



Nicolai Kallscheuer

Jahrgang 1987. 2008–2013 Biotechnologiestudium an der Fachhochschule Aachen, Standort Jülich. 2013–2017 Promotion im Forschungszentrum Jülich, IBG-1: Biotechnologie bei Prof. Dr. M. Bott, dort seit Ende 2017 als Postdoktorand tätig.

DOI: 10.1007/s12268-018-0939-0
© Springer-Verlag 2018

■ Polyphenole sind aromatische Verbindungen des sekundären Stoffwechsels in Pflanzen. Sie dienen natürlicherweise dem Schutz der Pflanze vor schädigender UV-Strahlung oder zur Abwehr von Infektionen durch Pilze oder Bakterien. Darüber hinaus besitzen viele Polyphenole pharmakologisch interessante Eigenschaften. Für die Wirkstoffentwicklung ist allerdings der Zugang zu größeren Mengen dieser Verbindungen erforderlich. Da Pflanzen nur langsam wachsen und Polyphenole in der Regel nur in geringen Mengen bilden, ist eine Extraktion aus Pflanzenmaterial nicht sinnvoll. Das Ziel meiner Doktorarbeit war deshalb, pflanzliche

VAAM-Promotionspreis 2018

Corynebacterium glutamicum – eine Zellfabrik für pflanzliche Polyphenole

NICOLAI KALLSCHEUER

IBG-1: BIOTECHNOLOGIE, FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH, JÜLICH

Polyphenole mit dem industriellen Aminosäureproduzenten *Corynebacterium glutamicum* zu produzieren. Dieser Organismus ist eine vielversprechende Alternative zur Isolation aus Pflanzenmaterial, da Polyphenole in Pflanzen ausgehend von aromatischen Aminosäuren gebildet werden, für die bereits *C. glutamicum*-Produktionsstämme konstruiert wurden. Durch die Nutzung pflanzlicher Enzyme in *C. glutamicum* werden aromatische Aminosäuren zunächst in Phenylpropanoide umgewandelt, die dann als Vorläufer für die Bildung von mehr als 10.000 pflanzlichen Polyphenolen dienen können.

Die funktionale Expression von je einem Gen aus der Erdnuss und der Petersilie sollte die Produktion des Polyphenols Resveratrol ausgehend vom supplementierten Phenylpropanoid *p*-Cumarsäure ermöglichen (**Abb. 1**). Obwohl die eingesetzte *p*-Cumarsäure nach der Kultivierung vollständig verbraucht war, konnte keine Bildung von Resveratrol beobachtet werden. Nähere Untersuchungen zeigten, dass das Bakterium in der Lage ist, *p*-Cumarsäure als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle zum Aufbau von Biomasse zu nutzen. Die fehlende Resveratrolbildung ist das Resultat des effizienten Abbaus von *p*-Cumarsäure durch einen bisher unbekanntem Abbauweg für Phenylpropanoide in *C. glutamicum*. Weitere Experimente führten zur Identifikation des Abbauwegs, durch den Phenylpropanoide in einfache Benzoesäuren umgewandelt werden [1]. Letztere werden über bereits bekannte zentrale Abbauwege weiter verstoffwechselt.

Auf Basis des identifizierten Abbauwegs konstruierte ich den Stamm *C. glutamicum* DelAro⁴, in dem durch Deletion von insgesamt 21 Genen in vier Clustern das komplexe Netzwerk für den Abbau von Aromaten inaktiviert ist. *C. glutamicum* DelAro⁴ ist so in der Lage, durch Nutzung verschiedener pflanzlicher Gene eine Vielzahl von Polyphenolen zu synthetisieren [2]. Dazu gehören die Stilbene Resveratrol, Pinosylvin und Piceatannol sowie die Flavanone Naringenin und Eriodictyol, die durch *O*-Methylierung

oder Hydroxylierung in noch komplexere Verbindungen umgewandelt werden konnten. *C. glutamicum* kann Stilbene mit Produkttitern von bis zu 160 Milligramm pro Liter und komplexere Flavonoide im Maßstab von 10–30 Milligramm pro Liter bilden [3]. Durch weitere Stammoptimierung wurde auch eine Synthese von Polyphenolen auf Basis von kostengünstiger Glucose möglich, indem bekannte Strategien zur Überproduktion von *L*-Tyrosin genutzt wurden [2]. Zur Umgehung einer identifizierten Limitierung auf der Stufe der *p*-Cumarsäure-Bildung aus *L*-Tyrosin wurde erfolgreich ein synthetischer Stoffwechselweg etabliert, der die Polyphenolproduktion ausgehend von günstigen Benzoesäuren ermöglicht und unabhängig von der Bereitstellung von aromatischen Aminosäuren ist [3]. Aktuelle Arbeiten erweitern das Portfolio der mit *C. glutamicum* zugänglichen Polyphenole und verbessern die Produktkonzentrationen stetig.

Danksagung

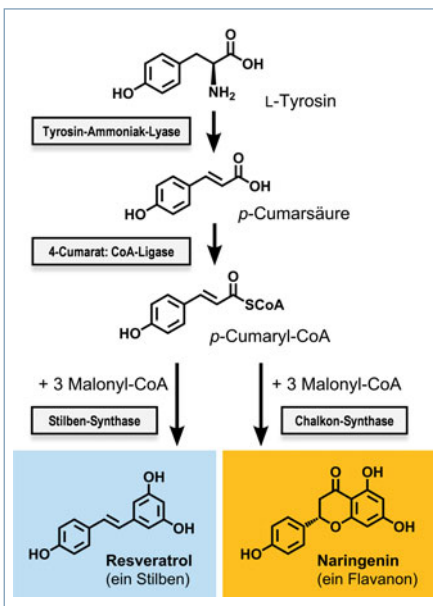
Ich möchte mich herzlich bei meinem Betreuer Jan Marienhagen und meinem Doktorvater Michael Bott für die Unterstützung und exzellente Betreuung bedanken. Mein Dank gilt auch allen Ko-Autoren und Kooperationspartnern.

Literatur

- [1] Kallscheuer N, Vogt M, Kappelmann J et al. (2016) Identification of the *phd* gene cluster responsible for phenylpropanoid utilization in *Corynebacterium glutamicum*. *Appl Microbiol Biotechnol* 100:1871–1881
- [2] Kallscheuer N, Vogt M, Stenzel A et al. (2016) Construction of a *Corynebacterium glutamicum* platform strain for the production of stilbenes and (2S)-flavones. *Metab Eng* 38:47–55
- [3] Kallscheuer N, Vogt M, Marienhagen J (2016) A novel synthetic pathway enables microbial production of polyphenols independent from the endogenous aromatic amino acid metabolism. *ACS Synth Biol* 6:410–415

Korrespondenzadresse:

Dr. Nicolai Kallscheuer
IBG-1: Biotechnologie
Forschungszentrum Jülich GmbH
D-52425 Jülich
Tel.: 02461-61-6773
Fax: 02461-61-2710
n.kallscheuer@fz-juelich.de



▲ **Abb. 1:** Syntheseweg für Polyphenole. Dargestellt sind die Synthesewege für Resveratrol und Naringenin ausgehend von *L*-Tyrosin. Die Desaminierung von *L*-Tyrosin führt zunächst zum Phenylpropanoid *p*-Cumarsäure, das nach CoA-Ligation mit drei Molekülen Malonyl-CoA kondensiert. Durch Nutzung unterschiedlicher Mechanismen bildet *Corynebacterium glutamicum* je nach eingesetztem Enzym entweder Resveratrol oder Naringenin.