

## **DFG-Graduiertenkolleg „Molekulare Physiologie: Stoff- und Energieumwandlung“. Ein Schlußbericht.**

Kollegiaten<sup>1</sup> und Professoren des im April 1995 bewilligten DFG-Graduiertenkollegs „Molekulare Physiologie: Stoff- und Energieumwandlung“ konnten während der neunjährigen Dauer dieses Projekts aufgrund der guten Bedingungen, die u.a. durch die Bewilligung des Kollegs seitens der DFG geschaffen wurden, erfolgreich über die verschiedenen biologischen und chemischen Themen forschen. Die Doktoranden beschäftigten sich mit den metabolischen Reaktionen bei der mikrobiellen Synthese von Aminosäuren, der Regulation von Stoffflüssen und des Transports von Aminosäuren aus dem Zellinneren in das Medium. Sie untersuchten die Biosynthese pflanzlicher Naturstoffe, die physiologischen und biochemischen Mechanismen der Anpassung von Tieren an einen temporären Sauerstoffmangel sowie an eine Sulfidexposition, und sie zeigten den möglichen Ablauf der molekularen Evolution der C4-Photosynthese auf. Von den organell- und membranbezogenen Prozessen interessierte die Doktoranden vor allem die Struktur und Funktion des Komplex I der Atmungskette, die Umwandlung einer elektrochemischen Kraft in eine chemische Bindungsenergie durch die ATP-Synthase der Atmungskette und die mitochondrielle Fettsäuresynthese. Während die Biologen dieses Graduiertenkollegs die in der belebten Natur vorkommenden Mechanismen der Stoff- und Energieumwandlung untersuchten, strebten die Kollegiaten des Faches Chemie an, Verbindungen zu synthetisieren, die modellartig die Struktur und den Reaktionsmechanismus aktiver Zentren von Enzymen darstellen. Insbesondere wurde der Aufbau von Analogen des aktiven Zentrums von Antikörpern und Enzymen mit Hilfe des molekularen Prägens bearbeitet sowie versucht, Modellliganden zu synthetisieren, mit denen man die chemische Umgebung nachahmen kann, wie sie z.B. für die des Zinkions in den Enzymen der Carboanhydrase-Familie charakteristisch ist.

Aus dieser knappen Zusammenfassung des Forschungsprogramms und der Aufzählung der daran beteiligten Professoren erkennt man eine Struktur, die zunächst heterogen wirkt, aber bereits zum Zeitpunkt der Antragstellung so gewollt war und die sich während der Förderphase des Kollegs als fruchtbringend und vorteilhaft für alle Beteiligten erweisen sollte: Die Verknüpfung der Heinrich-Heine-Universität mit dem Forschungszentrum Jülich sowie die Zusammenarbeit der Professoren in Forschung und Lehre aus den Fachrichtungen Biologie und Chemie hat den Kollegiaten vielfache Gelegenheiten zu wissenschaftlichen Diskussionen gegeben und ermöglichte ihnen bei der Bearbeitung ihrer Dissertation die Anwendung eines breiten Methodenspektrums. Da auch die Doktoranden unterschiedliches Wissen und Methodenkenntnisse besaßen, haben sie sich hervorragend ergänzt. Die Breite in der Ausbildung half dem Einzelnen in der Selbstvermittlung von Kenntnissen, da bei Fragen fast immer ein Kollegiat erhellend antworten konnte. Es ist offensichtlich, daß Programm und Struktur des Graduiertenkollegs „Molekulare Physiologie: Stoff- und Energieumwandlung“ auf angehende Doktoranden attraktiv wirkten und schließlich gute Promotionen ermöglichten.

