

BIOKATALYSE2021 Projekte Auszug Kurzbeschreibungen

Alle über den Cluster BIOKATALYSE2021 entstehenden Projekte sind interdisziplinäre Kooperationen zwischen Partnern aus Industrie/KMU, Hochschulen sowie Forschungseinrichtungen. Die Einzelprojekte werden durch das Clustermanagement vernetzt und zeitlich abgestimmt, um Synergieeffekte zu generieren.

Projektlaufzeit BIOKATALYSE2021: 2007-2012 plus Verlängerung bis 2016.

BIOKATALYSE2021 Z-Projekt: Zentrales Technologie- und Serviceprojekt für Screening, Fermentation und Proteinreinigung

Partner: Clusterpartner

Koordinator: Prof. Dr. Garabed Antranikian, Institut für Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg

Themenfelder: Screening, Fermentation und Proteinreinigung

Ziele:

Ziele sind die Bereitstellung von automatisierten Screeningsystemen für das Hochdurchsatz Screening (HTS), die Etablierung und Bereitstellung von miniaturisierten Enzymassays, die Herstellung und Durchmusterung von Gen- und Metagenombanken, die Archivierung der im Cluster generierten Sequenz- und Enzymvielfalt in Kooperation mit der MetaCatCollection und der BiocatCollection, Batch-, Fed-batch- oder Dialyse-Kultivierung von Wildtyp- und Host-Stämmen im Maßstab von 2-L bis 300-L (anaerob/aerob) zur Produktion von Zellmasse und/oder Proteinen inkl. Downstream-Processing und die Chromatographische Reinigung (analytischer und präparativer Maßstab) und biochemische Charakterisierung nativer und rekombinanter Proteine.

Laufzeit: 5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im Rahmen der zentralen Technologieplattform (Z-Projekt) sollen allen Projektpartnern technische Ressourcen angeboten werden, die für die Mehrzahl der Projekte essentiell sind und die bei den KMUs und den Universitätslabors in der Regel nicht vorhanden sind. Mit Hilfe des Z-Projektes soll das Gesamtcluster effizienter, kostenbewusster und integrativer gestaltet werden. Kerntechnologien wie das Screening nach neuen Enzymen, die Fermentation und die Proteinaufreinigung sollen nicht dezentral in den Einzelprojekten etabliert werden, sondern zentral in einer Serviceplattform zusammengefasst sein. Die Einzelprojekte können sich so besser auf ihre spezifischen Forschungsaufgaben (z.B. Enzymoptimierung, Prozessentwicklung oder Downstream-Processing) fokussieren und stehen nicht vor der Notwendigkeit, die grundlegenden Technologien ebenfalls vorrätig halten zu müssen. Hierdurch entstehen Cluster übergreifende Einsparungspotenziale, insbesondere im Bereich der Anschaffung hoch preisiger Screening-, Fermentations- und Proteinaufreinigungssysteme. Zugleich steht das im Z-Projekt generierte Know-how allen Clusterpartnern zur Verfügung und muss nicht individuell erarbeitet werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P1:

Enzymatische Oxidationssysteme für Nahrungsmittel und für den technischen Einsatz

Partner:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co., Ahrensburg

Dr. Thomas Weber, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf

Dr. Jens-Michael Hilmer, Symrise GmbH & Co. KG, Holzminden

Dr. Shukrallah Na'amnieh, X-Zyme GmbH, Düsseldorf

Prof. Dr. Garabed Antranikian, Institut für Technische Mikrobiologie, Technische Universität Hamburg-Harburg

Prof. Dr. Ralf G. Berger, Institut für Lebensmittelchemie, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover

Prof. Dr. Uwe Bornscheuer, Institut für Biochemie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Koordinator:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Themenfelder:

Screening, Expression, Prozessentwicklung, stabile Oxidoreduktasen

Ziele:

Es sollen neue und stabilere Oxidoreduktasen für Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelanwendungen aus kaum genutzten biologischen Systemen identifiziert und bis zur Anwendungsreife entwickelt werden.

Laufzeit: 5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Neue und stabilere Oxidoreduktasen für Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelanwendungen sollen gefunden und bis zur Anwendungsreife gebracht werden. Sie sollen insbesondere für folgende Aufgaben geeignet sein:

- Die Generierung von Wasserstoffperoxid mit preiswerten Substraten, insbesondere Glycerin;
- die Entfärbung von Textilfasern und Weizenmehlteigen (Carotinoidabbau);
- die rheologische Optimierung von Teigen für Back- und Teigwaren und der Ersatz chemischer Oxidationsmittel zur Mehlbehandlung;
- die Modifikation von Hydrokolloid- und Protein-haltigen Systemen zur Stabilisierung von Lebensmitteln;
- die Wertschöpfung aus agroindustriellen Nebenströmen durch Generierung von Aromastoffen mit technofunktionellem oder gesundheitlichem Zusatznutzen wie z. B. Thiole, Ionone, LOX-Spaltprodukte, länger-kettige Aldehyde.

Den Ausgangspunkt der Untersuchungen werden drei Enzyme bilden:

- Glycerin-Oxidase auf Basis einer Oxidase,
- Sulfhydryl-Oxidase aus *Saccharomyces* sowie
- Lipoxygenase aus Soja.

Zu diesen Enzymen sollen außerdem leistungsfähige Analoge, Alternativen oder auch Ergänzungen aus extremophilen Mikroorganismen sowie Basidiomyceten gefunden werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P3:

Bereitstellung neuer Perhydrolasen: Steigerung der spezifischen Aktivität von Perhydrolasen bei gleichzeitiger Reduktion der Hydrolaseaktivität

Partner:

Dr. Hendrik Hellmuth, Dr. Timothy O'Connell, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf
Prof. Ulrich Schwaneberg, RWTH Aachen
Prof. Martin Zacharias, Jacobs University Bremen gGmbH, Department of Biochemical Engineering

Koordinator:

Dr. Hendrik Hellmuth, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf

Themenfelder:

Enzymoptimierung, Expression, optimierte Perhydrolasen, optimierte Proteasen

Ziele:

Das Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung von Perhydrolasevarianten auf Basis von Hydrolasen mittels gelenkter Evolution und rationalem Design.
In einem weiteren Projektteil soll die Struktur von Proteasen mittels gelenkter Evolution an ausgewählte reversible Inhibitoren angepasst werden, um eine bessere Inhibierung und somit bessere Lagerstabilität zu gewährleisten.

Laufzeit: 5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Die Möglichkeit, Perhydrolasen in industriellen Prozessen einzusetzen, stellt ein bisher ungenutztes Potential dar, weil bisher kein Enzym zur Verfügung steht, das alle Anforderungen der Industrie erfüllt. Zur Perhydrolaseaktivität esterolytischer Enzyme sind bisher nur wenige Publikationen erschienen, während eine Vielzahl erteilter Patente und Patentanmeldungen vorliegen. Letzteres unterstreicht das ökonomische Potential von Perhydrolasen und den Clusterbezug mit dem Leitthema "Nachhaltige Biokatalyse auf neuen Wegen".

Die reversible Inhibierung von Proteasen ist besonders in flüssigen Produktformulierungen zwingend notwendig, um den autoproteolytischen Abbau während der Lagerung zu verhindern. Neben etablierten, borhaltigen Inhibitorsystemen steht eine Vielzahl an Inhibitoren zur Verfügung, deren Wirkung zu gering ist, um einen kommerziell erfolgreichen Einsatz zu ermöglichen. Die Entwicklung eines alternativen, funktionsfähigen Enzym-Inhibitorsystems ermöglicht den Einsatz von hydrolytischen Enzymen in neuartigen Produktarten und stellt damit eine deutliche Steigerung der Nachhaltigkeit in Aussicht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P6:

Nukleasen und Proteasen mit verbesserten Eigenschaften für die molekulare Präanalytik

Partner:

Prof. Dr. Michael Lorenz, Molzym GmbH & Co. KG, Bremen

Prof. Dr. Ulrich Schwaneberg RWTH Aachen University, Aachen

Prof. Dr.-Ing. Volker C. Hass, Hochschule Bremen Institut für Umwelt und Biotechnik, Bremen

Koordinator:

Prof. Dr. Michael Lorenz, Molzym GmbH & Co. KG, Bremen

Themenfelder:

Enzymoptimierung, Expression, optimierte Nukleasen und Proteasen, Kits für molekulare Analytik

Ziele:

Ziel der Antragsteller ist es, Enzyme mit außergewöhnlichen Eigenschaften für Anwendungen in der molekularen Präanalytik herzustellen.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Molzym hat in den vergangenen Jahren mehrere Enzymsysteme in Anwendungsmärkte der molekularen Analytik (Life Science, Pharma, Diagnostik und Biotechnologie) eingeführt.

Ziel der Antragsteller ist es, Enzyme mit außergewöhnlichen Eigenschaften für Anwendungen in der molekularen Präanalytik herzustellen. Hierzu sollen eine Molzym-Nuklease und eine Molzym-

Peptidase mittels Proteindesign in ihrer Stabilität gegenüber Detergenzien und ionischen Flüssigkeiten verbessert werden. Diese neuen Biokatalysatoren würden Molzym neue Märkte in den Bereichen

Nukleinsäurereinigungskits, u. a. die Automatisierung von Nukleinsäurereinigungsverfahren aus „schwierigem“ Material wie Gewebe, und Reagenzien für die Molekularbiologie erschließen.

