

Neues aus Wissenschaft und Lehre

**Jahrbuch der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf 2008/2009**

Heinrich Heine
HEINRICH HEINE
UNIVERSITÄT
DÜSSELDORF



d|u|p

düsseldorf university press

**Jahrbuch der
Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
2008/2009**

**Jahrbuch der
Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
2008/2009**

**Herausgegeben vom Rektor
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Univ.-Prof. Dr. Dr. H. Michael Piper**

**Konzeption und Redaktion:
Univ.-Prof. em. Dr. Hans Süßmuth**

d|u|p

© düsseldorf university press, Düsseldorf 2010
Einbandgestaltung: Monika Uttendorfer
Titelbild: Leben auf dem Campus
Redaktionsassistentz: Georg Stüttgen
Beratung: Friedrich-K. Unterweg
Satz: Friedhelm Sowa, L^AT_EX
Herstellung: WAZ-Druck GmbH & Co. KG, Duisburg
Gesetzt aus der Adobe Times
ISBN 978-3-940671-33-2

Inhalt

Vorwort des Rektors	13
Gedenken	15
Hochschulrat	17
ULRICH HADDING und ERNST THEODOR RIETSCHEL 18 Monate Hochschulrat der Heinrich-Heine-Universität: Sein Selbstverständnis bei konkreten, strategischen Entscheidungsvorgängen	19
Rektorat	25
H. MICHAEL PIPER Ein Jahr des Aufbruchs	27
Medizinische Fakultät	
<i>Dekanat</i>	33
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	35
JOACHIM WINDOLF (Dekan) Bericht der Medizinischen Fakultät	41
MALTE KELM, MIRIAM CORTESE-KROTT, ULRIKE HENDGEN-COTTA und PATRICK HORN Stickstoffmonoxid und Nitrit als Mediatoren im kardiovaskulären System: Synthesewege, Speicherformen und Wirkmechanismen	49
JULIA SZENDRÖDI und MICHAEL RODEN Die Bedeutung der mitochondrialen Funktion für die Entstehung von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes	63
BETTINA POLLOK, MARKUS BUTZ, MARTIN SÜDMEYER, LARS WOJTECKI und ALFONS SCHNITZLER Funktion und Dysfunktion motorischer Netzwerke	81
WOLFGANG JANNI, PHILIP HEPP und DIETER NIEDERACHER Der Nachweis von isolierten Tumorzellen in Knochenmark und Blut von Patientinnen mit primärem Mammakarzinom – Standardisierte Methodik und klinische Relevanz	95
ROBERT RABENALT, VOLKER MÜLLER-MATTHEIS und PETER ALBERS Fortschritte in der operativen Behandlung des Prostatakarzinoms	111

MARCUS JÄGER, CHRISTOPH ZILKENS und RÜDIGER KRAUSPE Neue Materialien, neue Techniken: Hüftendoprothetik am Anfang des 21. Jahrhunderts	121
CHRISTIAN NAUJOKS, JÖRG HANDSCHEL und NORBERT KÜBLER Aktueller Stand des osteogenen Tissue-Engineerings.....	137
ULLA STUMPF und JOACHIM WINDOLF Alterstraumatologie: Herausforderung und Bestandteil der Zukunft in der Unfallchirurgie	153
ALFONS LABISCH Die säkularen Umbrüche der Lebens- und Wissenschaftswelten und die Medizin – Ärztliches Handeln im 21. Jahrhundert	161
Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät	
<i>Dekanat</i>	175
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	177
ULRICH RÜTHER (Dekan) Die Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät im Jahr 2008/2009	181
FRITZ GRUNEWALD Primzahlen und Kryptographie	185
WILLIAM MARTIN Hydrothermalquellen und der Ursprung des Lebens	203
PETER WESTHOFF C4-Reis – Ein Turbolader für den Photosynthesemotor der Reispflanze	217
MICHAEL BOTT, STEPHANIE BRINGER-MEYER, MELANIE BROCKER, LOTHAR EGGELING, ROLAND FREUDL, JULIA FRUNZKE und TINO POLEN Systemische Mikrobiologie – Etablierung bakterieller Produktionsplattformen für die Weiße Biotechnologie	227
SUSANNE AILEEN FUNKE und DIETER WILLBOLD Frühdiagnose und Therapie der Alzheimerschen Demenz	243
ECKHARD LAMMERT Die Langerhanssche Insel und der Diabetes mellitus	251
THOMAS KLEIN Was kann man von der Fliegenborste lernen?	261
REINHARD PIETROWSKY und MELANIE SCHICHL Mittagsschlaf oder Entspannung fördern das Gedächtnis	275
PETER PROKSCH, SOFIA ORTLEPP und HORST WEBER Naturstoffe aus Schwämmen als Ideengeber für neue <i>Antifouling</i> -Wirkstoffe	281

STEPHAN RAUB, JENS ECKEL, REINHOLD EGGER und STEPHAN OLBRICH Fortschritte in der Forschung durch Hochleistungsrechnen – Kooperation von IT-Service, Informatik und Physik	291
Philosophische Fakultät	
<i>Dekanat</i>	305
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	307
HANS T. SIEPE (Dekan) Die Philosophische Fakultät im Spiegel der Publikationen ihrer Mitglieder	309
BRUNO BLECKMANN Römische Politik im Ersten Punischen Krieg	315
RICARDA BAUSCHKE-HARTUNG Minnesang zwischen Gesellschaftskunst und Selbstreflexion im Alter(n)sdiskurs – Walthers von der Vogelweide „Sumerlaten“-Lied	333
HENRIETTE HERWIG Altersliebe, Krankheit und Tod in Thomas Manns Novellen <i>Die Betrogene</i> und <i>Der Tod in Venedig</i>	345
ROGER LÜDEKE Die Gesellschaft der Literatur. Ästhetische Interaktion und soziale Praxis in Bram Stokers <i>Dracula</i>	361
SIMONE DIETZ Selbstdarstellungskultur in der massenmedialen Gesellschaft	383
MICHIKO MAE Integration durch „multikulturelle Koexistenz“, durch „Leitkultur“ oder durch eine „transkulturelle Partizipationsgesellschaft“?	393
Wirtschaftswissenschaftliche Fakultät	
<i>Dekanat</i>	411
<i>Neu berufene Professorinnen und Professoren</i>	413
GUIDO FÖRSTER (Dekan) und DIRK SCHMIDTMANN Auswirkungen des Bilanzrechtsmodernisierungsgesetzes auf die steuerliche Gewinnermittlung	415
HEINZ-DIETER SMEETS Finanzkrise – Schrecken ohne Ende?	433
PETER LORSCHIED Praxisorientierte Besonderheiten der Statistik im Düsseldorfer Bachelorstudiengang „Betriebswirtschaftslehre“	457

Juristische Fakultät

Dekanat 467

DIRK LOOSCHELDERS (Dekan)

Neuregelung der Obliegenheiten des Versicherungsnehmers
durch das Versicherungsvertragsgesetz 2008 469

HORST SCHLEHOFER

Die hypothetische Einwilligung – Rechtfertigungs-
oder Strafrechtsausschließungsgrund für einen ärztlichen Eingriff? 485

ANDREW HAMMEL

Strategizing the Abolition of Capital Punishment
in Three European Nations 497

Partnerschaften der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

JIRÍ PEŠEK

Die Partnerschaft zwischen der Karls-Universität Prag
und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 513

**Gesellschaft von Freunden und Förderern der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf e.V.**

OTHMAR KALTHOFF

Jahresbericht 2008 525

GERT KAISER und OTHMAR KALTHOFF

Die wichtigsten Stiftungen der Freundesgesellschaft 527

Forscherguppen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

KLAUS PFEFFER

Die Forschergruppe 729
„Anti-infektiöse Effektorprogramme: Signale und Mediatoren“ 535

PETER WERNET und GESINE KÖGLER

Die DFG-Forschergruppe 717 „Unrestricted Somatic Stem Cells from Hu-
man Umbilical Cord Blood (USSC)“/„Unrestringierte somatische Stamm-
zellen aus menschlichem Nabelschnurblut“ 545

Beteiligungen an Forschungsgruppen

DIETER BIRNBACHER

Kausalität von Unterlassungen – Dilemmata und offene Fragen 565

Sofja Kovalevskaja-Preisträger

KARL SEBASTIAN LANG

Das lymphozytäre Choriomeningitisvirus – Untersucht mittels eines
Mausmodells für virusinduzierte Immunpathologie in der Leber 583

Graduiertenausbildung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- SONJA MEYER ZU BERSTENHORST, KARL-ERICH JAEGER und
JÖRG PIETRUSZKA
CLIB-Graduate Cluster Industrial Biotechnology:
Ein neuer Weg zur praxisnahen Doktorandenausbildung 597
- JOHANNES H. HEGEMANN und CHRISTIAN DUMPITAK
Strukturierte Promotionsförderung in der Infektionsforschung durch die
Manchot Graduiertenschule „Molecules of Infection“ 607