Während der Förderphase des Kollegs vom 01. April 1995 bis 31. März 2004 und einer einjährigen Auslaufphase arbeiteten durchschnittlich immer 18 bis 25 Kollegiaten an ihrer Dissertation. Zwischen den Doktoranden wurde nicht in Kollegiat und Stipendiat unterschieden, denn die Quelle ihrer Vergütung floß aus organisatorischen Gründen aus DFG-Stipendien, Instituts- und Drittmittelstellen. Die Verweildauer der Doktoranden im Kolleg war unterschiedlich, eine deutliche Verkürzung der Promotionszeit gegenüber normalen Doktoranden war nicht zu erkennen. Sie lag im Schnitt bei ca. 4 Jahren und dürfte u.a. auf die Lehrbelastung

---

<sup>1</sup> Im folgenden wird darauf verzichtet, die weibliche und die männliche Form der jeweils angesprochenen Personengruppe zu nennen.

der Doktoranden zurückzuführen sein. Insgesamt wurden 65 Doktoranden promoviert bzw. werden demnächst ihre Promotion abschließen (s. Tabelle 2, S. 76).

Von den verschiedenen Kriterien, an denen die Qualität der Doktoranden gemessen werden kann, sind die Güte der Dissertation und Promotion, die Publikationen und der weitere Weg der Promovierten mit an erster Stelle zu nennen. Alle Kollegiaten haben die Ergebnisse ihrer Forschung in referierten, guten Zeitschriften publiziert, etwa zwei Drittel der Doktoranden wurde mit „magna cum laude“, ein Drittel mit „cum laude“ (geschätzt) und zwei mit summa cum laude promoviert. Die meisten haben nach ihrer Promotion eine gute Stelle gefunden (s. Tabelle 1, S. 72). Wenige sind anderweitig beschäftigt und von einigen Kollegiaten haben wir auch die Spur verloren.

Bei einer langjährigen Förderung des Kollegs bleiben personelle Änderungen unausweichlich. Reinhard Krämer (einst Forschungszentrum Jülich) hat einen Ruf auf eine C4-Professur an das Institut für Biochemie an der Universität zu Köln gegen Ende der zweiten Förderperiode angenommen. Sein Nachfolger Michael Bott konnte unschwer mit seinen Untersuchungen über das bakterielle Zweikomponenten-Signaltransduktionssystem in das Kolleg integriert werden. Günter Wulff wurde während der zweiten Bewilligungsphase emeritiert, arbeitete aber bis zum Ende des Kollegs weiterhin aktiv mit. Alfred Holzwarth (MPI für Strahlenchemie, Mülheim) schied nach fünf Jahren aus dem Kolleg aus, da es für ihn zu schwierig war, geeignete Doktoranden zu finden. An seine Stelle trat William Martin, der mit seinen Untersuchungen zur Evolution von Stoffwechselwegen das Kolleg bereicherte.

Nach Ende der Förderung kann man durchaus feststellen, daß sich dieses Konzept eines Graduiertenkollegs bewährt hat. Die Erkenntnisgewinne in den Vorlesungen, Seminaren und Praktika wurden von den Kollegiaten allgemein positiv bewertet. Das Vortragen der eigenen Ergebnisse, deren Verteidigung und die Selbstdarstellung der Doktoranden war eine gute Übung für die spätere berufliche Tätigkeit. Diese Ergebnisse wurden auch nicht getrübt durch die Feststellung, daß das Kolleg gegen Ende der Förderperiode etwas verdämmerte. Schließlich darf man nicht vergessen, daß die Aufgaben und Verpflichtungen der Professoren im Kolleg zusätzlich zu der übrigen nicht gerade geringen Arbeit eines Hochschullehrers hinzukamen. Insgesamt wurde jedoch das Kolleg von allen Beteiligten mit großem Engagement und viel Freude getragen.

Allen Kollegen und den Doktoranden gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit während der vergangenen zehn Jahre. Wir alle danken den Gutachtern, deren Zuspruch und Kritik uns willkommen und äußerst hilfreich war. Desgleichen gilt den Referenten der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die uns mit Rat und so manches Mal auch in unbürokratischer Weise geholfen haben. Den Mitarbeitern der Universitätsleitung sei gedankt, dass sie in schwieriger Zeit es nicht nur versuchten sondern es ihnen oft auch gelang, dem Kolleg gute Arbeitsbedingungen zu schaffen. Ganz besonderer Dank gehört Dr. Iris Eggeling und Judith Haller für ihre unermüdliche organisatorische Hilfe, ohne die eine erfolgreiche Arbeit schwer gefallen wäre.