Vor dem Hintergrund eines schnellen Produktionsbeginns und damit verbunden einer raschen Markteinführung, werden die ersten Arbeiten zur Prozessentwicklung bereits in der ersten Phase des

Projektes begonnen. Dadurch können potentielle Partner entlang der Wertungskette früh als potentielle Produzenten oder Vertriebspartner angesprochen werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P7/P8:
Einsatz maßgeschneiderter poröser Adsorbentien in enzymatischen Prozessen**

Partner:

Dr. Ulrich Sohling, Dr. Kirstin Suck, Dr. Friedrich Ruf Süd-Chemie AG, Moosburg
Dr. Katrin Köhler, Dr. Axel Thiefes, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Dr. Thorsten Eggert, Dr. Christian Leggewie, evocatal GmbH, Düsseldorf
Prof. Dr. Andreas Liese, Paul Bubenheim, Katja Goldberg, Institut für Technische Biokatalyse,
Technische Universität Hamburg-Harburg
Prof. Dr. Bernd Niemeyer, Heike Temme, Institut für Thermodynamik, Helmut-Schmidt-Universität
Hamburg
Prof. Dr. Thomas Scheper, Dr. Sascha Beutel, Friederike Sander, Kathrin Ralla, Institut für Technische
Chemie, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover
Dr. habil. Lars Dähne, Barbara Baude, Dr. Gabriella Egri, Surflay Nanotec GmbH, Berlin
(Unterauftragnehmer Süd-Chemie)
Gordon Thie, Dr. Annamaria Fiethen, Dr. Hubert Kuhn, CAM-D Technologies GmbH, Essen
(Unterauftragnehmer Süd-Chemie)

Koordinator:

Dr. Ulrich Sohling, Süd-Chemie AG, Moosburg

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Aufarbeitung, Trägermaterialien, immobilisierte Enzyme

Ziele:

Es sollen neue biotechnologisch einsetzbarer Adsorbentien auf Basis von natürlichen und synthetischen Tönen sowie Verfahren für deren Einsatz entwickelt werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Die Entwicklung einer neuen Klasse biotechnologisch einsetzbarer Adsorbentien auf der Basis von natürlichen und synthetischen Tönen sowie die Verfahren für deren Einsatz stellen das Gesamtziel des Vorhabens dar. Diese sollen für folgende Anwendungen adaptiert werden:

- Isolierung von Enzymen
- Immobilisierung von Enzymen (ggf. auch in einem Schritt mit der Isolierung)
- Abtrennung von chiralen Reaktionsprodukten aus enzymatischen Reaktionen.

Zur Optimierung der Systeme aus Enzymen und Trägern sollen in Einzelfällen auch neue Enzyme identifiziert werden. Natürliche Tonerden und synthetische Tone eignen sich zur Adsorption von Proteinen sowie anderen Biomolekülen und können kostengünstig in großen Mengen hergestellt und eingesetzt werden. Sie fungieren als Ionenaustauscher und können hydrophobe Wechselwirkungen mit Proteinen eingehen. Die natürlichen Tonerden können großtechnisch, hinsichtlich Partikelgröße, Porosität, Kapazität variiert werden, und ihre Oberfläche lässt sich gezielt funktionalisieren (maßgeschneiderte Eigenschaften). Mit funktionalisierten Adsorbentien anorganischen Ursprungs können einfache, effektive und spezifische Aufarbeitungssysteme und Immobilisierungssysteme für enzymatische Prozesse etabliert werden. Sie bieten ausreichende Kapazität, um große Volumina mit hohen Produkttitern schnell und sicher aufzuarbeiten. Durch den Einsatz der modifizierten

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Adsorbentien sollen katalytische Proteine (Enzyme) oder auch Reaktionsprodukte aus enzymatischen Reaktionen direkt aus der Fermentationsbrühe ohne Vorbehandlung aufgearbeitet werden. Daneben sollen auch Darreichungsformen zum Einsatz der Adsorbentien zur Enzymimmobilisierung entwickelt werden.

Zum Einsatz in der Aufarbeitung oder in der Anwendung werden natürliche und synthetische Tonerden in Tiefenfilterschichten eingearbeitet, hinsichtlich ihrer adsorptiven Fähigkeiten getestet und als Filtrationssysteme eingesetzt. Modulare Systeme (Kapsulen) werden entwickelt, die allein oder in Kombination, nicht nur für die Enzymaufreinigung, sondern auch für eine direkte Prozessanwendung (Enzymimmobilisierung) verwendet werden können. Daneben soll eine Herstellung von mechanisch stabilen Partikeln den Einsatz der Adsorbentien in Batchprozessen sowie in technischen Säulen zur Chromatographie oder als Träger in enzymatischen Reaktionen ermöglichen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P9:

In-situ Videomikroskopie zur Beobachtung und Optimierung von Proteinkristallisationen in der Aufarbeitung

Partner:

Dr. Daniel Riechers, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Prof. Dr. Thomas Scheper, Institut für Technische Chemie der Leibniz Universität, Hannover
Dr. Jochen Müller-Dieckmann, European Molecular Biology Laboratory, Hamburg

Koordinator:

Dr. Daniel Riechers, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen

Themenfelder:

Proteinstrukturanalyse, Trennverfahren, Videomikroskopie, HTS-Proteinkristallisation

Ziele:

Ziel des Projektes ist die Entwicklung eines In-situ-Mikroskops, das zur prozessbegleitenden nicht-invasiven online-Analyse von Proteinkristallisationen eingesetzt werden kann.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Das im Rahmen dieses Projektes zu entwickelnde In-situ Videomikroskop (IS-VM) soll als ein autoklavierbares Durchlicht-Hellfeld-Mikroskop mit endlich korrigierter Optik aufgebaut werden, das direkt über Standardports in den Kristallisationsreaktor integriert werden kann. Die Kamera wird über eine FireWire-Schnittstelle direkt mit einem PC verbunden sein, auf dem die Bildverarbeitung vorgenommen wird. Erste Prototypen für die Fermentationsüberwachung zur Messung der Zellzahl sind beschrieben. Die Adaptierung des Bildverarbeitungssystems an die Anforderungen einer Kristallisationsbeobachtung beinhaltet die Entwicklung von Algorithmen zur Bildaufnahme, Steuerung und Analyse der Rohdaten. Das IS-VM wird anhand von Untersuchungen an Modellproteinen und .substanzen etabliert, für die Hochdurchsatzscreenings zur Bestimmung des Kristallisationsverhaltens durchgeführt werden. Das Hochdurchsatzscreening ist zudem eine geeignete Methode zur Identifizierung neuer Applikationen, was im Rahmen des Vorhabens erreicht werden soll.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P10:
Innovative Plasmatechnologie zur Enzymimmobilisierung**

Partner:

Torge Vorhaben, neoplas GmbH, Greifswald
Prof. Dr. Uwe Bornscheuer, Institut für Biochemie der Ernst-Moritz-Arndt Universität, Greifswald
Dr. Ulf Menyes, Syntrex Roth und Menyes GbR, Greifswald

Koordinator:

Torge Vorhaben, neoplas GmbH, Greifswald

Themenfelder:

Enzymimmobilisierung, Aufarbeitung, immobilisierte Biokatalysatoren

Ziele:

Ziel des Projektes ist die Entwicklung von innovativen Immobilisierungsmethoden für Biokatalysatoren unter Verwendung von Gasentladungsplasmen.

Laufzeit: 5 Jahre

Kurzbeschreibung:

In dem Projekt werden mit der Bio- und Plasmatechnologie zwei Schlüsseltechnologien in der chemischen Forschung und Entwicklung der nächsten Jahre durch innovative und interdisziplinäre Lösungsansätze miteinander verknüpft.

Gasentladungsplasmaprozesse eröffnen hier einzigartige Möglichkeiten zur langzeitstabilen Veredlung von Oberflächen mit immobilisierten Enzymen. Diese werden innerhalb des Clusters BIOKATALYSE2021 und darüber hinaus als Plattformtechnologie etabliert.

Die Prozesse werden zur technischen Anwendungsreife geführt.

Mit den erhaltenen Ergebnissen werden vergleichende ökonomische Betrachtungen für eine technische Nutzung angestellt.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P11:
Neue Membranadsorbertechnologie zur Aufarbeitung in der Enzymproduktion**

Partner:

Dr. Louis Villain, Dr. Andre Pastor, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Prof. Dr. Thomas Scheper, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover Institut für Technische Chemie, Hannover
Prof. Dr. Garabed Antranikian, Technische Universität Hamburg-Harburg Inst. für Technische Mikrobiologie, Hamburg

Koordinator:

Dr. Louis Villain, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen

Themenfelder:

Aufarbeitung, Membranadsorbertechnologie, Affinitätsaufreinigungssysteme

Ziele:

Ziel dieses Projekts ist es, die Membranadsorbertechnologie auf die speziellen Anforderungen bei der Entwicklung geeigneter Aufarbeitungsstrategien anzupassen und in der biotechnologischen Enzymgewinnung zu etablieren.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

In der modernen Enzymproduktion ist die Wirtschaftlichkeit eines industriellen Prozesses maßgeblich von den Kosten für Isolierung und Aufarbeitung der Wertstoffe abhängig, da das Downstream Processing bis zu 90% der gesamten Prozesskosten ausmachen kann. Aus diesem Grund wird im Bereich Downstream Processing verstärkt nach schnellen und preiswerten Alternativen zur klassischen Chromatographie gesucht, um ökonomische Prozesse zu realisieren. Die Membranadsorbertechnologie stellt eine solche Alternative dar, da sie die Vorteile konventioneller Chromatographiehharze bezüglich Kapazität und Trennleistung mit den Vorzügen membranbasierter Aufreinigungstechniken verbindet. Das Trennprinzip beruht auf der reversiblen Bindung der Biomoleküle an Liganden auf der inneren Membranoberfläche. Der konvektive Stofftransport verhindert, dass die Adsorptionskinetik durch Diffusionsvorgänge limitiert wird. Ziel dieses Projekts ist es, die Membranadsorbertechnologie auf die speziellen Anforderungen bei der Entwicklung geeigneter Aufarbeitungsstrategien anzupassen und in der biotechnologischen Enzymgewinnung zu etablieren. Maßgeschneiderte Membranen sollen entwickelt, in verschiedenen Adsorbermodulgeometrien verfahrenstechnisch charakterisiert, kombiniert (Reihen- und Parallelschaltung) und modelliert werden sowie anhand von Modellsystemen getestet werden. Entsprechend den heutigen Einsatzgebieten der Affinitätschromatographie besteht ein außerordentlich großes Potential bei der Verwendung und Vermarktung von Membranadsorbersystemen. Durch Einsatz der MA als Unit Operation sind weitreichende Einsparungen durch verminderten Ressourceneinsatz und eine wesentlich verbesserte Ökonomie der Downstreamverfahren zu erwarten. Ein dichtes Scale up vom Laborbereich in den Produktionsbereich wird ermöglicht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P13:
Entwicklung vollautomatischer Integrierter Bioprozesse in einer industriekompatiblen
Pilotanlage zur Herstellung heterologer Enzyme mit Hefen**

Partner:

Dr. Louis Villain, Dr. Andre Pastor, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Prof. Dr. Thomas Scheper, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover Institut für Technische Chemie, Hannover
Prof. Dr. Garabed Antranikian, Technische Universität Hamburg-Harburg Inst. für Technische Mikrobiologie, Hamburg

Koordinator:

Dr. Louis Villain, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen

Themenfelder:

Aufarbeitung, Membranadsorbertechnologie, Affinitätsaufreinigungssysteme

Ziele:

Ziel dieses Projekts ist es, die Membranadsorbertechnologie auf die speziellen Anforderungen bei der Entwicklung geeigneter Aufarbeitungsstrategien anzupassen und in der biotechnologischen Enzymgewinnung zu etablieren.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

In der modernen Enzymproduktion ist die Wirtschaftlichkeit eines industriellen Prozesses maßgeblich von den Kosten für Isolierung und Aufarbeitung der Wertstoffe abhängig, da das Downstream Processing bis zu 90% der gesamten Prozesskosten ausmachen kann. Aus diesem Grund wird im Bereich Downstream Processing verstärkt nach schnellen und preiswerten Alternativen zur klassischen Chromatographie gesucht, um ökonomische Prozesse zu realisieren. Die Membranadsorbertechnologie stellt eine solche Alternative dar, da sie die Vorteile konventioneller Chromatographiehharze bezüglich Kapazität und Trennleistung mit den Vorzügen membranbasierter Aufreinigungstechniken verbindet. Das Trennprinzip beruht auf der reversiblen Bindung der Biomoleküle an Liganden auf der inneren Membranoberfläche. Der konvektive Stofftransport verhindert, dass die Adsorptionskinetik durch Diffusionsvorgänge limitiert wird. Ziel dieses Projekts ist es, die Membranadsorbertechnologie auf die speziellen Anforderungen bei der Entwicklung geeigneter Aufarbeitungsstrategien anzupassen und in der biotechnologischen Enzymgewinnung zu etablieren. Maßgeschneiderte Membranen sollen entwickelt, in verschiedenen Adsorbermodulgeometrien verfahrenstechnisch charakterisiert, kombiniert (Reihen- und Parallelschaltung) und modelliert werden sowie anhand von Modellsystemen getestet werden. Entsprechend den heutigen Einsatzgebieten der Affinitätschromatographie besteht ein außerordentlich großes Potential bei der Verwendung und Vermarktung von Membranadsorbensystemen. Durch Einsatz der MA als Unit Operation sind weitreichende Einsparungen durch verminderten Ressourceneinsatz und eine wesentlich verbesserte Ökonomie der Downstreamverfahren zu erwarten. Ein dichtes Scale up vom Laborbereich in den Produktionsbereich wird ermöglicht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P14:
Tools zur Prozessentwicklung für Fermentationen unter extremen Bedingungen (ProTool)

Partner:

Dr. Karl Michael Schoop, Ingenieurbüro Dr.-Ing. Schoop,, Hamburg
Claus Zenneck, medorex e.K, Nörten-Hardenberg
Dr. Piere Rogalla, ZytoVision GmbH, Bremerhaven
Annette Schimmel, Dipl.-Ök., Bremerhavener Gesellschaft für Investitionsförderung und Stadtentwicklung mbH (BIS), Bremerhaven
Prof. Dr.-Ing. Volker C. Hass, Hochschule Bremen Institut für Umwelt und Biotechnik, Bremen
PD Dr.-Ing. Ralf Pörtner, Technische Universität Hamburg-Harburg Inst. für Bioprocess- und Biosystemtechnik, Hamburg

Koordinator:

PD Dr.-Ing. Ralf Pörtner, Technische Universität Hamburg-Harburg Institut für Bioprocess- und Biosystemtechnik, Hamburg

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Fermentationstechnologie, Tools zur Verfahrensentwicklung, parallele Fermentationssysteme

Ziele:

Entwicklung experimenteller Tools (Bioreaktoren, Prozesssteuerung, Prozessführungsstrategien) für mikrobielle Reaktionen unter „extremen“ Bedingungen.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Zur mikrobiellen Biotransformation unter extremen Bedingungen müssen neue Tools und verfahrenstechnische Konzepte entwickelt werden, wobei die Prozessentwicklungsphase schon frühzeitig mit der Entwicklung von Prozessführungsstrategien und der Up-Scaling-Phase verknüpft werden muss. Hier sind miniaturisierte, modulare Bioreaktorsysteme hilfreich, etwa zur Prozessentwicklung oder zur effizienten Gewinnung von Daten, die in ein Metabolic Engineering, eine Verfahrensentwicklung oder -optimierung eingehen sollen. Derzeit sind diese Systeme nur für mikrobielle Reaktionen unter Standardbedingungen geeignet.

Für „extreme“ Reaktionsbedingungen sind zwangsläufig spezielle Entwicklungen (konstruktiv, Werkstoffauswahl, Automation, Steuerung und Regelung) erforderlich. Eine wesentliche Bedeutung kommt der Etablierung effizienter Strategien zum Monitoring sowie zur Steuerung und Regelung der Prozesse zu. Das gilt insbesondere auch dann, wenn innerhalb eines Unternehmens eine Vielzahl unterschiedlicher Produkte unter möglichst optimalen Bedingungen hergestellt wird. Für eine schnelle und sichere Umsetzung der Laborergebnisse in den Produktionsmaßstab bieten sich darüber hinaus geeignete Trainingssimulatoren an, die die erforderlichen Prozessschritte und die im Labor erarbeiteten Prozessparameter beinhalten und dazu beitragen, die Inbetriebnahmezeiten für neue Prozesse auf industrieller Ebene erheblich zu verkürzen und die Produktionssicherheit durch ein verbessertes Mitarbeitertraining erhöhen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P15:
Biokatalyse in hochviskosen Medien**

Partner:

Dr. Marrit Eckstein, Evonik Goldschmidt GmbH, Essen
Prof. Dr. Andreas Liese, Technische Universität Hamburg-Harburg Inst. für Technische Biokatalyse, Hamburg
Prof. Dr. Wolfgang Streit, Universität Hamburg Biozentrum Klein Flottbek, Hamburg

Koordinator:

Dr. Marrit Eckstein, Evonik Goldschmidt GmbH, Essen

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Scale-Up, Prozesstechnik in hochviskösen Medien

Ziele:

Es soll das Scale-Up eines biokatalytischen Verfahrens zur Herstellung von hochviskosen Produkten aus Suspensionen entwickelt werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Ziel des Projektes ist das Scale-Up eines biokatalytischen Verfahrens zur Herstellung von hochviskosen Produkten aus Suspensionen. Durch die Optimierung und Anpassung einer bestehenden Reaktionstechnologie zur Prozessierung von niedrig- bis mittelviskosen Mischungen soll die Herstellung aus Suspensionen ermöglicht werden. Die Ableitung von dimensionslosen Kennzahlen ist dann Grundlage für das Scale-up des Verfahrens und die benötigten Reaktionsbedingungen die Grundlage für die Optimierung des Biokatalysators. Ausgehend von nachwachsenden Rohstoffen wie Fettsäuren und Polyolen wird die Synthese von neuartigen Emulgatoren, wie z. B. Methylglukosidmonostearat oder Sorbitolmonostearat angestrebt. Durch die Kombination von optimierten Enzymsystemen und moderner Reaktionstechnik wird eine Technologieplattform entstehen, die eine schnelle Verfahrensentwicklung für verschiedene Produkte erlaubt. Die entwickelte Technologieplattform soll bei Evonik Goldschmidt in den Produktionsmaßstab übertragen werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P16:

COMPASITES: Computergestützte Analyse aktiver Zentren von Proteinen

Partner:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Andrea Volkamer, Universität Hamburg Zentrum für Bioinformatik, Hamburg
Dr. Daniel Kuhn, Dr. Friedrich Rippmann, Merck KGaA, Darmstadt,
Dr. Christian Lemmen, BioSolveIT GmbH, Sankt Augustin

Koordinator:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Universität Hamburg Zentrum für Bioinformatik, Hamburg

Themenfelder:

Strukturanalyse, Bioinformatik, Programme zur Strukturaufklärung, Software zur Vorhersage und Modellierung von Proteinstrukturen

Ziele:

Im Rahmen dieses Projekts werden neue computergestützte Methoden entwickelt, die aus der 3D-Struktur des Proteins funktionelle Eigenschaften ableiten.

Laufzeit: 4 Jahre

Kurzbeschreibung:

Die dreidimensionale Struktur eines Proteins ist der Schlüssel zu dessen Funktion. Aus der Struktur des aktiven Zentrums eines Enzyms lassen sich vielfältige Informationen von hoher praktischer Relevanz für den biotechnologischen Einsatz als auch für die pharmazeutische Forschung ableiten. Im Rahmen dieses Projekts werden neue computergestützte Methoden entwickelt, die aus der 3D-Struktur des Proteins funktionelle Eigenschaften ableiten. Insbesondere sollen Informationen über potentielle Substrate, Substratspezifität und Inhibierbarkeit des Enzyms gewonnen werden. Die Vorhersagen werden durch die Berechnung struktureller Deskriptoren ermöglicht, die mit dem Bindungsverhalten korreliert werden können. Zudem ermöglichen Docking-Rechnungen als auch die vergleichende Analyse aktiver Zentren Aufschlüsse über die Proteinfunktion. Bei der Berechnung von Deskriptoren und bei der vergleichenden Analyse wird ein besonderer Fokus auf eine möglichst korrekte Beschreibung der konformationellen Freiheitsgrade des Proteins gelegt.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P18:

Stabile Enzyme für die Umsetzung von hochwertigen und ungewöhnlichen Substraten

Partner:

Prof. Wolfgang Streit, Biozentrum Klein Flottbek, Abteilung für Mikrobiologie und Biotechnologie der Universität Hamburg

Dr. Michael Schulte, Merck KGaA, Darmstadt

Prof. Dr. B. Niemeyer, Institut für Thermodynamik der Helmut-Schmidt-Universität Hamburg

Prof. Dr. Ruth Schmitz-Streit, Institut für Allgemeine Mikrobiologie der Christian-Albrechts-Universität Kiel

Koordinator:

Prof. Wolfgang Streit, Biozentrum Klein Flottbek, Abteilung für Mikrobiologie und Biotechnologie der Universität Hamburg

Themenfelder:

Screening, Expression, Biokatalyse, selektive Produktaufarbeitung, Prozessentwicklung, stabile Oxidasen und Transferasen, Flavonoide in Lebensmitteln, Medikamenten und Kosmetika

Ziele:

Ziel des Projektes ist es, neue Enzyme zu identifizieren, die Flavonoide an definierten Positionen modifizieren.