Nachwuchsforschergruppen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- ULRICH HEIMESHOFF und HEINZ-DIETER SMEETS
Empirische Wettbewerbsanalyse 623
- WOLFGANG HOYER
Selektion und Charakterisierung von Bindeproteinen
für amyloidogene Peptide und Proteine 631

Interdisziplinäre Forscherverbände an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

- ULRICH VON ALEMANN und ANNIKA LAUX
Parteimitglieder in Deutschland.
Die Deutsche Parteimitgliederstudie 2009 641
- JULIA BEE, REINHOLD GÖRLING und SVEN SEIBEL
Wiederkehr der Folter? Aus den Arbeiten einer interdisziplinären Studie
über eine extreme Form der Gewalt, ihre mediale Darstellung und ihre
Ächtung 649
- KLAUS-DIETER DRÜEN und GUIDO FÖRSTER
Düsseldorfer Zentrum für
Unternehmensbesteuerung und -nachfolge 663
- KLAUS-DIETER DRÜEN
Der Weg zur gemeinnützigen (rechtsfähigen) Stiftung –
Stiftungszivilrechtliche Gestaltungsmöglichkeiten
und steuerrechtliche Vorgaben 665
- GUIDO FÖRSTER
Steuerliche Rahmenbedingungen für Stiftungsmaßnahmen 677

Kooperation der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und des Forschungszentrums Jülich

- ULRICH SCHURR, UWE RASCHER und ACHIM WALTER
Quantitative Pflanzenwissenschaften – Dynamik von Pflanzen
in einer dynamischen Umwelt am Beispiel der Schlüsselprozesse
Photosynthese und Wachstum 691

Ausgründungen aus der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

DETLEV RIESNER und HANS SÜSSMUTH

Die Gründung des Wissenschaftsverlags *düsseldorf university press
GmbH* 709

Zentrale Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Zentrale Universitätsverwaltung

JAN GERKEN

Der Umstieg auf das kaufmännische Rechnungswesen:
Die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf nutzt als
Vorreiter die Chancen der Hochschulautonomie 729

Universitäts- und Landesbibliothek

IRMGARD SIEBERT

Sammelleidenschaft und Kulturförderung.
Die Schätze der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf 737

GABRIELE DREIS

Das Kulturgut Buch für die Zukunft bewahren:
Bestandserhaltung in der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf ... 751

Zentrum für Informations- und Medientechnologie

MANFRED HEYDTHAUSEN und ROBERT MONSER

Die Entwicklung eines Portals für
die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 769

STEPHAN RAUB, INGO BREUER, CHRISTOPH GIERLING und STEPHAN
OLBRICH

Werkzeuge für Monitoring und Management von Rechenclustern –
Anforderungen und Entwicklung des Tools <myJAM/> 783

Sammlungen in der Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf

KATHRIN LUCHT-ROUSSEL

Die Düsseldorfer Malerschule in der
Universitäts- und Landesbibliothek Düsseldorf 795

Ausstellungen

ANDREA VON HÜLSEN-ESCH

Jüdische Künstler aus Osteuropa und die
westliche Moderne zu Beginn des 20. Jahrhunderts 813

JENS METZDORF und STEFAN ROHRBACHER

„Geschichte in Gesichtern“ 827

Geschichte der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

SVENJA WESTER und MAX PLASSMANN

Die Aufnahme des klinischen Unterrichts an der
Akademie für praktische Medizin im Jahr 1919 853**Forum Kunst**

HANS KÖRNER

Frömmigkeit und Moderne.
Zu einem Schwerpunkt in Forschung und Lehre
am Seminar für Kunstgeschichte 865**Chronik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

ROLF WILLHARDT

Chronik 2008/2009 897

Campus-Orientierungsplan 919**Daten und Abbildungen aus dem
Zahlenspiegel der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf** 925**Autorinnen und Autoren** 937

**MICHAEL BOTT, STEPHANIE BRINGER-MEYER,
MELANIE BROCKER, LOTHAR EGGELING, ROLAND
FREUDL, JULIA FRUNZKE und TINO POLEN**

Systemische Mikrobiologie – Etablierung bakterieller Produktionsplattformen für die Weiße Biotechnologie

Das Institut für Biotechnologie 1 des Forschungszentrums Jülich arbeitet auf dem Gebiet der molekularen und angewandten Mikrobiologie. Die Forschung ist fokussiert auf Bakterien mit dem Potenzial, sich als mikrobielle *Multi-purpose*-Produktionsplattformen für die Weiße Biotechnologie zu etablieren, wie zum Beispiel *Corynebacterium glutamicum*, *Gluconobacter oxydans* oder *Escherichia coli*. Solche Plattformen können für die Herstellung einer Vielzahl verschiedener industriell oder pharmazeutisch relevanter Produkte (zum Beispiel Aminosäuren, organische Säuren, Polymervorstufen, technische Proteine, Pharmaproteine) aus nachwachsenden Rohstoffen eingesetzt werden. Durch Kombination mikrobiologischer, biochemischer und molekulargenetischer Methoden mit den Hochdurchsatztechnologien Transkriptomics, Proteomics und Metabolomics wird ein systemisches Verständnis dieser Bakterien gewonnen, das als Basis dient, um alle zellulären Prozesse im Hinblick auf den gewünschten Produktionsprozess zu optimieren (*whole cell engineering*). Ein faszinierender Aspekt der Forschungsarbeiten ist die Nutzung der synthetischen Biologie. Dies beinhaltet die Etablierung heterologer und artifizierender Stoffwechselwege unter Verwendung von Enzymen aus anderen Mikroorganismen oder Pflanzen sowie von Enzymen mit neuen Funktionalitäten, die durch gerichtete Evolution gewonnen wurden.

Einleitung

Das Institut für Biotechnologie 1 bildet zusammen mit dem Institut für Biotechnologie 2 des Forschungszentrums Jülich sowie mit den Instituten für Molekulare Enzymtechnologie und Bioorganische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, die beide auf dem Campus des Forschungszentrums angesiedelt sind, das Zentrum für Mikrobielle Biotechnologie (ZMB). Basierend auf den unterschiedlichen, sich ergänzenden Schwerpunkten und Expertisen der vier Institute stellt das ZMB einen Forschungskern im Bereich der Weißen Biotechnologie in Deutschland dar.

Eine sehr allgemeine Definition für die Weiße Biotechnologie lautet „White Biotechnology is the application of nature’s toolset to industrial production“.¹ Weiße Biotechnologie nutzt Mikroorganismen oder isolierte Enzyme zur Herstellung von Produkten im indus-

¹ EuropaBio (2003: 7).

triellen Maßstab.² Mit Verfahren der Weißen Biotechnologie werden weltweit Waren im Wert von circa 50 Milliarden € produziert. Hierzu gehören unter anderem (1.) essenzielle Zusatzstoffe für die Ernährung von Mensch und Tier (zum Beispiel Aminosäuren, Vitamine, Enzyme, Säuerungsmittel); (2.) Ausgangssubstanzen, Wirkstoffe und Biokatalysatoren für die chemische und pharmazeutische Industrie (zum Beispiel Bausteine für Kunststoffe, Feinchemikalien, Zwischenprodukte, Antibiotika); (3.) Produkte für die Verbrauchsgüterindustrie (zum Beispiel Waschmittelenzyme, kosmetische Wirk- und Effektsubstanzen, spezialisierte Lebensmittel); (4.) Enzyme für umweltschonende Prozesse (zum Beispiel in der Textil- und Papierindustrie). Biotechnologische Verfahren basieren überwiegend auf dem Einsatz nachwachsender Rohstoffe und sind in vielen Fällen energie- und stoffeffizienter als herkömmliche Verfahren. Prognosen besagen, dass im Jahr 2030 bis zu einem Drittel der industriellen Produktion durch Weiße Biotechnologie erfolgt.

Die Anwendung isolierter Enzyme ist beschränkt auf Prozesse, bei denen die Umsetzung des Substrates in das gewünschte Produkt nur sehr wenige Reaktionsschritte beinhaltet. Dagegen erlauben intakte Mikroorganismen die Herstellung von Produkten, deren Biosynthese eine Vielzahl von aufeinanderfolgenden enzymkatalysierten Reaktionen erfordert. Als Beispiel sei hier die Herstellung der Aminosäuren L-Glutamat (Geschmacksverstärker) und L-Lysin (Futtermittelzusatzstoff) aus Zuckern wie Glucose oder Saccharose genannt, die heute in Mengen von mehr als 1,5 Millionen Tonnen pro Jahr beziehungsweise mehr als 0,8 Millionen Tonnen pro Jahr industriell mit *Corynebacterium glutamicum* produziert werden.³ Diese Zahlen unterstreichen eindrucksvoll das biokatalytische Potential von intakten Mikroorganismen.

