

Kurzdarstellung zu den Ergebnissen des Projekts

Extremophile Kathodenbiofilme als Power-to-X Biokatalysatoren

Akronym (Kurzname): E-Kat-Bio

von

Johannes Gescher¹ und Harald Horn²

Karlsruher Institut für Technologie
Institut für Angewandte Biowissenschaften¹
Engler-Bunte-Institut²

Förderkennzeichen: BWCO219002

Laufzeit: 01.12.2018 – 30.04.2020

1. Kurzbeschreibung der Forschungsergebnisse

Das Projekt wurde wie geplant begonnen. Es wurde ein Plasmid für die heterologe Expression der Acetolactatsynthase (AlsS) und der Acetolactatdehydrogenase (AlsD) in *Sulfolobus spec.* entwickelt. Um den Vorgang zu beschleunigen, wurde eine Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Albers an der Universität Freiburg aufgebaut. Dadurch konnte auf Erfahrungen dahingehend zurückgegriffen werden, welche Stämme und Selektionsmarker am besten geeignet sein sollten. In das Plasmid wurden die Gene für thermostabile Varianten der zwei Gene kloniert. Die Funktionalität des Plasmides konnte über eine Acetoin-Produktion in *E. coli* verifiziert werden. Zwei weitere Kontrollexperimente führten im weiteren Verlauf zu einem leicht veränderten Projektverlauf. Wir konnten zeigen, dass *Sulfolobus acidocaldarius* auch alleine in der Lage ist, mit einer Kathode als Energie- und Elektronenquelle zu wachsen. Das war eine bahnbrechende Erkenntnis, da dieser Organismus somit über einen völlig neuen Weg des Elektronenimports verfügen muss, denn typische Schlüsselgene für den Elektronenimport sind nicht vorhanden. Gleichzeitig zeigte sich völlig unvorhersehbar, dass *K. spormannii* in der Lage ist, Acetoin zu verstoffwechseln. Anstatt nun das Endprodukt zu verändern, haben wir die Zweistammstrategie in eine Einstammstrategie umgewandelt, da hiermit auch höhere Umsätze erreichbar sein sollten. Wir konnten das Wachstum von *Sulfolobus* auf den Elektroden quantifizieren und eine Acetoin Produktion zeigen. Diese blieb jedoch hinter den Erwartungen zurück, da der Promoter des Plasmids anscheinend in *Sulfolobus* weniger gut funktionierte als in *E. coli*. Nichtsdestotrotz konnten wir im Rahmen dieses Projektes einen neuen autotrophen Biokatalysator für Bioelektrosynthesen vorstellen und sind momentan dabei, zu verstehen, wie die Elektronenaufnahme funktioniert. Dafür haben wir Transkriptome des Organismus unter verschiedenen Wachstumsbedingungen aufgenommen, die wir momentan auswerten. Die durchgeführte Nachhaltigkeitsbewertung ließ erkennen, dass der Prozess sich in seiner Nachhaltigkeit nicht von Glucose-basierten Umsetzungen unterscheidet und dabei gleichzeitig nicht mit der Nahrungsmittelproduktion konkurriert, weil Kohlendioxid als Kohlenstoffquelle benutzt wird.

2. Welche Fortschritte ergeben sich für die Wissenschaft und/oder Technik durch die Forschungsergebnisse?

Wir haben den ersten thermoacidophilen Kathodenorganismus gefunden, für den ein genetisches System vorhanden ist. Der Organismus scheint einen neuen Mechanismus für den Elektronenimport zu benutzen, da bekannte Schlüsselgene für z.B. Hydrogenasen fehlen. Durch das genetische System haben wir nun die Möglichkeit gezielt nach dem Elektronenimportmechanismus zu suchen und ihn später zu optimieren.

Obgleich wir bis dato nur geringe Acetoin-Ausbeuten erhalten haben, sind wir zuversichtlich, dass Promoterstudien hier zu verbesserten Ausbeuten führen können.

Wir können bald im 35 mL bis 100 L Maßstab in Bioelektrosynthesereaktoren fermentieren. Diese Möglichkeit der Skalierbarkeit gibt es bis dato weltweit nur am KIT. Der Einsatz von *Sulfolobus* als weiterem möglichen Produktionsstamm wird uns den Weg die Technik in die Wirtschaftlichkeit zu führen stark erleichtern.

Die Zukunft der biotechnologischen Produktion von Chemikalien basiert auf CO₂ und einem anorganischen Elektronendonator bzw. einer anorganischen Energiequelle. Bis dato ist hierfür vor allem Wasserstoff im Gespräch. Durch den Einsatz von Organismen auf Graphitelektroden umgehen wir die Produktion von Wasserstoff an teuren Elektroden, das Problem der Wasserstoffspeicherung, sowie die Limitierung durch die geringe Löslichkeit von Wasserstoff in der Flüssigphase.

3. Nutzen, insbesondere praktische Verwertbarkeit der Ergebnisse und Erfahrungen

Der Nutzen liegt für uns in der Erweiterung des Portfolios an Modellorganismen, um den Prozess zu studieren und in die Anwendung zu bringen. Die praktische Verwertbarkeit wird sich erst in ca. 5 Jahren aufbauen können.

4. Konzept zum Ergebnis- und Forschungstransfer auch in projektfremde Anwendungen und Branchen

Die Projektpartner Gescher und Horn haben mittlerweile ein Netzwerk aus interessierten Firmen, das sich stetig erweitert. Momentan ist es nicht möglich Projekte unter Firmenfinanzierung durchzuführen, weil das Entwicklungsrisiko noch zu hoch ist. Das wird sich aber innerhalb der nächsten 3-5 Jahre ändern.

Die Vorarbeiten, die wir in dem hier beschriebenen Projekt durchführen durften, haben bereits zu einem weiteren BMBF-Antrag geführt, in dem wir eine Biobatterie aufbauen wollen. Die Kapazität der geplanten Batterie entspricht der von momentan gebräuchlichen Lithiumionenbatterien, kommt aber mit Graphitelektroden und Mikroorganismen aus, die Strom aufnehmen, speichern und wieder freisetzen können.