Laufzeit: 5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Flavonoide sind pflanzliche Inhaltsstoffe, deren Grundgerüst aus zwei aromatischen Ringsystemen besteht. Sie werden sehr häufig als Antioxidantien, Antiallergika und Entzündungshemmer eingesetzt. Darüber hinaus sind sie Bestandteil von Cholesterin-senkenden Medikamenten oder werden als signifikanter UV-Schutz in Sonnencremes eingebracht. Ein weiterer wichtiger Einsatzort von Flavonoiden liegt in der Anwendung als sekundärer Botenstoff zur Förderung des Pflanzenwachstums in der Agrarindustrie. Flavonoide/Iso-Flavonoide werden üblicherweise von Pflanzen synthetisiert, zumeist auch aus diesen gewonnen, und haben in den letzten Jahren als natürliche Wirkstoffe im Bereich der Pharma-, Kosmetik- und Nahrungsmittelindustrie sehr stark an Bedeutung gewonnen. In Hinblick auf ihre Verfügbarkeit im industriellen Maßstab sind vor allen Dingen Modifikationen, wie beispielsweise Glycosylierungen und Sulfatierungen an unterschiedlichen Positionen des Moleküls entscheidend. Von besonderem Interesse sind hier z.B. Glucuronide, welche durch den enzymatischen Transfer von Glucuronsäure an Quercetin oder durch Oxidation des Glukoseanteils gewonnen werden können. Hierzu werden spezifische Transferasen und/oder Oxidasen benötigt. Auf chemischem Weg lassen sich diese Reaktionen nur schwer darstellen. Daher sollen im Rahmen des Projektes Enzyme aus Metagenomen isoliert werden, die genau diese Reaktionen durchführen, um so einen Zugang zu den gewünschten Molekülen zu erreichen.

Im Verbund werden die neuen Enzyme in größeren Mengen hergestellt, spezifisch in wenigen Trennschritten gewonnen und danach an Oberflächen chemisch fixiert um für die Herstellung der neuen Wertstoffe eingesetzt werden zu können. Die neuen Wertstoffe sind danach effektiv aus den Reaktionsgemischen in höchster Reinheit zu separieren.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P19:
Biokatalytische Gewinnung von Flavonoiden**

Partner:

Dr. Arne Peters, E-nema Gesellschaft für Biotechnologie und biologischen Pflanzenschutz mbH,
Raisdorf

Koordinator:

Dr. Arne Peters, E-nema GmbH, Raisdorf

Themenfelder:

Biokatalyse, Prozessentwicklung, Aufarbeitung, antimikrobielle Wirkstoffe, Kosmetika, Lebensmittel

Ziele:

Ziel ist die Entwicklung eines Verfahrens zur Synthese und Gewinnung natürlicher, hochreiner
Zimtsäuren im technischen Maßstab.

Laufzeit: 2 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im Rahmen des Projekts soll ein Verfahren zur Synthese und Gewinnung natürlicher, hochreiner
Zimtsäuren entwickelt und im technischen Maßstab demonstriert werden. Dabei gilt es, einen
industriellen Prozess auszuarbeiten, der unter den gegebenen Voraussetzungen das (nachweislich)
ökonomische Optimum der Umsetzung von L-Phenylalanin zur natürlichen Zimtsäure darstellt. Die
Zielverbindung trans-Zimtsäure wird aufgrund ihres antibakteriellen und insbesondere antifungalen
Wirkspektrums sowohl in der Natur- und High-Tech-Kosmetik als auch der pharmazeutischen
Industrie als Konservierungsmittel Verwendung finden. Ausgehend von der Zielverbindung sollen im
Projektanschluss weitere natürliche Zimtsäure-Derivate synthetisiert und entsprechend ihrer
Eigenschaften als antimikrobielle oder entzündungshemmende Wirkstoffe, Antioxidanzien oder UV-
Schutzfaktoren in Kosmetika eingesetzt werden.

Das Projekt hat hinsichtlich der geplanten Produktionstechnologie Modellcharakter für die Konversion
von Aminosäuren zu natürlichen Wirkstoffen. Hinsichtlich des Biokatalysators kann herausgestellt
werden, dass das Enzym Phenylalanin-Ammoniumlyase gegenwärtig für eine industrielle Umsetzung
von L-Phenylalanin zu trans-Zimtsäure nicht zur Verfügung steht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P23:

Biotransformation von L-Phenylalanin mit Phenylalanin-Ammoniumlyase aus *Rhodotorula ssp.* zur natürlichen trans-Zimtsäure

Partner:

Dr. Arne Peters, E-nema Gesellschaft für Biotechnologie und biologischen Pflanzenschutz mbH, Raisdorf

Koordinator:

Dr. Arne Peters, E-nema GmbH, Raisdorf

Themenfelder:

Biokatalyse, Prozessentwicklung, Aufarbeitung, antimikrobielle Wirkstoffe, Kosmetika, Lebensmittel

Ziele:

Ziel ist die Entwicklung eines Verfahrens zur Synthese und Gewinnung natürlicher, hochreiner Zimtsäuren im technischen Maßstab.

Laufzeit: 2 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im Rahmen des Projekts soll ein Verfahren zur Synthese und Gewinnung natürlicher, hochreiner Zimtsäuren entwickelt und im technischen Maßstab demonstriert werden. Dabei gilt es, einen industriellen Prozess auszuarbeiten, der unter den gegebenen Voraussetzungen das (nachweislich) ökonomische Optimum der Umsetzung von L-Phenylalanin zur natürlichen Zimtsäure darstellt. Die Zielverbindung trans-Zimtsäure wird aufgrund ihres antibakteriellen und insbesondere antifungalen Wirkspektrums sowohl in der Natur- und High-Tech-Kosmetik als auch der pharmazeutischen Industrie als Konservierungsmittel Verwendung finden. Ausgehend von der Zielverbindung sollen im Projektanschluss weitere natürliche Zimtsäure-Derivate synthetisiert und entsprechend ihrer Eigenschaften als antimikrobielle oder entzündungshemmende Wirkstoffe, Antioxidanzien oder UV-Schutzfaktoren in Kosmetika eingesetzt werden.

Das Projekt hat hinsichtlich der geplanten Produktionstechnologie Modellcharakter für die Konversion von Aminosäuren zu natürlichen Wirkstoffen. Hinsichtlich des Biokatalysators kann herausgestellt werden, dass das Enzym Phenylalanin-Ammoniumlyase gegenwärtig für eine industrielle Umsetzung von L-Phenylalanin zu trans-Zimtsäure nicht zur Verfügung steht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P24:
Isolierung, Charakterisierung und Produktion antimikrobieller Peptide (AMPs) mariner
Mikroorganismen**

Partner:

PD Dr. Michael Kleine, PLANTON GmbH, Kiel

Prof. Dr. Johannes F. Imhoff, Leibniz-Institut für Meereswissenschaften Kiel IFM-GEOMAR Zentrum für Marine Wirkstoffe, Kiel

Prof. Dr. Daguang Cai, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel Institut für Molekulare Phytopathologie, Kiel, Kiel

Koordinator:

PD Dr. Michael Kleine, PLANTON GmbH, Kiel

Themenfelder:

Antimikrobielle Peptide (AMP), Screening, Biokatalyse, Prozessentwicklung, Aufarbeitung

Ziele:

Im Rahmen des Projektes sollen neue antimikrobielle Peptide isoliert, deren biologische Aktivität festgestellt, die chemische Struktur der AMP aufgeklärt sowie die Gene für ihre Biosynthese und deren Regulation molekularbiologisch untersucht werden. Schließlich sollen Wege zur Produktion und Vermarktung der Substanzen etabliert werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Antimikrobielle Peptide (AMPs) bilden eine neue Klasse von antibiotischen Wirkstoffen mit einem breiten Wirkspektrum gegen Gram-negative und Gram-positive Bakterien, Pilze und enkapsidierte Viren.

Die Wirksamkeit antibiotisch aktiver Substanzen in der medizinischen Praxis wird zunehmend durch die Bildung resistenter Keime eingeschränkt. Verschiedene Studien belegen, dass bereits heute mehr als 95% der Staphylococcus aureus Stämme gegen Penicillin und mehr als 60% der Stämme gegen das Penicillin-Derivat Methicillin resistent sind. Darüber hinaus weisen Vertreter der FDA darauf hin, dass während der letzten 20 Jahre deutlich weniger antibiotische Wirkstoffe pro Jahr zugelassen wurden. Erst kürzlich konnte zum erstenmal seit Dekaden wieder eine Substanz, die eine neue antibiotisch wirksame Stoffklasse repräsentiert, von der FDA zugelassen werden (Daptomycin, Cubist Pharmaceuticals).

Vor dem Hintergrund der Zunahme resistenter Keime und dem Fehlen neuer effizienter Produktkandidaten, ist es dringend notwendig, neue und innovative antibiotische Wirkstoffe zu entwickeln. Neben der medizinischen Anwendung können solche Substanzen aber auch in der Kosmetik, der Nahrungsmittelindustrie z.B. als Konservierungsstoff oder in der Landwirtschaft (Pflanzenschutz) Verwendung finden. In dem vorliegenden Vorhaben soll das in dieser Hinsicht noch weitgehend unbearbeitete marine Habitat erschlossen werden, um AMPs aus marinen Mikroorganismen zu isolieren:

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P27:
Neue Bacillus Expressionssysteme**

Partner:

Dr. Lutz Popper, Stern-Enzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg
Tanno Hübel, Miltenyi Biotec GmbH, Teterow
Prof. Dr. Thomas Schweder, Johannes Kabisch, Sandra Beyer, Ernst-Moritz-Arndt-Universität ,
Greifswald

Koordinator:

Dr. Lutz Popper, Stern-Enzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Aufarbeitung, Fermentationsverfahren

Ziele:

Im Mittelpunkt des Vorhabens steht die Optimierung von drei verschiedenen Bacillus subtilis Expressionssystemen, für die genetische Optimierungen geprüft und geeignete Fermentationsverfahren entwickelt werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Gegenstand dieses Verbundprojektes ist es, neue, verbesserte Expressionssysteme zur industriellen Anwendung auf Basis des Gram-positiven Bakteriums Bacillus subtilis und darauf abgestimmte Fermentationsverfahren zu entwickeln. Diese Expressionssysteme sollen genutzt werden, um Enzyme, die aus Projekten des Clusters BIOKATALYSE2021 hervorgegangen sind, in ausreichenden Mengen für Applikationstests zu produzieren und erste industrielle Produktionsverfahren zu etablieren. Dabei stehen (1.) ein Glukose/Acetoin-reguliertes (acoA) -, (2.) ein Phosphat-reguliertes (pstS) - sowie (3.) ein Niedrigtemperatur (cspB) - Expressionssystem im Mittelpunkt. Da eine Vielzahl von rekombinanten Zielproteinen in den Standardexpressionssystemen nicht erfolgreich exprimiert werden kann bzw. nur unlöslich in Form von Proteinaggregaten akkumuliert, werden neue, alternative Expressionsstrategien gesucht. Stern-Enzym und Miltenyi Biotec beabsichtigen, die hier vorgeschlagenen Bacillus Expressionssysteme für eigene Enzym- und Proteinproduktionsprozesse zu etablieren. Stern-Enzym und Miltenyi Biotec arbeiten an der Entwicklung neuer eigener Enzyme und suchen geeignete preiswerte Verfahren für deren großtechnische Produktion. Im Rahmen dieses Projektes sollen die drei vorgeschlagenen Expressionssysteme genetisch optimiert werden. Dabei stehen Modulationen der Regulatorsequenzen, Stammoptimierungen und metabolisches Engineering der Stämme im Vordergrund. Des Weiteren sollen geeignete Fed-batch- Fermentationsstrategien für diese Bacillus Wirts-Vektor-Systeme entwickelt werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P28:
Neue biokatalytische Phosphorylierungen von Metaboliten**