Metabolic engineering

Produktionsstämme für den industriellen Einsatz wurden in der Vergangenheit in der Regel durch ungerichtete Mutagenese und Selektion oder Screening erzeugt. Mit der Etablierung der rekombinanten DNA-Technologie Anfang der 70er Jahre des letzten Jahrhunderts wurde erstmals das rationale Design von Produktionsstämmen mittels *metabolic engineering* ermöglicht. Unter diesem Begriff versteht man die Verbesserung von zellulären Aktivitäten durch Beeinflussung der Enzym-, Transport- und regulatorischen Funktionen der Zelle unter Verwendung der rekombinanten DNA-Technologie.⁴ In Abbildung 1 ist das Grundprinzip des *metabolic engineering* dargestellt, das sich in den letzten Jahrzehnten als sehr erfolgreich erwiesen hat und die Neukonstruktion beziehungsweise Verbesserung einer Vielzahl von mikrobiellen Produktionsstämmen ermöglicht hat.

Die Effizienz der Stammentwicklung durch *metabolic engineering* hängt von mehreren Faktoren ab. Erste Voraussetzung ist die Verfügbarkeit von zuverlässigen molekulargenetischen Werkzeugen, mit denen Gene gezielt mutiert, deletiert oder in ihrer Expressionsstärke verändert werden können. Zweite Voraussetzung ist ein möglichst umfassendes Wissen über den Stoffwechsel und seine Regulation in dem Mikroorganismus der Wahl. Der Mikroorganismus sollte apathogen und einfach zu kultivieren sein, eine relativ kurze Verdopplungszeit besitzen (20 Minuten bis circa mehrere Stunden) sowie genetisch stabil und

² Vgl. DECHEMA (2004).

³ Vgl. Shimizu und Hirasawa (2007) sowie Kelle *et al.* (2005).

⁴ Vgl. Bailey (1991).

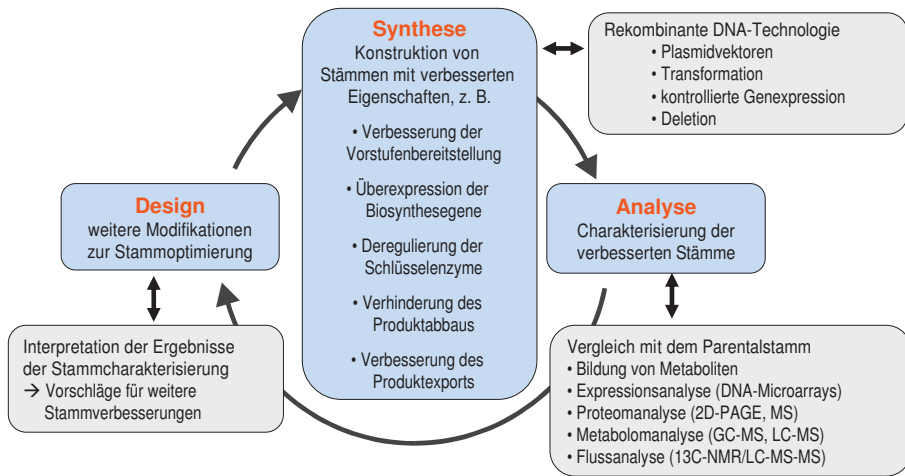


Abb. 1: Der Zyklus des *metabolic engineering*. Basierend auf dem bekannten Wissen zum Stoffwechsel und seiner Regulation werden genetische Modifikationen in den Ausgangsstamm eingeführt, die den Kohlenstofffluss vom Substrat zu dem gewünschten Produkt leiten sollen. Die entsprechenden Stämme werden charakterisiert und daraus Schlussfolgerungen für weitere Möglichkeiten zur Stammverbesserung gewonnen. Mit Hilfe der postgenomischen Methoden („Polyomics“) kann die Stammcharakterisierung auf einer globalen Ebene erfolgen.

robust gegenüber den Stressfaktoren sein, die bei einer Kultivierung in Großfermentern von bis zu 500 m³ Volumen auftreten (oxidativer Stress, Sauerstoffmangel, mechanischer Stress, osmotischer Stress und so weiter). Als Konsequenz aus diesem Anforderungsprofil wurden die meisten *metabolic-engineering*-Arbeiten der letzten Jahrzehnte vorzugsweise mit einer relativ kleinen Zahl mikrobieller Spezies durchgeführt. Dazu gehören im Bereich der eukaryontischen Mikroorganismen zum Beispiel *Saccharomyces cerevisiae*, im Bereich der prokaryontischen Mikroorganismen zum Beispiel *Escherichia coli* und *Corynebacterium glutamicum*.⁵

Mikrobielle Produktionsplattformen

Obwohl der Zentralstoffwechsel und die Biosynthesewege in vielen Mikroorganismen sehr ähnlich sind, gibt es doch eine Vielzahl individueller Unterschiede im Hinblick auf die Enzymausstattung und vor allem im Hinblick auf die Regulation des Stoffwechsels. Je besser die Details des Stoffwechsels und seiner Regulation bekannt sind, desto effizienter und schneller können *metabolic-engineering*-Ansätze zum Erfolg führen. Unser Institut konzentriert sich daher in seinen Arbeiten auf eine relativ geringe Zahl von Bakterienspezies, die als mikrobielle Produktionsplattformen für die Weiße Biotechnologie dienen können. Dazu zählen *C. glutamicum*, *Gluconobacter oxydans* und *E. coli*. Insbesondere *C. glutamicum* steht im Mittelpunkt einer Vielzahl laufender Forschungsprojekte, basierend auf zwei

⁵ Vgl. Wendisch *et al.* (2006a).

Jahrzehnten Erfahrung im Umgang mit diesem Bakterium.⁶ Wie bereits erwähnt, wird *C. glutamicum* bisher vor allem für die Produktion von L-Glutamat und L-Lysin genutzt. Arbeiten der letzten Jahre haben jedoch gezeigt, dass diese Spezies auch für die Produktion weiterer Metabolite sowie für die Produktion heterologer Proteine eingesetzt werden kann, was anhand ausgewählter Beispiele im Folgenden dargestellt wird. Abbildung 2 gibt einen Überblick über Produkte, die mit *C. glutamicum* als mikrobieller Produktionsplattform bereits hergestellt werden, sowie über mögliche zukünftige Produkte.

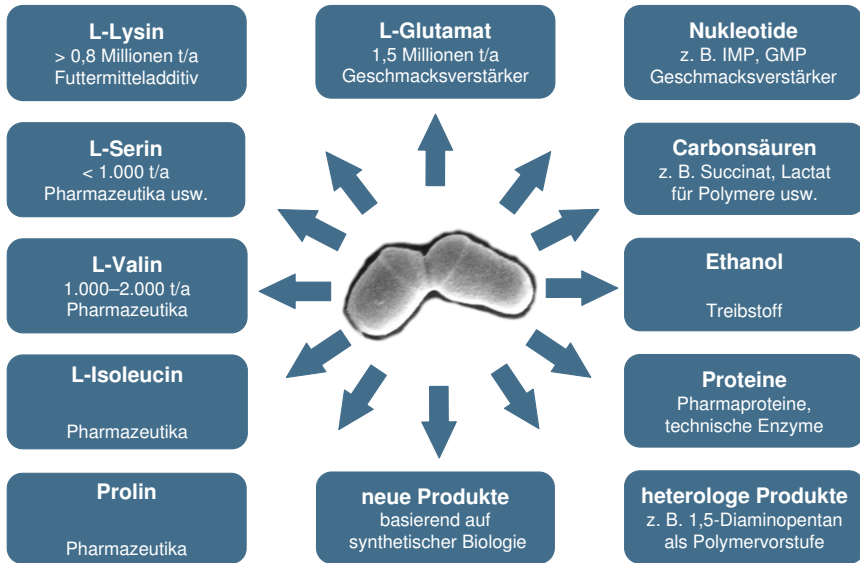


Abb. 2: *Corynebacterium glutamicum* als Produktionsplattform für die Weiße Biotechnologie. Es sind Produkte aufgeführt, die mit diesem Bakterium beziehungsweise nahe verwandten Spezies wie *C. ammoniagenes* produziert beziehungsweise für die entsprechende Produktionsstämme entwickelt werden.

Serin-Produktion mit *C. glutamicum*

L-Serin ist eine nicht-essenzielle Aminosäure, die für Infusionslösungen, als Zusatzstoff für Getränke oder als Feuchtigkeitsspender in Hautlotionen verwendet wird. Darüber hinaus wird L-Serin zusammen mit Indol auch als Substrat für die enzymatische Synthese von L-Tryptophan eingesetzt. Um ausgehend vom *C.-glutamicum*-Wildtyp einen L-Serin-Produktionsstamm zu konstruieren, wurden folgende Modifikationen eingeführt (Abb. 3): (1.) Die Feedback-Hemmung des ersten Enzyms der Serin-Biosynthese, der 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase (kodiert durch das *serA*-Gen), durch L-Serin wurde mittels Deletion der 197 carboxyterminalen Aminosäurereste aufgehoben.⁷ (2.) Die Serin-Biosynthesegene *serA*Δ197, *serB* (Phosphoserin-Aminotransferase) und *serC* (Phosphoserin-Phosphatase)

⁶ Vgl. Eggeling and Bott (2005).

