



Alexander Grünberger

Jahrgang 1985. 2004–2010 Biotechnologie-Studium an der Universität Karlsruhe (KIT), University of Queensland, Australien, und University of Delaware, USA. 2010–2014 Doktorarbeit am Institut für Bio- und Geowissenschaften am Forschungszentrum Jülich GmbH, dort seit 2014 Postdoktorand.

VAAM-Promotionspreis 2015

Einzelzell-Bioreaktoren – fast unsichtbar, aber nicht unscheinbar

ALEXANDER GRÜNBERGER

INSTITUT FÜR BIO-UND GEOWISSENSCHAFTEN, IBG-1: BIOTECHNOLOGIE, FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH

DOI: 10.1007/s12268-015-0585-8
© Springer-Verlag 2015

Seit Jahrzehnten werden mikrobielle Produktionsprozesse für die Umsetzung nachwachsender Rohstoffe zu industriell nutzbaren Grund- und Feinchemikalien verwendet. Unterschiedliche Subpopulationen in mikrobiellen Produktionsprozessen können Ertrag und Stabilität signifikant beeinflussen. Gegenwärtig werden biologische Prozesse basierend auf Durchschnittswerten analysiert und optimiert. Hierbei bleibt jedoch das Verhalten einzelner Zellen unbeachtet, oftmals mit nicht abschätzbaren Folgen für mikrobielle Bioprozesse. Essenziell für die Wirtschaftlichkeit von etablierten sowie neuen Bioprozessen sind deshalb fundierte Kenntnisse zu Ursache und Ausmaß der Populationsheterogenität sowie den zugrunde liegenden molekularen Vorgängen.

Die Forschung und Entwicklung im Bereich mikrofluidischer Einzelzellanalysen erlebte in den letzten Jahren einen Aufschwung [1]. Fortschritte in den Fabrikationsmethoden ermöglichen die Herstellung immer kleinerer Strukturen, selbst die Fertigung von mikrofluidischen Kultivierungsplattformen mit Einzelzell-Bioreaktoren im Pikoliter-Maßstab (Abb. 1A, B, [2]). Im Gegensatz zu konventionellen Systemen, wie z. B. der fluoreszenzmarkierten Durchflusszytometrie,

ermöglichen mikrofluidische Kultivierungssysteme die Analyse zellulärer Prozesse einzelner Zellen und Zellkolonien mit räumlicher und zeitlicher Auflösung bei optimaler Nährstoffversorgung (Abb. 1B).

Für systematische Wachstums- und Metabolismusstudien des industriell genutzten Bakteriums *Corynebacterium glutamicum* setzen wir Einzelzell-Bioreaktoren ein. In diesem Kultivierungssystem erreicht *C. glutamicum* höhere Wachstumsraten als in konventionellen Kultivierungen. Durch detailliertere Studien in verschiedenen Kultivierungsmaßstäben sowie gerichtete und ungerichtete Analyseverfahren fanden wir den Faktor, der für die höheren Wachstumsraten verantwortlich ist: Protocatechusäure, ursprünglich als Eisenchelator dem Medium zugesetzt, wird parallel zu Glukose als zusätzliche Kohlenstoffquelle verstoffwechselt [3].

In Kombination mit fluoreszenzbasierten Biosensoren können Wachstums- und Produktionsverhalten von isogenen Zellkolonien untersucht werden. Interessanterweise fanden wir signifikante Unterschiede in Wachstum und Produktion bei verschiedenen L-Valin-Produzenten von *C. glutamicum* (Abb. 1C, [4]).

Die Beispiele zeigen, dass mikrofluidische Einzelzell-Bioreaktoren nicht nur Einblicke in zelluläre Vorgänge ermöglichen, sondern

auch das Potenzial bieten, mikrobielle Bioprozesse nachhaltig zu verstehen und verbessern zu können. Trotzdem stehen Einzelzell-Bioreaktoren erst am Anfang ihrer Entwicklung. In den folgenden Jahren gilt es nun, die Systeme zu optimieren, zu charakterisieren, aber auch die Grenzen derartiger Systeme eingehend zu bewerten.

Danksagung

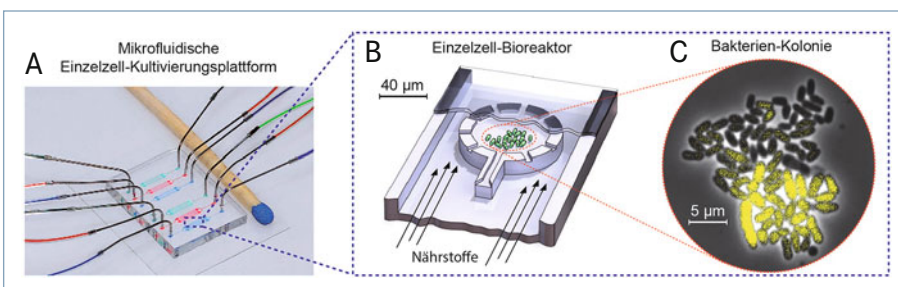
Herzlicher Dank geht an meinen Doktorvater Wolfgang Wiechert, an dessen Institut die Arbeiten durchgeführt wurden. Ich bedanke mich außerdem bei meinem Betreuer und Leiter der Arbeitsgruppe „Microscale Bioengineering“ Dietrich Kohlheyer. Den Kooperationspartnern Julia Frunzke, Stephan Noack und Katharina Nöh danke ich für die fachliche Unterstützung und die zahlreichen Diskussionen. Außerdem bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern der „Microscale Bioengineering“-Arbeitsgruppe und des IBG-1 des Forschungszentrums Jülich für die Unterstützung und Hilfe, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. ■

Literatur

- [1] Grünberger A, Wiechert W, Kohlheyer D (2014) Single-cell microfluidics: opportunity for bioprocess development. *Curr Opin Biotechnol* 29:15–23
- [2] Grünberger A, Paczia N, Probst C et al. (2012) A disposable picolitre bioreactor for cultivation and investigation of industrially relevant bacteria on the single cell level. *Lab Chip* 12:2060–2068
- [3] Unthan S, Grünberger A, van Ooyen J et al. (2014) Beyond growth rate 0.6: what drives *Corynebacterium glutamicum* to higher growth rates in defined medium. *Biotechnol Bioeng* 111:359–371
- [4] Mustafi N, Grünberger A, Mahr R et al. (2014) Application of a genetically encoded biosensor for live cell imaging of L-valine production in pyruvate dehydrogenase complex-deficient *Corynebacterium glutamicum* strains. *PLoS One* 9:e85731

Korrespondenzadresse:

Dr.-Ing. Alexander Grünberger
Institut für Bio- und Geowissenschaften
IBG 1: Biotechnologie
Forschungszentrum Jülich
D-52425 Jülich
Tel.: 02461-61-2927
Fax: 02461-61-3870
a.gruenberger@fz-juelich.de



▲ **Abb. 1:** Einzelzell-Bioreaktor im Pikoliter-Maßstab. **A,** mikrofluidische Einzelzell-Kultivierungsplattform. **B,** schematische Darstellung eines Einzelzell-Bioreaktors. **C,** heterogene Mikrokolonie eines *Corynebacterium glutamicum*-L-Valin-Produzenten. Produzierende Zellen weisen ein erhöhtes Sensorsignal auf (gelb), andere zeigen kein erhöhtes Signal, jedoch Wachstum (schwarz).