Partner:

Dr. Roland Wohlgemuth, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Prof. Dr. Andreas Liese, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Technische Biokatalyse
Prof. Dr. Wolfgang Streit, Universität Hamburg, Abteilung für Mikrobiologie und Biotechnologie

Koordinator:

Dr. Roland Wohlgemuth, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

Themenfelder:

Biotechnologie, Screening, ScaleUp

Ziele:

Ziel des Projektes ist die Erforschung neuer Wege zur Herstellung ausgewählter Metabolite und die bioverfahrenstechnische Umsetzung in den großtechnischen Maßstab. Dabei handelt es sich um phosphorylierte Metabolite aus dem Zentralstoffwechsel, die bislang nur eingeschränkt bzw. nicht auf dem Markt erhältlich sind, aber als Feinchemikalien und für diagnostische Zwecke ein erhebliches Marktpotential besitzen.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Für das Gesamtprojekt wird eine Reihe von analytischen Methoden zum Einen für die Optimierung und Analyse der biokatalytischen Reaktionen und zum Anderen für die Qualitätssicherung bei der Aufreinigung und Maßstabsvergrößerung benötigt. Zur gezielten Prozessentwicklung sollen zunächst kommerziell erhältliche Enzyme verwendet werden. Im Anschluss daran sollen auch Enzyme, die durch das Screening von Metagenomdatenbanken erhalten wurden, verwendet werden. Diese Enzyme sollen in geeignete Expressionssysteme transformiert, charakterisiert und anschließend rekombinant zur Verfügung gestellt werden. Die Aufreinigungsmöglichkeiten werden zunächst in Vorversuchen untersucht und anschließend die Aufreinigungsprozesse etabliert und optimiert. Die Zielprodukte sollen parallel hierzu aus geeigneten Vorstufen, deren Herstellungsverfahren bekannt oder während des Projektes entwickelt wurden, mittels Enzymen und chemoenzymatischen Sequenzen sowie Biokatalyse in ganzen Zellen gewonnen werden. Die speziellen Eigenschaften der Zielprodukte erfordern auch in der Aufarbeitung neuartige Technologien. Hier sind vor allem neue Verfahrenskombinationen und in situ-Verfahren von besonderem Interesse.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P29:
Kongenere Lipasen mit verbesserter katalytischer Aktivität und Substratzugang**

Partner:

Prof. Dr. Nediljko Budisa, Technische Universität Berlin, AK Biokatalyse, Institut für Chemie und Organische Chemie

Prof. Dr. Garabed Antranikian, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Technische Mikrobiologie

Dr. Matthias Wilmanns, MBL Outstation EMBL-Hamburg Unit, European Molecular Biology Laboratory

Koordinator:

Prof. Dr. Nediljko Budisa, Technische Universität Berlin, AK Biokatalyse, Institut für Chemie und Organische Chemie

Themenfelder:

Kongenere Lipasen, Genetic Code Engineering, Supplementation Incorporation Method (SPI)

Ziele:

Die Herstellung von kongenere Lipasen mittels eines erweiterten genetischen Codes dehnt die etablierte Technologie auf industriell relevante Lipasen aus und macht diese für den Wirtschaftsstandort Deutschland zugänglich. Mithilfe derartiger Lipasekongenere rückt auch die Erschließung neuer Produktklassen, deren chemische Synthese bislang nicht möglich war, in greifbare Nähe.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Das Ziel dieses Vorhabens ist es, künstliche Proteinmodifikationen, die direkt auf Aminosäureebene eingebracht werden (SPI-Methode), für industriell relevante Proteine weiterzuentwickeln und dabei entsprechende Kongenere mit gewünschten Eigenschaften zu generieren und zu identifizieren. Im Gegensatz zu den klassischen, gentechnischen Methoden, wie rationales Proteindesign oder gerichtete Evolution, wird die Modifikation bei der SPI-Methode unmittelbar während der Translation in das Zielprotein eingeführt. Dies wird mit einer etablierten Technik, dem sogenannten Genetic Code Engineering erreicht, wobei ein und dieselbe kodierende DNA Sequenz durch die Erweiterung des genetischen Codes mit nicht-kanonischen Aminosäuren in unterschiedliche Proteinvarianten übersetzt werden kann. Derartige Kongenere können eine bessere, da leichter zugängliche Alternative zu klassisch optimierten Enzymen und Proteinen für die Industrie darstellen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P30:
Erstes SeSaM-Mutagenesekit für das evolutionäre Biokatalysatordesign**

Partner:

Prof. Dr. Ulrich Schwaneberg, RWTH Aachen, Lehrstuhl für Biotechnologie, Aachen
Dominik Behrendt, SeSaM-Biotech GmbH, Bremen

Koordinator:

Dominik Behrendt, SeSaM-Biotech GmbH

Themenfelder:

Enzymoptimierung, Gelenkte Evolution, Mutantenbibliotheken, SeSaM-Technologieplattform

Ziele:

In diesem Projekt sollen der SeSaM-Technologie neue Märkte (Enzymkits) erschlossen werden und der Technologievorsprung im Bereich der Zufallsmutagenesetechnologie ausgebaut werden (neue Polymerasen).

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Zielsetzung des Verbundvorhabens ist es durch Kombination der Expertisen und Ressourcen der akademischen Forschungsgruppe (AG Schwaneberg), der BIOKATALYSE2021 Cluster Infrastruktur/MetaCat-Collection (Z-Projekt) und der KMU (SeSaM-Biotech) gemeinsam neue Produkte und Dienstleistungen basierend auf einer verbesserten SeSaM-Technologieplattform zu entwickeln und weiteren Verbundpartnern zugänglich zu machen. Als Produkte sollen ein SeSaM-Tv Zufallsmutagenesekit entwickelt werden, welches als erstes Kit im Markt alle einzelnen Positionen in einer Zielsequenz mutieren kann. Die Entwicklung von speziell an die Anforderungen in der SeSaM-Technologie angepassten und neuartigen DNA-Polymerasen wird es SeSaM-Biotech ermöglichen, schneller und kosteneffizienter hochqualitative Dienstleistungen für die industrielle und medizinische Biotechnologie bereitzustellen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P32:

Entwicklung eines probiotischen Konservierungsmittels für industrielle Anwendungen

Partner:

Prof. Dr. Detlef Goelling, Organobalance GmbH, Berlin
Berndt Kröger, Danisco Deutschland GmbH, Niebüll
Dr. Ralf Kelle, Evonik Degussa GmbH, Halle/Westfalen
Dr. Timothy O'Connell, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf
Prof. Dr. Helmut Erdmann, Fachhochschule Flensburg
Lutz Warschofsky, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Prof. Dr. Ralf Pörtner, Technische Universität Hamburg-Harburg

Koordinator:

Prof. Dr. Detlef Goelling, Organobalance GmbH, Berlin

Themenfelder:

Screening, Prozessentwicklung, Herstellung von Produktmustern, Durchführung von Analysen

Ziele:

Es sollen Assaysysteme und Produktionsprozesse etabliert werden, die beispielhaft für weitere Entwicklung im Rahmen des Clusterkonzepts „Nachhaltige Biokatalyse auf neuen Wegen - Chancen nutzen und gestalten“ wären. Insbesondere durch den hohen Anwendungsfokus können mit hoher Wahrscheinlichkeit diese Entwicklungen dann den Fortschritt in weiteren Industrie-relevanten Projekten vorantreiben.

Laufzeit: 2,5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im Rahmen des Forschungsvorhabens soll ein probiotisches Konservierungsmittel entwickelt und für industrielle Anwendungen in den Bereichen Wasch- und Reinigungsmittel, Kosmetika, Lebensmittel und Tierernährung nutzbar und verfügbar gemacht werden. Als Produktionsstamm soll ein Milchsäurebakterium mit antimikrobiologischer Eigenschaft aus der ORGANOBALANCE Stammsammlung identifiziert werden. Zunächst werden relevante Kontaminanten aus den o.g. Anwendungsbereichen isoliert. Geeignete Kandidaten werden unter Anwendung des OASSYS® hinsichtlich der späteren Einsatzgebiete auf Hemmung der isolierten Kontaminanten (Indikatorstämme) identifiziert. Im weiteren Verlauf des Forschungsvorhabens wird das Wirkprinzip der ausgewählten Kandidatenstämme untersucht. In den nächsten Schritten werden die Kandidatenstämme einer zielgerichteten Prozessentwicklung unterzogen, um eine Produktion von Produktmustern zu ermöglichen. Der besondere Fokus liegt auf der Entwicklung eines wirtschaftlichen up-scale fähigen Produktionsprozesses. Dabei wird ein Fermentationsverfahren entwickelt, welches anschließend mit einem Ernte- und Aufarbeitungsprozess verknüpft wird. Im darauffolgenden Schritt wird das Produktionsverfahren angewendet und Produktmuster in der Technikumsanlage bei ORGANOBALANCE hergestellt. Ziel ist es, die von ORGANOBALANCE hergestellten Produktmuster bei interessierten Kunden in den o.g. Anwendungsgebieten zu testen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P34:

Nachhaltige Entwicklung von biosynthetischen Methoden für die Herstellung von methoxylierten Flavanonen und Flavanen als Aromastoffe

Partner:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Dr. Arne Peters, E~nema Gesellschaft für Biotechnologie und Biologischen Pflanzenschutz mbH, Schwentinental

Prof. Dr. Ralf G. Berger, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover, Institut für Lebensmittelchemie

Prof. José Luis Copa Patiño, Universidad de Alcalá, Dpto. Microbiología y Parasitología