⁷ Vgl. Peters-Wendisch *et al.* (2002).

wurden überexprimiert.⁸ (3.) Der Abbau des Serins durch die Serin-Dehydratase wurde mittels Deletion des entsprechenden *sda*-Gens verhindert.⁹ (4.) Die Umsetzung von Serin in Glycin und Methylen-Tetrahydrofolat wurde entweder durch verminderte Expression des *glyA*-Gens für die Serin-Hydroxymethyltransferase reduziert oder durch reduzierte Folat-Versorgung von folsäureauxotrophen Stämmen.¹⁰ Der resultierende Stamm produziert unter geeigneten Bedingungen bis zu 60 g/l L-Serin aus Glucose und wird industriell eingesetzt.¹¹ Dieses Beispiel zeigt die Leistungsfähigkeit der rationalen Stammkonstruktion durch *metabolic engineering*.

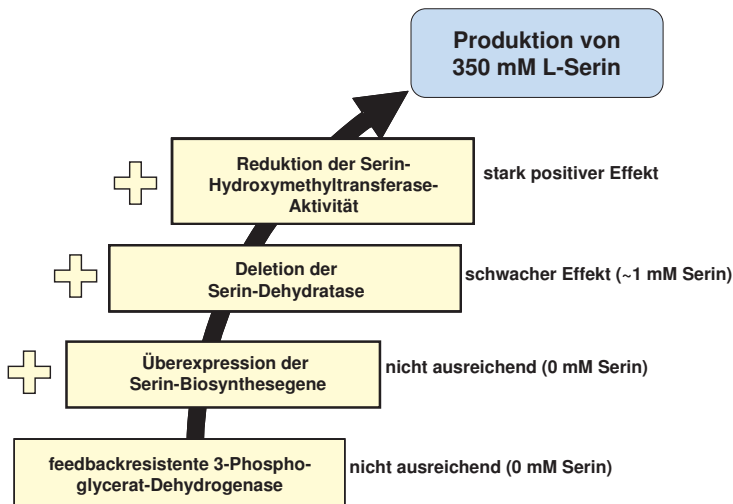


Abb. 3: Entwicklung eines L-Serin-Produktionsstammes von *C. glutamicum* ausgehend vom Wildtyp. Durch vier Modifikationen wird ein Stamm generiert, der unter geeigneten Kultivierungsbedingungen bis zu 60 g/l L-Serin ins Medium ausscheidet.

Produktion organischer Säuren und Ethanol mit *C. glutamicum*

Bisher wird *C. glutamicum* industriell ausschließlich für aerobe Produktionsprozesse eingesetzt, in denen die Atmungskette eine wichtige Rolle spielt.¹² Neue Studien zeigen, dass der Organismus in Abwesenheit von Sauerstoff und Nitrat zwar nicht wachsen, aber Zucker sehr effizient in organische Säuren wie L-Lactat, D-Lactat und Succinat umsetzen kann oder auch in Ethanol. Organische Säuren wie Milchsäure (Lactat) oder Bernsteinsäure (Succinat) können als Vorstufen für Polymere (zum Beispiel Polylactid) und andere industriell genutzte Verbindungen dienen, Ethanol als Biokraftstoff. Es wurde beschrieben, dass Zellen eines *C.-glutamicum*-Stammes, bei dem das *ldhA*-Gen für die NAD⁺-

⁸ Vgl. Peters-Wendisch *et al.* (2005).

⁹ Vgl. Peters-Wendisch *et al.* (2005).

¹⁰ Vgl. Peters-Wendisch *et al.* (2005) sowie Stolz *et al.* (2007).

¹¹ Vgl. Eggeling (2007).

¹² Vgl. Bott und Niebisch (2003).

abhängige L-Lactat-Dehydrogenase deletiert und das *pyc*-Gen für die Pyruvat-Carboxylase überexprimiert wurde, bei regelmäßiger Zugabe von Natriumbicarbonat innerhalb von 46 Stunden 1,24 M (146 g/l) Succinat bilden kann, und zwar mit einer molaren Ausbeute von 1,4 Mol Succinat/Mol Glucose.¹³ Ein anderer *C. glutamicum*-Stamm, bei dem die endogene NAD⁺-abhängige L-Lactat-Dehydrogenase durch eine NAD⁺-abhängige D-Lactat-Dehydrogenase aus dem Milchsäurebakterium *Lactobacillus delbrueckii* ersetzt wurde, konnte unter anaeroben Bedingungen aus Glucose innerhalb von 30 Stunden bis zu 1,34 M (120 g/l) D-Lactat mit einer optischen Reinheit von mehr als 99,9 Prozent bilden.¹⁴ Für die Konstruktion eines Ethanol bildenden *C. glutamicum*-Stammes wurden die Gene *ldhA* und *ppc* (kodiert für Phosphoenolpyruvat-Carboxylase) deletiert und die Gene *pdh* und *adh* aus *Zymomonas mobilis* für die Pyruvat-Decarboxylase und die Alkohol-Dehydrogenase überexprimiert. Unter anaeroben Bedingungen und Einsatz einer hohen Zelldichte von 300 g Feuchtzellen/l konnte dieser Stamm bis zu 642 mmol Ethanol/l/h (29,5 g/l/h) bilden.¹⁵

Produktion und Sekretion von Proteinen mit *C. glutamicum*

Technische Enzyme und Pharmaproteine bilden einen wichtigen Zweig der Weißen Biotechnologie. Da grampositive Bakterien im Gegensatz zu gramnegativen Bakterien laut Lehrbuch keine äußere Membran besitzen, können Proteine nach dem Export über die Cytoplasmamembran direkt in das Kulturmedium entlassen und daraus aufgereinigt werden. Daher werden grampositive Bakterien wie verschiedene *Bacillus*-Arten oder *Staphylococcus carnosus* als besonders geeignet für die sekretorische Produktion von Proteinen betrachtet. Allerdings zeigt die Erfahrung, dass Überproduktion und Sekretion wirtsfremder (heterologer) Proteine in das Kulturmedium Prozesse sind, bei denen viele Parameter wie der optimale Wirt, das optimale Signalpeptid, der optimale Sekretionsweg und die optimalen Kultivierungsparameter immer noch empirisch bestimmt werden müssen.¹⁶ Der Transport eines Proteins über die Cytoplasmamembran kann entweder in der ungefalteten Form über den Sec-Weg (*secretory*) oder in der gefalteten Form über den Tat-Weg (*twin-arginine translocation*) erfolgen. In einer Studie, in der die Überproduktion und Tat-abhängige Sekretion des grün fluoreszierenden Proteins GFP aus der Qualle *Aequorea victoria* in den grampositiven Bakterien *S. carnosus*, *Bacillus subtilis* und *C. glutamicum* verglichen wurde, zeigte sich, dass GFP nur in *C. glutamicum* in aktiver Form sekretiert wurde.¹⁷ Erstaunlich dabei ist, dass es bereits seit vielen Jahren Hinweise darauf gab, dass Corynebakterien wie auch die phylogenetisch nahestehenden Mycobakterien eine äußere Membran besitzen. Diese Hinweise wurden jüngst durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt.¹⁸ Anscheinend besitzen auch Corynebakterien und Mycobakterien Mechanismen, die einen effizienten Transport von Proteinen über die äußere Membran, die so genannte Mycomembran, erlauben.

¹³ Vgl. Okino *et al.* (2008a).

¹⁴ Vgl. Okino *et al.* (2008b).

¹⁵ Vgl. Inui *et al.* (2004).

¹⁶ Vgl. Brockmeier *et al.* (2006).

¹⁷ Vgl. Meissner *et al.* (2007).

¹⁸ Vgl. Hoffmann *et al.* (2008).

