischen 1,7 und 4,3 g L⁻¹ h⁻¹. Der kumulative Q_P der ausgeschiedenen Produkte lag bei $17,7 \pm 0,1$ g L⁻¹ h⁻¹ (Abb. 2). Diese Eigenschaften machen *V. natriegens* zu einer neuartigen Produktionsplattform mit dem Potential außergewöhnliche Produktivitäten in industriellen Fermentationsprozessen zu erzielen und sollen die Grundlage für zukünftige Forschungsarbeiten bilden.

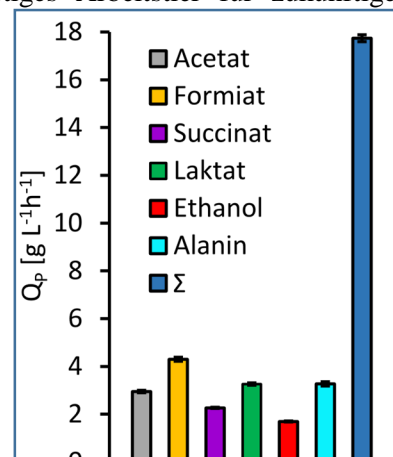


Abb. 2: Die volumetrische Produktivität (Q_P) für die jeweiligen Produkte und der kombinierte Q_P (Σ) von *V. natriegens* unter anaeroben Bedingungen.