Koordinator:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Themenfelder:

Expression, Produktionssysteme, Upscaling

Ziele:

Feruloyl-Esterase (FAE) soll aus *Streptomyces werraensis* und aus durch Screening nach FAE gefundenen Basidiomyceten gewonnen und ihr Potential bei der Anwendung in der Mehlverarbeitung, der Biofuel-Herstellung sowie der Aromasynthese geprüft werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Feruloyl-Esterase (ferulic acid esterase, FAE; EC 3.1.1.73; CAS 134712-49-5) gehört zu den Hemicellulasen. Sie katalysiert das Hydrolysegleichgewicht von Estern der Ferulasäure in pflanzlichen Polysacchariden wie Arabinoxylanen. Die durch FAE freigesetzte Ferulasäure hat antioxidative Eigenschaften und ist bei der Aromabildung in Sauerteigen beteiligt. Industriell wird Ferulasäure als Precursor des Vanillins eingesetzt. Die Hydrolyse in den Seitenketten der Arabinoxylane verringert den Polykondensationsgrad dieser Pentosane und hat damit starken Einfluss auf deren Wasserbindevermögen. Dies ist sowohl für die Verarbeitung von Weizenmehl zu Gebäcken oder Panaden als auch bei der Verwendung von Getreide oder lignifiziertem Material zur Stärke-, Protein- oder Ethanolproduktion von Interesse, da dadurch der Trennvorgang verbessert und der Energieaufwand verringert werden kann. Die wenigen bei PDB hinterlegten Vertreter der FAE stammen allesamt aus *Clostridium thermocellum* und *Aspergillus niger* und eignen sich aufgrund ihrer spezifischen Eigenschaften nur begrenzt für diese Aufgaben. Im Rahmen dieses Projektes sollen neue, laut Vorarbeiten besser geeignete mikrobielle Produktionssysteme für FAE aus dem Bodenbakterium *Streptomyces werraensis* und aus dem Basidiomyceten *Phanerochaete chrysosporium* entwickelt werden. In der Natur werden Quervernetzungen im Verbundpolymer Lignin durch Redoxenzyme und Hydrolasen aus xerophilen Pilzen aerob gelöst und durch eine komplexe Bodenflora überwiegend anaerob weiter degradiert. Dazu sind FAE erforderlich, die charakterisiert und heterolog in food-grade (K12) Stämmen von *E.coli* oder in *Streptomyces werraensis* exprimiert werden sollen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P37:

Entwicklung und Optimierung eines mikrobiellen Expressionssystems zur Produktion von Feruloyl-Esterase

Partner:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Dr. Arne Peters, E-nema Gesellschaft für Biotechnologie und Biologischen Pflanzenschutz mbH, Schwentinental

Prof. Dr. Ralf G. Berger, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover, Institut für Lebensmittelchemie

Prof. José Luis Copa Patiño, Universidad de Alcalá, Dpto. Microbiología y Parasitología

Koordinator:

Dr. Lutz Popper, SternEnzym GmbH & Co. KG, Ahrensburg

Themenfelder:

Expression, Produktionssysteme, Upscaling

Ziele:

Feruloyl-Esterase (FAE) soll aus *Streptomyces werraensis* und aus durch Screening nach FAE gefundenen Basidiomyceten gewonnen und ihr Potential bei der Anwendung in der Mehlverarbeitung, der Biofuel-Herstellung sowie der Aromasynthese geprüft werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Feruloyl-Esterase (ferulic acid esterase, FAE; EC 3.1.1.73; CAS 134712-49-5) gehört zu den Hemicellulasen. Sie katalysiert das Hydrolysegleichgewicht von Estern der Ferulasäure in pflanzlichen Polysacchariden wie Arabinoxylanen. Die durch FAE freigesetzte Ferulasäure hat antioxidative Eigenschaften und ist bei der Aromabildung in Sauerteigen beteiligt. Industriell wird Ferulasäure als Precursor des Vanillins eingesetzt. Die Hydrolyse in den Seitenketten der Arabinoxylane verringert den Polykondensationsgrad dieser Pentosane und hat damit starken Einfluss auf deren Wasserbindevermögen. Dies ist sowohl für die Verarbeitung von Weizenmehl zu Gebäcken oder Panaden als auch bei der Verwendung von Getreide oder lignifiziertem Material zur Stärke-, Protein- oder Ethanolproduktion von Interesse, da dadurch der Trennvorgang verbessert und der Energieaufwand verringert werden kann. Die wenigen bei PDB hinterlegten Vertreter der FAE stammen allesamt aus *Clostridium thermocellum* und *Aspergillus niger* und eignen sich aufgrund ihrer spezifischen Eigenschaften nur begrenzt für diese Aufgaben. Im Rahmen dieses Projektes sollen neue, laut Vorarbeiten besser geeignete mikrobielle Produktionssysteme für FAE aus dem Bodenbakterium *Streptomyces werraensis* und aus dem Basidiomyceten *Phanerochaete chrysosporium* entwickelt werden. In der Natur werden Quervernetzungen im Verbundpolymer Lignin durch Redoxenzyme und Hydrolasen aus xerophilen Pilzen aerob gelöst und durch eine komplexe Bodenflora überwiegend anaerob weiter degradiert. Dazu sind FAE erforderlich, die charakterisiert und heterolog in food-grade (K12) Stämmen von *E.coli* oder in *Streptomyces werraensis* exprimiert werden sollen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P38:
Neue Reaktionskonzepte für enzymatische Reaktionen auf der Basis von immobilisierten Enzymen**

Partner:

Dr. Kirstin Suck, Paul Bubenheim, Dr. Friedrich Ruf, Dr. Ulrich Sohling, Clariant Produkte (Deutschland) GmbH, Moosburg
Jan-Christoph Antony, Dr. Boris Galunski, Prof. Dr. Andreas Liese, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Technische Biokatalyse
Linda Herring, Dr. Andrea Weckbecker, Dr. Christian Leggewie, Dr. Thorsten Eggert, evocatal GmbH, Düsseldorf
Oliver Wenzel, Prof. Dr. Bernd Niemeyer, Helmut-Schmidt-Universität, Universität der Bundeswehr Hamburg
Robert Ulmann, Dr. Sascha Beutel, Prof. Dr. Thomas Scheper, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover, Institut für Technische Chemie
Dr. Axel Thiefes, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Dr. Annamaria Fiethen, Dr. Hubert Kuhn, CAM-D Technologies GmbH, Essen
Dr. Ute Schuldt, Dr. Claudia Aldenhoven, Dr. Gabriella Egri, Dr. habil Lars Dähne, Surflay Nanotec GmbH, Berlin
Dr. Ulf Strijowski, Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V., Quakenbrück

Koordinator:

Dr. Ulrich Sohling, Clariant Produkte (Deutschland) GmbH, Moosburg

Themenfelder:

Enzymimmobilisierung, Aufarbeitung, In-Situ-Adsorption

Ziele:

Entwicklung von mehrfach einsetzbaren geträgerten Enzymen und Prozessen für deren Einsatz.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Es werden folgende optimierte, immobilisierte Enzyme für technisch relevante Reaktionen sowohl in der Feinchemie, als auch zur Aufreinigung von nachwachsenden Rohstoffen und Biokraftstoffen entwickelt:

- Transaminasen zur Herstellung chiraler Amine und Aminosäuren
- Glucosidasen zur enzymatischen Spaltung von Sterylglycosiden in Biodiesel und Pflanzenölen
- Lipasen zur Herstellung spezieller Esterverbindungen
- Phospholipasen und deren Kombinationen mit weiteren Enzymen zur Entschleimung von Pflanzenölen.

Weitere Arbeitsschwerpunkte des Projektes liegen auf folgenden Aspekten:

- Einsatz von immobilisierten Enzymen in Reaktionen in überkritischem CO₂
- Einsatz der LBL Technologie zur Modifikation von Oberflächen für die Enzymimmobilisierung
- Molecular Modelling zur Simulation der Enzymstruktur an den Grenzflächen der Immobilisate.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P40:

Entwicklung eines biotechnologischen Herstellverfahrens für nicht-natürliche Cyclopeptide (BIOPEP)

Partner:

Dr. Claus-Peter Niesert, Merck KGaA, Darmstadt

Prof. Dr. Helge B. Bode, Goethe Universität Frankfurt, Institut für Molekulare Biowissenschaften

Koordinator:

Dr. Claus-Peter Niesert, Merck KGaA, Darmstadt

Themenfelder:

Fermentative Peptidsynthese, Biokatalyse, Enzymoptimierung, Prozessentwicklung

Ziele:

Ziel des Projektes ist es, anhand eines Zielpeptids Wege zur biotechnologischen Herstellung cyclischer Peptide mittels modifizierter nichtribosomaler Peptidsynthetasen (NRPS) in Bakterien zu entwickeln.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

NRPS sind Multienzym-Komplexe, die aus verschiedenen katalytisch aktiven Domänen bestehen, die zu funktionalen Modulen zusammengefasst sind - dementsprechend wird schrittweise vorgegangen: Zunächst sollen Domänen zur selektiven Erkennung der für die Zielstruktur benötigten Aminosäuren entwickelt werden sowie Thioesterasen, die spezifische lineare Peptide der Zielsequenz zyklisieren. Diese Domänen sollen dann zu einzelnen Modulen sowie zu größeren funktionalen Einheiten zusammengefügt werden. Im letzten Schritt soll daraus eine vollständige NRPS entstehen, die das zyklische Zielpeptid herstellen kann. Bausteine werden insbesondere aus NRPS-kodierenden Genen von *Xenorhabdus* und *Photorhabdus* neu kombiniert, die zahlreiche zyklische Peptide herstellen und in denen die benötigten Zielstrukturelemente enthalten sind.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P41:

Entwicklung eines hautfreundlichen biologischen Wirkstoffs für die effiziente Hände- und Oberflächendesinfektion

Partner:

Dr. Andreas Raab, ORGANOBALANCE GmbH, Berlin
Hygiene Nord GmbH, Greifswald

Koordinator:

Dr. Andreas Raab, ORGANOBALANCE GmbH, Berlin

Themenfelder:

Screening, Prozessentwicklung, Up-Scaling

Ziele:

Ziel des Projektes ist die Entwicklung einer zu herkömmlichen Desinfektionsmitteln alternativen Hand- und Oberflächen-Reinigungslösung.