Der globale Blick in die mikrobielle Zelle: „Polyomics“

Seit der Publikation der ersten vollständigen Genomsequenz eines Bakteriums (*Haemophilus influenzae*) im Jahr 1995 wurden neue Methoden zur möglichst vollständigen Erfassung und Quantifizierung nicht nur der DNA, sondern auch der RNA, der Proteine und der Metabolite entwickelt, die heute unter den Begriffen Transkriptomics, Proteomics und Metabolomics zusammengefasst werden (Abb. 4).¹⁹ Bereits früher war die Stoffflussanalyse basierend auf der NMR-Analyse von ¹³C-Isotopenmarkierungsmustern in Aminosäuren etabliert worden, die heute meist durch die direkte Analyse der ¹³C-Isotopenmarkierung von Metaboliten mittels GC-MS oder LC-MS/MS ersetzt worden ist.²⁰

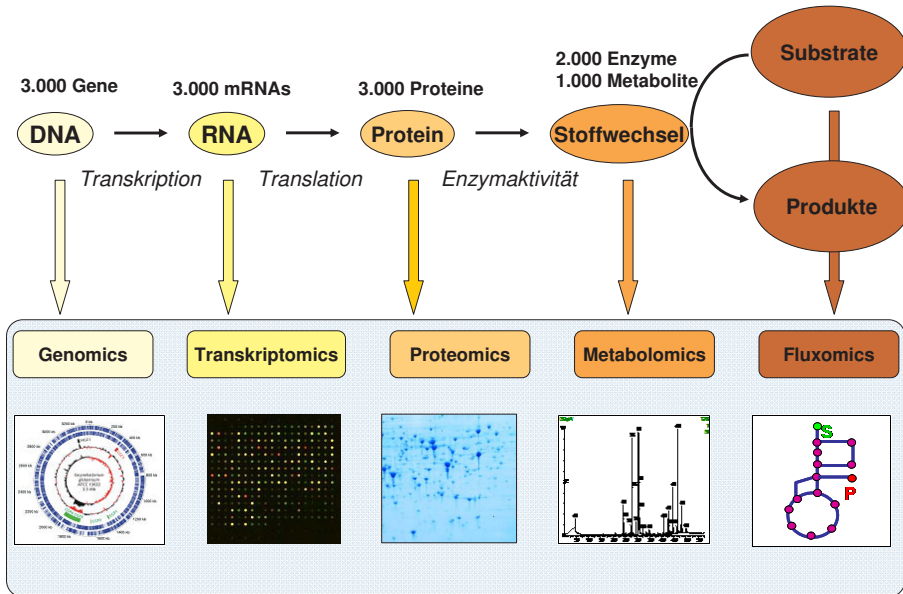


Abb. 4: Globale Analyse der Zelle mit Hilfe von „Polyomics“. Im Institut für Biotechnologie werden die oben dargestellten „omics“-Methoden eingesetzt, um ein möglichst umfassendes Verständnis der Stoffwechsel- und Regulationsvorgänge in bakteriellen Modellorganismen für die Weiße Biotechnologie zu gewinnen.

Im Institut für Biotechnologie sind die entsprechenden „omics“-Technologien etabliert und werden für eine systembiologische Analyse der oben dargestellten mikrobiellen Produktionsplattformen eingesetzt.²¹ Ein wesentliches Ziel dabei ist ein umfassendes Verständnis der Regulationsvorgänge, wobei insbesondere die Transkriptionskontrolle sowie die posttranskriptionale Regulation von Proteinen durch Phosphorylierung im Mittelpunkt stehen. Die Arbeiten auf diesen Gebieten sollen hier an ausgewählten Beispielen dargestellt werden.

¹⁹ Vgl. Fleischmann *et al.* (1995).

²⁰ Vgl. Oldiges *et al.* (2007).

²¹ Vgl. Wendisch *et al.* (2006b).

Transkriptionskontrolle: Definition von Regulons in *C. glutamicum*

In der 2003 publizierte Genomsequenz von *C. glutamicum* wurden Gene für 127 Transkriptionsregulatoren sowie 13 Zweikomponenten-Signaltransduktionssysteme identifiziert.²² Zu diesem Zeitpunkt war nur die Funktion eines einzigen Transkriptionsregulators bekannt. Durch Einsatz der DNA-Microarray-Analyse in Kombination mit Protein-DNA-Interaktionsstudien konnte in den letzten Jahren die Funktion von mehr als einem Dutzend dieser Regulatoren von uns identifiziert werden (Tab. 1). Ein wichtiger Aspekt dabei war die Definition der jeweiligen „Regulons“, das heißt die Bestimmung der Gruppe von unabhängigen Genen oder Operons, deren Transkription von einem gemeinsamen Regulator (Repressor oder Aktivator) kontrolliert wird. Zusammen mit den Studien anderer Arbeitsgruppen sind mittlerweile mehr als ein Drittel aller Transkriptionsregulatoren aus *C. glutamicum* untersucht worden, so dass in naher Zukunft eine vollständige Analyse aller Regulatoren realistisch erscheint.

Transkriptionsregulator bzw. Zweikomponenten- system	Funktion
LysG	Regulator des Lysin-Exporter-Gens <i>lysE</i> ; Aktivierung der <i>lysE</i> -Expression bei hohen zellulären Lysinkonzentrationen (vgl. Bellmann <i>et al.</i> 2001)
ClgR	Regulator der Gene für die ATP-abhängige Clp-Protease sowie von DNA-Reparaturgenen (vgl. Engels <i>et al.</i> 2004, Engels <i>et al.</i> 2005 sowie Russo <i>et al.</i> 2009)
MtrAB	Zweikomponentensystem, das Gene der Osmoregulation und des Zellwandmetabolismus reguliert (vgl. Möker <i>et al.</i> 2004 sowie Brocker und Bott 2006)
AcnR	Repressor des Aconitase-Gens <i>acn</i> (vgl. Krug <i>et al.</i> 2005)
RipA	Repressor von Genen für verschiedene eisenhaltige Proteine, der unter Eisenmangel gebildet wird (vgl. Wennerhold <i>et al.</i> 2005)
DtxR	Globaler Regulator der Eisen-Homöostase, kontrolliert die Expression von mehr als 50 Genen, zum Beispiel für Eisen-Aufnahmesysteme und RipA (vgl. Wennerhold und Bott 2006)
PhoRS	Zweikomponentensystem, das Gene der Phosphatmangel-Antwort reguliert (vgl. Kocan <i>et al.</i> 2006 sowie Schaaf und Bott 2007)
SugR	Regulator der Gene der Zuckeraufnahme, der Glykolyse und der NAD ⁺ -abhängigen L-Lactat-Dehydrogenase (vgl. Engels und Wendisch 2007 sowie Engels <i>et al.</i> 2008)
LldR	Repressor der Gene für einen Transporter und die chinonabhängige L-Lactat-Dehydrogenase (vgl. Georgi <i>et al.</i> 2008)
GntR1/GntR2	Funktionell redundante Regulatoren, die unter anderem die Expression von Genen des Gluconat-Stoffwechsels und der Glucoseaufnahme kontrollieren (vgl. Frunzke <i>et al.</i> 2008)
CitAB	Zweikomponentensystem, das die Expression der Citrattransporter-Gene <i>citH</i> und <i>tctCAB</i> reguliert (vgl. Brocker <i>et al.</i> 2009)
GlyR	Regulator des <i>glyA</i> -Gens für die Serin-Hydroxymethyltransferase (vgl. Schweitzer <i>et al.</i> 2009)

Tab. 1: Transkriptionsregulatoren und Zweikomponentensysteme von *C. glutamicum*, deren Funktion am Institut für Biotechnologie 1 analysiert wurde

²² Vgl. Kalinowski *et al.* (2003) sowie Kocan *et al.* (2006).

Transkriptionskontrolle des Citratzyklus in *C. glutamicum*

Ein besonderer Schwerpunkt unserer Arbeiten der letzten Jahre lag auf dem Gebiet der Regulation des Citratzyklus. Dieser Zyklus spielt eine zentrale Rolle im Stoffwechsel, indem er einerseits mit 2-Oxoglutarat und Oxalacetat die Vorstufen für die Biosynthese der Aminosäuren der Glutamat- und der Aspartatfamilie liefert, andererseits aber auch die ATP-Synthese durch oxidative Phosphorylierung antreibt. Bei der industriellen Lysinproduktion ist allerdings die Oxidation von Acetyl-CoA zu CO₂ im Citratzyklus nur in begrenztem Maß wünschenswert, da sie zu einem signifikanten Verlust an Kohlenstoff führt. Aus diesem Grund ist ein Verständnis der genetischen Kontrolle des Citratzyklus wichtig. Unsere Arbeiten sowie die anderer Arbeitsgruppen haben gezeigt, dass viele Gene des Citratzyklus auf transkriptioneller Ebene komplex reguliert werden (Abb. 5). Im Fall des Aconitase-Gens *acn* wurden von uns bisher drei verschiedene Transkriptionsregulatoren identifiziert (*AcnR*, *RipA*, *RamA*), im Fall des Succinat-Dehydrogenase-Operons *sdhCAB* sogar vier (*DtxR*, *RipA*, *GlxR*, *RamA*).²³ Diese Ergebnisse zeigen, dass die Zelle die Synthese der Citratzyklus-Enzyme sehr aufwändig kontrolliert, vermutlich um die Aktivität des Zyklus jeweils optimal an die aktuelle Stoffwechselsituation anzupassen.

Posttranskriptionale Regulation durch Serin/Threonin-Proteinkinasen und die Entdeckung eines neuen Regulationsmechanismus

Bei der Analyse der rasant wachsenden Zahl bakterieller Genomsequenzen wurde deutlich, dass früher als typisch eukaryontisch betrachtete Signaltransduktionsproteine, die Serin/Threonin-Proteinkinasen (STPKs), auch in vielen Prokaryonten vorkommen. Allerdings ist ihre Funktion dort bisher nur in Einzelfällen bekannt. Im Genom von *C. glutamicum* konnten vier Gene für STPKs identifiziert werden, die als *PknA*, *PknB*, *PknG* und *PknL* bezeichnet werden. Eine globale Analyse der Proteinphosphorylierung an Serin- und Threoninresten ist mit Hilfe der zweidimensionalen Polyacrylamid-Gelelektrophorese (2D-PAGE) möglich, da durch die Einführung der Phosphorylgruppe eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes des Proteins zu tieferen pH-Werten erfolgt und damit zu einer Trennung vom nicht-phosphorylierten Protein. Ein Vergleich mittels 2D-PAGE eines *C. glutamicum*-Stammes, in dem das Gen für *PknG* deletiert wurde, mit dem Wildtyp ermöglichte die Identifizierung eines 15-kDa-Proteins als Substrat der Proteinkinase G.²⁴ Weiterführende Untersuchungen führten zur Aufklärung eines neuartigen Regulationsmechanismus des 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Komplexes, der im Citratzyklus die oxidative Decarboxylierung von 2-Oxoglutarat zu Succinyl-CoA katalysiert (Abb. 6).²⁵ Im unphosphorylierten Zustand bindet das 15-kDa-Protein an die Oxoglutarat-Dehydrogenase-Untereinheit A (*OdhA*-Untereinheit) des 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Komplexes und hemmt dessen Aktivität. Daher wurde dem 15-kDa-Protein der Name *OdhI* gegeben, ein Akronym für „Oxoglutarat-Dehydrogenase-Inhibitor“. Durch Phosphorylierung des *OdhI*-Proteins am Threoninrest 14, katalysiert durch die Proteinkinase *PknG*, wird die Bindung

²³ Vgl. Emer *et al.* (2009) sowie Bussmann *et al.* (2009).

²⁴ Vgl. Niebisch *et al.* (2006).

²⁵ Vgl. Niebisch *et al.* (2006).

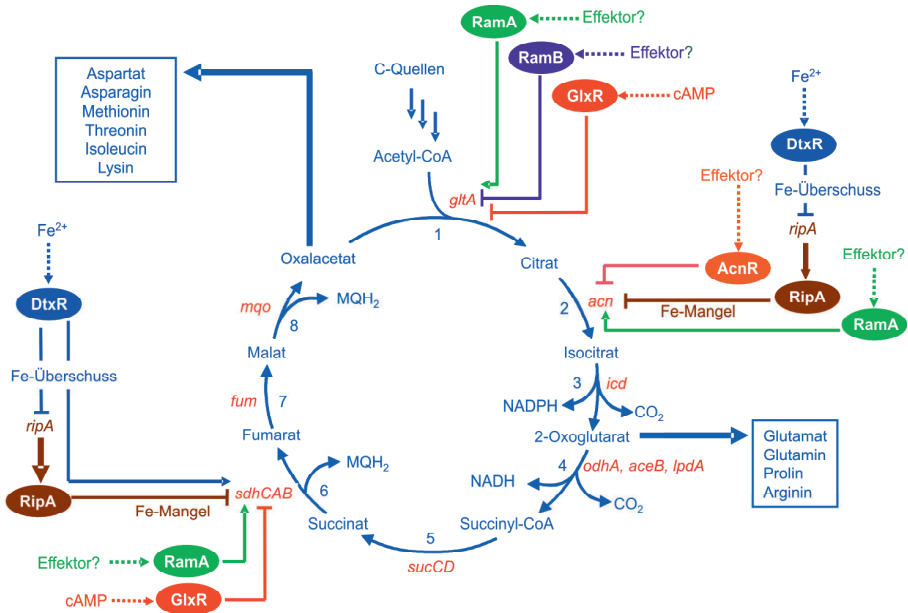


Abb. 5: Komplexe transkriptionelle Kontrolle der Citratzyklus-Gene in *Corynebacterium glutamicum*. Der Citratzyklus spielt eine zentrale Rolle im Stoffwechsel für die Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten in Form von NADPH, NADH und reduziertem Menachinon und für die Bereitstellung der Vorstufen Oxalacetat und 2-Oxoglutarat für die Biosynthese von Aminosäuren. In den letzten Jahren konnten wir und andere Arbeitsgruppen zeigen, dass die Expression vieler Citratzyklus-Gene einer komplexen Kontrolle durch mehrere Transkriptionsregulatoren unterliegt. Auf diese Weise kann die Aktivität der entsprechenden Enzyme exakt an verschiedenste Stoffwechselbedingungen angepasst werden. Für ein systemisches Verständnis erforderlich ist die Kenntnis der Effektoren, die die Aktivität der Transkriptionsregulatoren steuern. Für einige der Regulatoren wie *AcnR*, *RamA* und *RamB* konnten diese Effektoren bisher noch nicht identifiziert werden.

von *OdhI* an *OdhA* und die Hemmung der Enzymaktivität aufgehoben.²⁶ Außer durch *PknG* kann *OdhI* auch noch durch eine oder mehrere der drei anderen Proteinkinasen phosphoryliert werden, zum Beispiel durch *PknA* und *PknB* am Threoninrest 15. Allerdings ist in diesem Fall der physiologische Effekt der Phosphorylierung noch nicht genau bekannt.

Das *OdhI*-Protein: Molekularer Mechanismus und physiologische Funktion

Das *OdhI*-Protein besteht aus einem N-terminalen Bereich und einer C-terminalen so genannten FHA-Domäne (*forkhead-associated domain*).²⁷ FHA-Domänen sind definiert

²⁶ Vgl. Niebisch *et al.* (2006).

²⁷ Vgl. Niebisch *et al.* (2006).

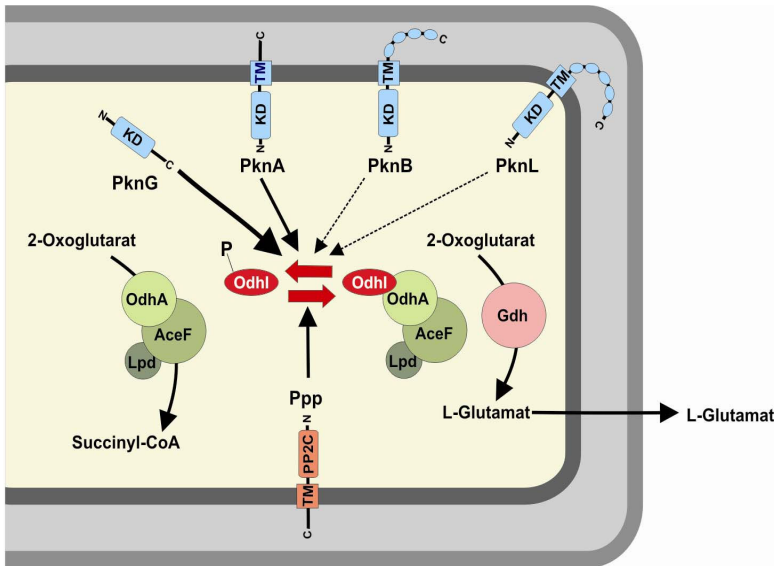


Abb. 6: Ein neuartiger Mechanismus zur Regulation der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität in *Corynebacterium glutamicum* und seine Rolle bei der Glutamatbildung. Das OdhI-Protein wurde als Substrat der Serin/Threonin-Protein kinase PknG identifiziert. PknG phosphoryliert OdhI am Threoninrest 14. Neuere Arbeiten zeigen, dass neben PknG auch die drei anderen in *C. glutamicum* vorkommenden STPKs PknA, PknB und PknL das OdhI-Protein phosphorylieren können, PknA und PknB wahrscheinlich am Threoninrest 15. Die Dephosphorylierung erfolgt durch die Phospho-Serin/Threonin-Proteinphosphatase Ppp. In der unphosphorylierten Form bindet OdhI an die OdhA-Untereinheit des 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Komplexes und inhibiert seine Aktivität. Diese Hemmung führt zu einer verstärkten Umsetzung von 2-Oxoglutarat in L-Glutamat. In *C. glutamicum*-Stämmen, denen das OdhI-Protein fehlt, ist die Glutamatausscheidung drastisch gehemmt.

durch ihre Eigenschaft, spezifisch an Phosphothreonin-Epitope von Proteinen zu binden.²⁸ So wird zum Beispiel vermutet, dass im Fall von OdhI die FHA-Domäne für die Interaktion mit den STPKs verantwortlich ist, die sehr häufig autophosphoryliert vorliegen. Die kürzlich publizierten NMR-Strukturen von unphosphoryliertem und an Threonin-15 phosphoryliertem OdhI zeigen, dass der N-terminale Bereich im unphosphorylierten Zustand hochflexibel ist und keine definierte Tertiärstruktur einnimmt. Nach Phosphorylierung an Threonin-15 erfolgt eine intramolekulare Bindung des Phosphothreoninrestes an die FHA-Domäne.²⁹ Laufende Untersuchungen in unserem Institut versuchen, die Interaktion von OdhI mit dem OdhA-Protein der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase aufzuklären.

Die 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase ist an einem wichtigen Verzweigungspunkt im Stoffwechsel lokalisiert: 2-Oxoglutarat kann entweder im Citratzyklus weiter oxidiert werden oder alternativ durch die Glutamat-Dehydrogenase reduktiv mit NADPH und Ammonium zu L-Glutamat aminiert werden. L-Glutamat ist Vorstufe für weitere Aminosäuren,

²⁸ Vgl. Mahajan *et al.* (2008).