Laufzeit: 2,5 Jahre

Kurzbeschreibung:

Ziel ist die Entwicklung eines innovativen biologischen Produktes in Form von GRAS Mikroorganismen, vorzugsweise Milchsäurebakterien, das als spezifisch wirkendes anti-mikrobielles Additiv für die Hände- und Oberflächendesinfektion im Bereich Kosmetik und Wasch- und Reinigungsmittel eingesetzt werden kann. Bei der Entwicklung neuer Produkte für die genannten Bereiche wird zukünftig verstärkt auf die Vermeidung chemischer Wirkstoffe gesetzt- aus gesundheitlichen und ökologischen sowie aus Gründen der Deklarierungspflicht. Die ORGANOBALANCE GmbH plant daher ein Produkt zu entwickeln, das Hand- und Oberflächen-Reinigungslösungen zugesetzt werden kann, welches pathogene Leitkeime bindet und diese als Aggregat effizient abwäscht und auf diese Weise signifikant reduziert. Der dazu verwendete Wirkmechanismus (spezifische Co-Aggregation) ist prädestiniert für Anwendungen, die eine hohe Wirksamkeit mit besonderer toxikologischer Sicherheit verbinden sollen.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P42:
Etablierung biokatalytischer Prozesse zur Herstellung von chiralen Aminen**

Partner:

Dr. Ulf Menyes, Dr. Henrike Brundieck, Enzymicals AG, Greifswald
Prof. Dr. Udo Kragl, Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung Analytische und Technische Chemie

Koordinator:

Dr. Henrike Brundieck, Enzymicals AG, Greifswald

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Produktaufarbeitung, Feinchemikalien, Amine, chirale Wirkstoffe, Transaminasen, Enzyme, Biotransformation von Ketonen.

Ziele:

Ziel der Förderung ist die Etablierung biokatalytischer Prozesse zur Herstellung von chiralen Aminen. Über die Entwicklung und Einführung innovativer Technologien wird mit diesem Projekt eine bestehende Lücke zwischen universitärer Forschung und industriellem Bedarf geschlossen. Bestehendes Know-how zur grundsätzlichen Eignung von neu entwickelten Katalysatoren für biokatalytische Anwendungen wird um neuartige Methoden zur Prozessführung und Produktaufarbeitung erweitert und zur Gewinnung von Prozessdaten für einen technischen Einsatz genutzt.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im speziellen Fokus des beantragten Förderprojektes steht der Einsatz von Enzymen aus der Klasse der (R) selektiven Transaminasen zur Herstellung von optisch aktiven Aminen durch eine asymmetrische Transaminierung. Neben der Identifizierung und Charakterisierung von geeigneten Biokatalysatoren ist die Etablierung einer effizienten Prozessführung und ökonomischen Aufarbeitung im technischen Maßstab wesentlicher Bestandteil der Entwicklungstätigkeit. In enger Zusammenarbeit mit dem beteiligten Partner, dem von Prof. Udo Kragl geleiteten Bereich der Technischen Chemie von der Universität Rostock, werden dabei Herstellungsprozesse im technischen Maßstab erarbeitet, diese auf deren ökonomische Durchführbarkeit geprüft und Ökoeffizienz-Analysen erstellt. Innerhalb der Projektlaufzeit von drei Jahren werden fünf chirale Amine beispielhaft als Prototypen im Multigramm-Maßstab hergestellt.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P43:
Innovative Aufarbeitungsstrategien auf Membranadsorberbasis für rekombinante Zytokine**

Partner:

Dr. Louis Villain, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Göttingen
Dr. Volker Nölle, Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach
Prof. Dr. Thomas Scheper, Gottfried-Wilhelm-Leibniz Universität Hannover, Institut für Lebensmittelchemie

Koordinator:

Dr. Louis Villain, Sartorius Stedim Biotech GmbH

Themenfelder:

Membranadsorbertechnologie, Cysteinknotenproteine, modulare Aufarbeitungsstrategien

Ziele:

Ziel des Projektes ist es, rekombinante Mikroorganismen und tierische Zellen zu verwenden, um für einzelne Cysteinknotenproteine eine Vergleichbarkeit des Produktionsprozesses hinsichtlich des Expressionssystems zu ermöglichen, aber auch die Variabilität der Proteinsysteme im Hinblick auf die Einsatzbereitschaft der Membranadsorbersysteme auszutesten.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Ziel ist es, die im Projekt P11 erarbeitete Membranadsorbermodulpalette in industriell relevanten Prozessen zur Darstellung von rekombinanten Zytokinen einzusetzen und weiter zu entwickeln. Die Membranadsorbertechnologie bietet die Möglichkeit der effizienten Gewinnung dieser Proteine in biologisch aktiver Form. Der Fokus der Arbeiten soll auf der Produktion pharmazeutisch relevanter Proteine der Klasse der Cysteinknotenproteine gelegt werden. Als Modellsysteme werden zunächst strukturell einfache Zytokine wie FGF-2 und BMP-2 gewählt, die sowohl in rekombinanten E.coli als auch in rekombinanten tierischen Zellen exprimiert werden. Die biologische Aktivität dieser Proteine wird stark von den Pro-zess- und Aufarbeitungsbedingungen beeinflusst, was ein Problem für die wirtschaftliche Produktion darstellt.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P44:
Steuerung der Reaktionsselektivität der biokatalytischen Fettsäureestersynthese**

Partner:

Dr. Martin Schilling, Evonik Industries AG, Essen
Prof. Dr. Andreas Liese, Dr. Lutz Hilterhaus, Dipl.- Ing. Sören Baum, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Technische Biokatalyse
Prof. Dr. Wolfgang Streit, Dr. Jennifer Chow, Universität Hamburg, Abteilung für Mikrobiologie und Biotechnologie

Koordinator:

Dr. Martin Schilling, Evonik Industries AG, Essen

Themenfelder:

Biokatalysatoren, Inprozesskontrolle, FTIR, thermostabile Lipasen, enzymatische Um-/Veresterung

Ziele:

In der industriellen Produktion von Polyolestern sind Verfahren gefragt, die es erlauben Produkte mit definierten Substitutionsmustern zu synthetisieren. Daher ist Ziel des Projektes die Steuerung der Reaktionsselektivität der biokatalytischen Fettsäureestersynthese durch die Nutzung neuer, thermostabiler Biokatalysatoren und die Etablierung einer Inprozesskontrolle mittels FTIR (Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie). Einfluss auf die Biotransformation kann dabei durch die Wahl des Katalysators genommen werden und/oder durch eine Regelung des Prozesses basierend auf einer kinetischen Differenzierung (z.B. Fed-Batch, Abbruchzeiten).

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Schwerpunkt des Projektes ist die Steuerung der Reaktionsselektivität der biokatalytischen Fettsäureestersynthese. Ermöglicht wird dies durch die Identifikation und Charakterisierung neuer, thermostabiler Lipasen mit geeigneter Regioselektivität und die Entwicklung eines neuen Verfahrens zur biokatalytischen Veresterung von Polyolen mit Fettsäuren in einem Blasensäulenreaktor. Hierbei sollen die Reaktionsselektivitäten durch Inprozesskontrolle optimal ausgenutzt werden, um maßgeschneiderte Produkte zu erhalten. Es werden 3 Reaktionssysteme untersucht: zunächst wird ein Modell-Reaktionssystem bestehend aus reinem Polyol und reiner Säurefraktion eingesetzt. Über ein System aus reinem Polyol und Säuregemisch bis hin zu einem Polyol-Gemisch und einem Säure-Gemisch wird der Bezug zur realen Anwendung, aber auch die Komplexität des Systems dann schrittweise erhöht.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P46:
Optimierung der biokatalytischen Herstellung von Phloretin**

Partner:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Universität Hamburg, Zentrum für Bioinformatik
Dr. Gudrun Lange, Dr. Ulrike Hänsel, Bayer CropScience AG, Research Technology Frankfurt am Main
Dr. Christian Lemmen, BioSolveIT GmbH, Sankt Augustin

Koordinator:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Universität Hamburg, Zentrum für Bioinformatik

Themenfelder:

Enzymoptimierung, Mutationsanalyse, Proteinstrukturanalyse, Vorhersage von Bindungsaffinität, Virtuelles Screening

Ziele:

Die Bewertungsfunktion HYDE soll auf die energetische Abschätzung von Wechselwirkungen innerhalb eines Proteins und Protein-Protein-Interaktionen erweitert werden, um eine gezielte Enzymoptimierung und Mutationsanalyse in biokatalytischen Fragestellungen zu ermöglichen.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

In diesem Projekt sollen computergestützte Methoden entwickelt werden, die durch möglichst gute Abschätzung von Interaktionsenergien die Enzymoptimierung im Kontext biokatalytischer Prozesse unterstützen. Diese Methoden sollen beispielhaft auf bekannte biokatalytisch relevante Enzyme angewandt und exemplarisch in laufenden Projekten beim Industriepartner eingesetzt werden. Grundlage dieses Projekts ist die Bewertungsfunktion HYDE, die auf Initiative Bayers gemeinsam mit allen Partnern des Verbundprojektes entwickelt wird. HYDE wurde bisher primär zur Suche nach Enzym-Inhibitoren eingesetzt.

Das BioScore-Projekt verfolgt mehrere Ziele: HYDE soll so erweitert werden, dass auch Wechselwirkungen zwischen Proteinen und innerhalb des Proteins in die Bewertung integriert werden können. Dies ist essentiell, um Proteinstrukturaspekte wie Thermostabilität und die Auswirkungen von Mutationen abschätzen zu können. Darüber hinaus ist die Platzierung und genaue Bewertung einzelner Wassermoleküle in einem Protein-Substrat-Komplex bzw. von strukturell relevanten Wassermolekülen von großer Bedeutung für ein besseres Verständnis struktureller Aspekte. Eine zusätzliche Herausforderung stellt die eher niedrige Bindungsaffinität von Substraten im Vergleich zu Enzym-Inhibitoren dar.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P47:

BioScore: Neue Methoden zur energetischen Bewertung von Protein-Protein- und Protein-Ligand-Interaktionen für bioindustrielle Anwendungen

Partner:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Universität Hamburg, Zentrum für Bioinformatik
Dr. Gudrun Lange, Dr. Ulrike Hänsel, Bayer CropScience AG, Research Technology Frankfurt am Main
Dr. Christian Lemmen, BioSolveIT GmbH, Sankt Augustin

Koordinator:

Prof. Dr. Matthias Rarey, Universität Hamburg, Zentrum für Bioinformatik

Themenfelder:

Enzymoptimierung, Mutationsanalyse, Proteinstrukturanalyse, Vorhersage von Bindungsaffinität, Virtuelles Screening

Ziele:

Die Bewertungsfunktion HYDE soll auf die energetische Abschätzung von Wechselwirkungen innerhalb eines Proteins und Protein-Protein-Interaktionen erweitert werden, um eine gezielte Enzymoptimierung und Mutationsanalyse in biokatalytischen Fragestellungen zu ermöglichen.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

In diesem Projekt sollen computergestützte Methoden entwickelt werden, die durch möglichst gute Abschätzung von Interaktionsenergien die Enzymoptimierung im Kontext biokatalytischer Prozesse unterstützen. Diese Methoden sollen beispielhaft auf bekannte biokatalytisch relevante Enzyme angewandt und exemplarisch in laufenden Projekten beim Industriepartner eingesetzt werden. Grundlage dieses Projekts ist die Bewertungsfunktion HYDE, die auf Initiative Bayers gemeinsam mit allen Partnern des Verbundprojektes entwickelt wird. HYDE wurde bisher primär zur Suche nach Enzym-Inhibitoren eingesetzt.