²⁹ Vgl. Barthe *et al.* (2009).

aber auch der wichtigste Aminogruppendonor in der Zelle. Die publizierten K_m -Werte der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase (zwischen 0,02 und 0,08 mM) und der Glutamat-Dehydrogenase (5,7 mM) für 2-Oxoglutarat unterscheiden sich um einen Faktor größer 70. Die Hemmung der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase durch OdhI ist also möglicherweise notwendig, um unter bestimmten Bedingungen den Kohlenstofffluss in Richtung Glutamat zu lenken und damit die Versorgung der Zelle mit Stickstoff und der Glutamatfamilie der Aminosäuren sicherzustellen.³⁰

Das OdhI-Protein ist essenziell für die Glutamatproduktion

C. glutamicum wurde aufgrund seiner Fähigkeit isoliert, unter Biotinmangel oder einer Vielzahl weiterer induzierender Bedingungen, wie zum Beispiel durch Zugabe von Inhibitoren der Zellwandsynthese (Penicillin, Ethambutol) oder durch Zugabe bestimmter Detergenzien (Tween-40, Tween-60), Glutamat auszuschcheiden. Die molekularen Ursachen, die zur Glutamatsekretion führen, sind trotz vieler Studien bisher nur teilweise verstanden. Ein wichtiger Aspekt ist eine reduzierte 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität und ein damit einhergehender verstärkter Kohlenstofffluss von 2-Oxoglutarat in Richtung Glutamat. Die Entdeckung, dass die 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität von OdhI in Abhängigkeit von dessen Phosphorylierungszustand beeinflusst wird, lieferte einen neuen Ansatzpunkt zu einem molekularen Verständnis. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass die Glutamatproduktion in einem *C.-glutamicum*-Stamm, in dem das *odhI*-Gen deletiert wurde, fast vollständig gehemmt ist (nur noch ein bis 13 Prozent der Glutamatproduktion des Wildtyps), und zwar unter vier verschiedenen Glutamat-Induktionsbedingungen (Biotinlimitierung oder Zugabe von Tween-40, Penicillin G oder Ethambutol).³¹ Damit wurde die entscheidende Bedeutung des OdhI-Proteins für die Glutamatproduktion nachgewiesen. In zukünftigen Studien muss jetzt untersucht werden, welchen Einfluss die verschiedenen Induktionsbedingungen auf den OdhI-Phosphorylierungszustand und gegebenenfalls die OdhI-Konzentration in der Zelle haben.

Neue Perspektiven für die Weiße Biotechnologie: Die synthetische Biologie

Trotz der vielfältigen Stoffwechselwege, die die Natur zu bieten hat, gibt es doch eine große Zahl an wertvollen und interessanten Verbindungen, für die keine natürlichen biochemischen Synthesewege bekannt sind. Es gibt daher einen Bedarf an neuen, synthetischen Biosynthesewegen und neuen enzymatischen Aktivitäten, mit denen auch solche Verbindungen biotechnologisch hergestellt werden können. Grundlage dafür sind (1.) die derzeit bekannten und charakterisierten Enzyme, die neu kombiniert werden können, (2.) der Einsatz von Enzymen, die aufgrund ihrer breiten Substratspezifität auch andere als ihre natürlichen Substrate umsetzen können sowie (3.) die Möglichkeit, Enzyme durch gerichtete Evolution für die Umsetzung der gewünschten Reaktion neu zu entwickeln. Wenn die notwendigen Enzyme vorhanden sind, müssen sie in einem geeigneten Wirtsorganismus kombiniert werden. Auch hier sind Plattformorganismen wie *E. coli* oder *C. glutami-*

³⁰ Vgl. Bott (2007).

³¹ Vgl. Schultz *et al.* (2007).

cum wieder erste Wahl, für die effiziente gentechnische Methoden etabliert sind und deren Stoffwechsel im Hinblick auf die Bereitstellung der Vorstufen für das gewünschte Produkt optimiert ist. Abbildung 7 gibt einen Überblick über die Schritte bei der Etablierung synthetischer Stoffwechselwege. Dieser Zweig der synthetischen Biologie stellt eine logische Weiterentwicklung des *metabolic engineering* dar und wird am Institut für Biotechnologie in den nächsten Jahren ein wichtiges Forschungsthema sein.

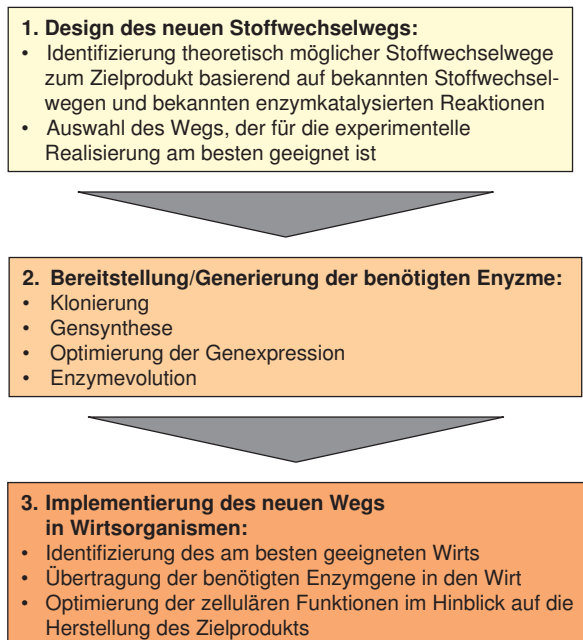


Abb. 7: Schritte zur Etablierung synthetischer Stoffwechselwege. Für viele interessante Produkte gibt es keine bekannten Biosynthesewege in der Natur. Um solche Produkte trotzdem biologisch herstellen zu können, müssen neue, synthetische Stoffwechselwege entworfen und realisiert werden. Grundlage dafür ist das Wissen über die derzeit bekannten Enzyme und Stoffwechselwege.

Danksagung

Die Arbeiten am Institut für Biotechnologie 1 werden gefördert von der Europäischen Kommission, dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), dem Ministerium für Innovation, Wissenschaft, Forschung und Technologie (MIWFT) des Landes Nordrhein-Westfalen, der Amino GmbH, der DSM Nutritional Products AG und der Evonik Degussa GmbH. Die Autoren bedanken sich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Biotechnologie, die an den dargestellten Projekten beteiligt waren oder sind.

Literatur

- BAILEY, J. E. (1991). „Toward a science of metabolic engineering“, *Science* 252, 1668–1675.
- BARTHE, P., C. ROUMESTAND, M. J. CANOVA, L. KREMER, C. HURARD, V. MOLLE und M. COHEN-GONSAUD (2009). „Dynamic and structural characterization of a bacterial FHA protein reveals a new autoinhibition mechanism“, *Structure* 17, 568–578.
- BELLMANN, A., M. VRLJIC, M. PATEK, H. SAHM, R. KRÄMER und L. EGGELING (2001). „Expression control and specificity of the basic amino acid exporter LysE of *Corynebacterium glutamicum*“, *Microbiology* 147, 1765–1774.
- BOTT, M. und A. NIEBISCH (2003). „The respiratory chain of *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Biotechnology* 104, 129–153.
- BOTT, M. (2007). „Offering surprises: TCA cycle regulation in *Corynebacterium glutamicum*“, *Trends in Microbiology* 15, 417–425.
- BROCKER, M. und M. BOTT (2006). „Evidence for activator and repressor functions of the response regulator MtrA from *Corynebacterium glutamicum*“, *FEMS Microbiology Letters* 264, 205–212.
- BROCKER, M., S. SCHAFFER, C. MACK und M. BOTT (2009). „Citrate utilization by *Corynebacterium glutamicum* is controlled by the CitAB two-component system through positive regulation of the citrate transport genes *citH* and *tctCBA*“, *Journal of Bacteriology* 191, 3869–3880.
- BROCKMEIER, U., M. CASPERS, R. FREUDL, A. JOCKWER, T. NOLL und T. EGGERT (2006). „Systematic screening of all signal peptides from *Bacillus subtilis*: A powerful strategy in optimizing heterologous protein secretion in gram-positive bacteria“, *Journal of Molecular Biology* 362, 393–402.
- BUSSMANN, M., D. EMER, S. HASENBEIN, S. DEGRAF, B. J. EIKMANNS und M. BOTT (2009). „Transcriptional control of the succinate dehydrogenase operon *sdhCAB* of *Corynebacterium glutamicum* by the cAMP-dependent regulator GlxR and the LuxR-type regulator RamA“, *Journal of Biotechnology* 143, 173–182.
- DECHEMA (2004). *Weißer Biotechnologie: Chancen für Deutschland*. Frankfurt am Main. http://wbt.dechema.de/wbt_media/Downloads/Positionspapier/Positionspapier+2004.pdf (18.09.2009).
- EGGELING, L. und M. BOTT (2005). *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. Boca Raton.
- EGGELING, L. (2007). „L-Serine and glycine“, in: V. F. WENDISCH (Hrsg.). *Amino acid biosynthesis – pathways, regulation and metabolic engineering*. Berlin und Heidelberg, 259–272.
- EMER, D., A. KRUG, B. J. EIKMANNS und M. BOTT (2009). „Complex expression control of the *Corynebacterium glutamicum* aconitase gene: identification of RamA as a third transcriptional regulator besides AcnR and RipA“, *Journal of Biotechnology* 140, 92–98.
- ENGELS, S., J. E. SCHWEITZER, C. LUDWIG, M. BOTT und S. SCHAFFER (2004). „*clpC* and *clpPIP2* gene expression in *Corynebacterium glutamicum* is controlled by a regulatory network involving the transcriptional regulators ClgR and HspR as well as the ECF sigma factor σ^H “, *Molecular Microbiology* 52, 285–302.
- ENGELS, S., C. LUDWIG, J. E. SCHWEITZER, C. MACK, M. BOTT und S. SCHAFFER (2005). „The transcriptional activator ClgR controls transcription of genes involved in proteolysis and DNA repair in *Corynebacterium glutamicum*“, *Molecular Microbiology* 57, 576–591.
- ENGELS, V. und V. F. WENDISCH (2007). „The DeoR-type regulator SugR represses expression of *ptsG* in *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Bacteriology* 189, 2955–2966.
- ENGELS, V., S. N. LINDNER und V. F. WENDISCH (2008). „The global repressor SugR controls expression of genes of glycolysis and of the L-lactate dehydrogenase LdhA in *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Bacteriology* 190, 8033–8044.
- EUROPABIO (2003). *White Biotechnology: Gateway to a more sustainable future*. Lyon.
- FLEISCHMANN, R. D., M. D. ADAMS, O. WHITE *et al.* (1995). „Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* RD“, *Science* 269, 496–512.

- FRUNZKE, J., V. ENGELS, S. HASENBEIN, C. GÄTGENS und M. BOTT (2008). „Co-ordinated regulation of gluconate catabolism and glucose uptake in *Corynebacterium glutamicum* by two functionally equivalent transcriptional regulators, GntR1 and GntR2“, *Molecular Microbiology* 67, 305–322.
- GEORGI, T., V. ENGELS und V. F. WENDISCH (2008). „Regulation of L-lactate utilization by the FadR-type regulator LldR of *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Bacteriology* 190, 963–971.
- HOFFMANN, C., A. LEIS, M. NIEDERWEIS, J. M. PLITZKO und H. ENGELHARDT (2008). „Disclosure of the mycobacterial outer membrane: Cryo-electron tomography and vitreous sections reveal the lipid bilayer structure“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 3963–3967.
- INUI, M., H. KAWAGUCHI, S. MURAKAMI, A. A. VERTES und H. YUKAWA (2004). „Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for fuel ethanol production under oxygen-deprivation conditions“, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 8, 243–254.
- KALINOWSKI, J., B. BATHE, D. BARTELS *et al.* (2003). „The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins“, *Journal of Biotechnology* 104, 5–25.
- KELLE, R., T. HERMANN und B. BATHE (2005). „L-Lysine production“, in: L. EGGELING und M. BOTT (Hrsg.). *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. Boca Raton, 465–488.
- KOCAN, M., S. SCHAFFER, T. ISHIGE, U. SORGER-HERRMANN, V. F. WENDISCH und M. BOTT (2006). „Two-component systems of *Corynebacterium glutamicum*: Deletion analysis and involvement of the PhoS-PhoR system in the phosphate starvation response“, *Journal of Bacteriology* 188, 724–732.
- KRUG, A., V. F. WENDISCH und M. BOTT (2005). „Identification of AcnR, a TetR-type repressor of the aconitase gene *acn* in *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Biological Chemistry* 280, 585–595.
- MAHAJAN, A., C. YUAN, H. LEE, E. S. W. CHEN, P. Y. WU und M. D. TSAI (2008). „Structure and function of the phosphothreonine-specific FHA domain“, *Science Signaling* 1, re12.
- MEISSNER, D., A. VOLLSTEDT, J. M. VAN DIJL und R. FREUDL (2007). „Comparative analysis of twin-arginine (Tat)-dependent protein secretion of a heterologous model protein (GFP) in three different Gram-positive bacteria“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 76, 633–642.
- MÖKER, N., M. BROCKER, S. SCHAFFER, R. KRÄMER, S. MORBACH und M. BOTT (2004). „Deletion of the genes encoding the MtrA-MtrB two-component system of *Corynebacterium glutamicum* has a strong influence on cell morphology, antibiotics susceptibility and expression of genes involved in osmoprotection“, *Molecular Microbiology* 54, 420–438.
- NIEBISCH, A., A. KABUS, C. SCHULTZ, B. WEIL und M. BOTT (2006). „Corynebacterial protein kinase G controls 2-oxoglutarate dehydrogenase activity via the phosphorylation status of the OdhI protein“, *Journal of Biological Chemistry* 281, 12300–12307.
- OKINO, S., R. NOBURYU, M. SUDA, T. JOJIMA, M. INUI und H. YUKAWA (2008a). „An efficient succinic acid production process in a metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* strain“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 81, 459–464.
- OKINO, S., M. SUDA, K. FUJIKURA, M. INUI und H. YUKAWA (2008b). „Production of D-lactic acid by *Corynebacterium glutamicum* under oxygen deprivation“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 78, 449–454.
- OLDIGES, M., S. LÜTZ, S. PFLUG, K. SCHROER, N. STEIN und C. WIENDAHL (2007). „Metabolics: current state and evolving methodologies and tools“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 76, 495–511.

- PETERS-WENDISCH, P., R. NETZER, L. EGGELING und H. SAHM (2002). „3-phosphoglycerate dehydrogenase from *Corynebacterium glutamicum*: the C-terminal domain is not essential for activity but is required for inhibition by L-serine“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 60, 437–441.
- PETERS-WENDISCH, P., M. STOLZ, H. ETTERICH, N. KENNERKNECHT, H. SAHM und L. EGGELING (2005) „Metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-serine production“, *Applied and Environmental Microbiology* 71, 7139–7144.
- RUSSO, S., J. E. SCHWEITZER, T. POLEN, M. BOTT und E. POHL (2009). „Crystal structure of the caseinolytic protease gene regulator, a transcriptional activator in Actinomycetes“, *Journal of Biological Chemistry* 284, 5208–5216.
- SCHAAF, S. und M. BOTT (2007). „Target genes and DNA-binding sites of the response regulator PhoR from *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Bacteriology* 189, 5002–5011.
- SCHULTZ, C., A. NIEBISCH, L. GEBEL und M. BOTT (2007). „Glutamate production by *Corynebacterium glutamicum*: dependence on the oxoglutarate dehydrogenase inhibitor protein OdhI and protein kinase PknG“, *Applied Microbiology and Biotechnology* 76, 691–700.
- SCHWEITZER, J. E., M. STOLZ, R. DIESVELD, H. ETTERICH und L. EGGELING (2009). „The serine hydroxymethyltransferase gene *glyA* in *Corynebacterium glutamicum* is controlled by GlyR“, *Journal of Biotechnology* 139, 214–221.
- SHIMIZU, H. und T. HIRASAWA (2007) „Production of glutamate and glutamate-related amino acids: molecular mechanism analysis and metabolic engineering“, in: V. F. WENDISCH (Hrsg.). *Amino acid biosynthesis – pathways, regulation and metabolic engineering*. Berlin und Heidelberg, 1–38.
- STOLZ, M., P. PETERS-WENDISCH, H. ETTERICH, T. GERHARZ, R. FAURIE, H. SAHM, H. FERSTERRA und L. EGGELING (2007) „Reduced folate supply as a key to enhanced L-serine production by *Corynebacterium glutamicum*“, *Applied and Environmental Microbiology* 73, 750–755.
- WENDISCH, V. F., M. BOTT und B. J. EIKMANN (2006a). „Metabolic engineering of *Escherichia coli* and *Corynebacterium glutamicum* for biotechnological production of organic acids and amino acids“, *Current Opinion in Microbiology* 9, 268–274.
- WENDISCH, V. F., M. BOTT, J. KALINOWSKI, M. OLDIGES und W. WIECHERT (2006b). „Emerging *Corynebacterium glutamicum* systems biology“, *Journal of Biotechnology* 124, 74–92.
- WENNERHOLD, J., A. KRUG und M. BOTT (2005). „The AraC-type regulator RipA represses aconitase and other iron proteins from *Corynebacterium* under iron limitation and is itself repressed by DtxR“, *Journal of Biological Chemistry* 280, 40500–40508.
- WENNERHOLD, J. und M. BOTT (2006). „The DtxR regulon of *Corynebacterium glutamicum*“, *Journal of Bacteriology* 188, 2907–2918.

ISBN 978-3-940671-33-2



9 783940 671332