Das BioScore-Projekt verfolgt mehrere Ziele: HYDE soll so erweitert werden, dass auch Wechselwirkungen zwischen Proteinen und innerhalb des Proteins in die Bewertung integriert werden können. Dies ist essentiell, um Proteinstrukturaspekte wie Thermostabilität und die Auswirkungen von Mutationen abschätzen zu können. Darüber hinaus ist die Platzierung und genaue Bewertung einzelner Wassermoleküle in einem Protein-Substrat-Komplex bzw. von strukturell relevanten Wassermolekülen von großer Bedeutung für ein besseres Verständnis struktureller Aspekte. Eine zusätzliche Herausforderung stellt die eher niedrige Bindungsaffinität von Substraten im Vergleich zu Enzym-Inhibitoren dar.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P48:

**Tools zur Prozessentwicklung für Fermentationen unter ungewöhnlichen Bedingungen –
Folgeantrag (ProTool 2)**

Partner:

Dr. Jürgen Kuballa, GALAB Laboratories GmbH, Geesthacht
Dr. Karl Michael Schoop, Ingenieurbüro Dr.-Ing. Schoop, Hamburg
Claus Zenneck, medorex e.K, Nörten-Hardenberg
Prof. Dr.-Ing. Volker C. Hass, Hochschule Furtwangen, Fakultät Maschinenbau und Verfahrenstechnik
Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner, TU Hamburg-Harburg, Institut für Bioprozess- und Biosystemtechnik
In Zusammenarbeit mit OrganoBalance GmbH, Berlin (P32)
und s&h Ingenieurgesellschaft mbH, Bremen

Koordinator:

Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Bioprozess- und Biosystemtechnik

Themenfelder:

Prozessentwicklung, Fermentationstechnologie, Tools zur Verfahrensentwicklung, parallele Fermentationssysteme

Ziele:

Ziel des Verbundprojekts „ProTool“ ist die Bereitstellung eines Tools zur Entwicklung unterschiedlicher biotechnischer Prozesse unter modellgestützter Bewertung von Prozessdaten. Hierzu gehören die Elemente „modulare Bioreaktorsysteme“, „effiziente Strategien zum Monitoring sowie zur Steuerung und Regelung der Prozesse“ und „Trainings- und Optimierungssimulatoren“. Diese werden beispielhaft zur Prozessentwicklung für Suspensions- und immobilisierte Kulturen eingesetzt, um die Anwendbarkeit des komplexen Entwicklungstools für verschiedenste biokatalytische Fragestellungen und Systeme nachzuweisen. Zentrales Element ist die modellgestützte Prozessoptimierung. Den Antragstellern ist bisher kein integriertes Entwicklungstool bekannt, das die Elemente Multi-Reaktorsysteme, biotechnologisches Prozessmodell, Dateninterpretation und Optimierungsalgorithmen systematisch verknüpft.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

In den ersten 3 Jahren des Projektes (P14) wurden die prozesstechnischen Voraussetzungen und die Softwarewerkzeuge etabliert und ein Proof-of-Concept gezeigt. Hierzu gehören

(1) Modulare Multi-Bioreaktoren für Suspensionskulturen und mit integrierten Festbetten zur Zellimmobilisierung inkl. Prozessleitsystem (Fa. medorex, Fa. Schoop, AG Pörtner)

(2) Softwarewerkzeuge zur modellgestützten Informationsnutzung (AG Hass, Fa. Schoop, Fa. medorex, AG Pörtner)

(3) Ein auf die Biotechnologie spezialisiertes Leitsystem (WinErs-Bio), das diverse Bioreaktoren mit den Methoden der modellgestützten Informationsnutzung verknüpft und ergonomische Methoden für die Prozesssteuerung und Prozessdokumentation sowie einen Trainingssimulator zur Verfügung stellt (Fa. Schoop, AG Hass, Fa. medorex).

BIOKATALYSE2021 Projekte Auszug Kurzbeschreibungen

Als Modellorganismen wurden im 1. Projektzeitraum (P14) einerseits immobilisierte Milchsäurebakterien eingesetzt, da diese ein breites Anwendungsspektrum aufweisen, innerhalb des Clusters „BIOKATALYSE2021“ von mehreren Arbeitsgruppen (z.B. in P32) genutzt werden und sich als anaerobe Mikroorganismen gut für eine Immobilisierung eignen. Als Kultivierungssystem hierfür wurden Festbettreaktoren mit makroporösen Trägermaterialien gewählt. Andererseits wurden von der AG Hass in Zusammenarbeit mit der Fa. ZytoVision verschiedene E. coli-Stämme in klassischer Suspensionskultur genutzt.

Im Folgeprojekt sollen diese Arbeiten fortgesetzt werden. Ein wesentlicher neuer Schwerpunkt soll in der Anwendung der Simulationstools auf Prozesse mit immobilisierten Biokatalysatoren liegen, was als besondere Herausforderung anzusehen ist. Eine neue hochinteressante Fragestellung wird durch die Fa. GALAB in das Projekt eingebracht, die Ganzzell-Biokatalyse von Glycanen mittels Glycosyltransferasen und Cofaktoren.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

Projekt BIOKATALYSE2021 P49:

Optimierung von Produktionsprozessen mit *Corynebacterium glutamicum* durch Variation der Menge und der Zusammensetzung von Hefeextrakten in Komplexmedien

Partner:

Prof. Dr.-Ing. Reiner Luttmann, HAW Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg,
Forschungs- und Transferzentrum Bioprozess- und Analysetechnik
Dipl.-Ing. (M.Sc.) Oliver Gronau, Ohly GmbH, Hamburg

Koordinator:

Prof. Dr. Reiner Luttmann, HAW Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Themenfelder:

Klassifizierung verschiedener Hefeextrakte durch NahInfrarot (NIR)-Spektroskopie und Clusterklassifizierung über MultiVariate DatenAnalyse (MVDA), Entwicklung vollautomatischer Design of Experiments (DoE)-Anlagen zur Durchführung eines Prozessparameter- und Medienkomponenten-Screenings, Optimierung von Hefeextrakt-Mischungen zur Maximierung von Kultivierungsausbeuten

Ziele:

Bereitstellung einer NIR-Analytik mit Methoden der MVDA zur Qualitätscharakterisierung von Hefeextrakten und von Methoden zur DoE-Optimierung von Kultivierungsprozessen mit Komplexmedien in einer Multi-Bioreaktoranlage und Mikrotiterplatten, Optimierte Hefeextraktmischungen für ausgewählte Produktionsprozesse mit *Corynebacterium glutamicum*.

Laufzeit: 1,5 Jahre

Kurzbeschreibung:

In vielen industriellen Kultivierungsprozessen werden Komplexmedien eingesetzt, deren Hefeextraktanteile schlecht definiert, sehr aufwendig zu analysieren und schwierig einzustellen sind, um optimale Produktionsbedingungen zu erlangen.

In diesem Antrag des Hefe- und Hefeextraktherstellers Ohly in Hamburg und des Forschungs- und Transferzentrums Bioprozess- und Analysetechnik der HAW Hamburg sollen deren unterschiedliche Synergien zur Überwindung obiger Probleme, sowohl auf der Herstellerebene als auch auf Seiten der Entwicklung und Optimierung von Bioprozessen mit Komplexmedien, somit der Kundenebene von Ohly, zusammengeführt und die daraus entwickelten Methoden von den Antragsstellern sowohl selbst genutzt als auch anderen Interessenten angeboten werden.

BIOKATALYSE2021 Projekte
Auszug Kurzbeschreibungen

**Projekt BIOKATALYSE2021 P50:
Lipide und oberflächenaktive Stoffe aus mariner Biomasse – LIPOMAR**

Partner:

Dr. Georg Schirrmacher, Clariant Produkte (Deutschland) GmbH, Frankfurt
Dr. Kerstin Sahm, Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Technische Mikrobiologie
Dipl.-Ing. Martin Staemmler, Hanseatische Umwelt CAM GmbH, Sandhagen
Prof. Dr. Thomas Brück, Technische Universität München, Fachgebiet Industrielle Biokatalyse
Prof. Dr. Volker Sieber, Fraunhofer Institut für Grenzflächen und Bioverfahrenstechnik, Projektgruppe BioCat

Koordinator:

Dr. Georg Schirrmacher, Clariant Produkte (Deutschland) GmbH

Themenfelder:

Oberflächenaktive Stoffe, Lipide und Lipidderivate

Ziele:

Das Projekt "LIPOMAR" befasst sich mit der Erschließung und Valorisierung von Biomasse zu Spezialchemikalien. Hierzu sollen speziell geeignete Biokatalysatoren und Mikroorganismen identifiziert und charakterisiert werden und deren Eignung in der Prozessentwicklung zur Synthese von Spezialchemikalien demonstriert werden.

Laufzeit: 3 Jahre

Kurzbeschreibung:

Im Projektvorhaben LIPOMAR sollen Methoden und Verfahren zur Gewinnung hochwertiger Spezialchemikalien, wie Oleochemikalien und Tenside, aus ubiquitär verfügbarer mariner Biomasse entwickelt werden. Dazu werden angepasste, neue Enzymmischungen identifiziert und diese zur Hydrolyse der Makroalgenbiomasse eingesetzt. Die dabei entstehende Mischung von Zuckern und Zuckersäuren, deren Zusammensetzung sich stark von anderen erneuerbaren Biomasse-Quellen unterscheidet, wird fermentativ mittels Mikroorganismen zu Lipiden und Lipidderivaten umgesetzt, und weiter zur biokatalytischen Produktion von neuen oberflächenaktiven Stoffen eingesetzt.