Düsseldorf, im Juli 2005  
Manfred K. Grieshaber

# **(A) Zelluläre Prozesse**

## **(A1) Überproduktion mikrobieller Metabolite**

<b>Institut:</b>	<b>Institut für Biotechnologie, Forschungszentrum Jülich, Fachgebiet Chemie</b>
<b>Leiter:</b>	<b>Prof. Dr. Hermann Sahn</b>
<b>Drittmittelförderung zum Thema:</b>	<b>BMBF-Schwerpunktprojekt „Stoffumwand- lung mit Biokatalysatoren“ Projekt B1</b>
	<b>Degussa-Hüls AG „Mikrobielle Aminosäuregewinnung“</b>

### **Forschungsprogramm: Überproduktion mikrobieller Metabolite**

Nicht nur Glutamat, sondern auch andere Aminosäuren wie L-Lysin werden mittels *Corynebacterium glutamicum* industriell hergestellt. Diese Aminosäuren werden zur Verbesserung der Qualität von Grundnahrungsmitteln und Futtermitteln eingesetzt. Sie sind von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Ihr Bedarf nimmt stetig zu, und zurzeit werden mehr als  $1,5 \times 10^6$  Tonnen Aminosäuren mikrobiell produziert. Während des Syntheseprozesses verwertet *C. glutamicum* billige Zucker und wandelt diese in wertvolle Aminosäuren um (Abb. 1). Die Doktorandinnen und Doktoranden Andre Drysch, Nicole Kennerknecht, Sören Petersen, Eva Radmacher, Petra Simic, Corinna Stansen und Andrea Veit um Hermann Sahn konnten am Institut für Biotechnologie mit modernen Methoden der Molekularbiologie Bakterienstämme entwickeln, bei denen die Regulationsmechanismen der Synthesewege ausgeschaltet sind. Dadurch werden die gewünschten Aminosäuren von den Bakterien in großen Mengen synthetisiert und ausgeschieden. Das besondere Interesse der Untersuchung galt den intrazellulären Metabolitflüssen, den Grundlagen zur Zellwandsynthese und den Transportprozessen von Aminosäuren. Kürzlich gelang es der Stipendiatin Nicole Kennerknecht, den Exportcarrier der essentiellen Aminosäure L-Isoleucin zu identifizieren und zu charakterisieren. Er besteht aus zwei Proteinen, deren Bildung auf der Expressionsebene durch einen Regulator kontrolliert wird. Überraschenderweise liegen in den Genomsequenzen vieler Bakterien und Archaea Gene vor, die für sehr ähnliche Transportproteine kodieren. Offensichtlich ist diese neuartige Proteinfamilie weit verbreitet und am Transport kleiner hydrophober Substanzen beteiligt. Ferner konnten die Stipendiatinnen Corinna Stansen und Eva Radmacher zeigen, dass überraschenderweise der Zellwandinhibitor Ethambutol zur Glutamatausscheidung bei *C. glutamicum* führt. Wie Zellwand-Untersuchungen ergaben, beruht dieser Effekt auf einer Hemmung der Mykolsäuresynthese.

Das gram-negative Bakterium *Escherichia coli* wird in der Biotechnologie bei der Produktion von Proteinen und Aminosäuren eingesetzt. Dabei kommt es trotz ausreichender Sauerstoffversorgung häufig zur Essigsäurebildung. Ein für diesen Überflusstoffwechsel spezifisches Genexpressionsmuster konnte mit Hilfe der DNA-Chip-Technologie identifiziert werden. Die Stipendiatin Andrea Veit konnte zeigen, dass die Repression des Operons, das für die Tricar

bonsäurezyklusenzyme  $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenase, Succinyl-CoA-Synthetase und Succinatdehydrogenase kodiert, für die aerobe Essigsäurebildung verantwortlich ist. *E. coli*-Stämme, bei denen diese Repression ausgeschaltet wurde, bildeten bis zu zehnfach weniger Essigsäure als der Ausgangsstamm.

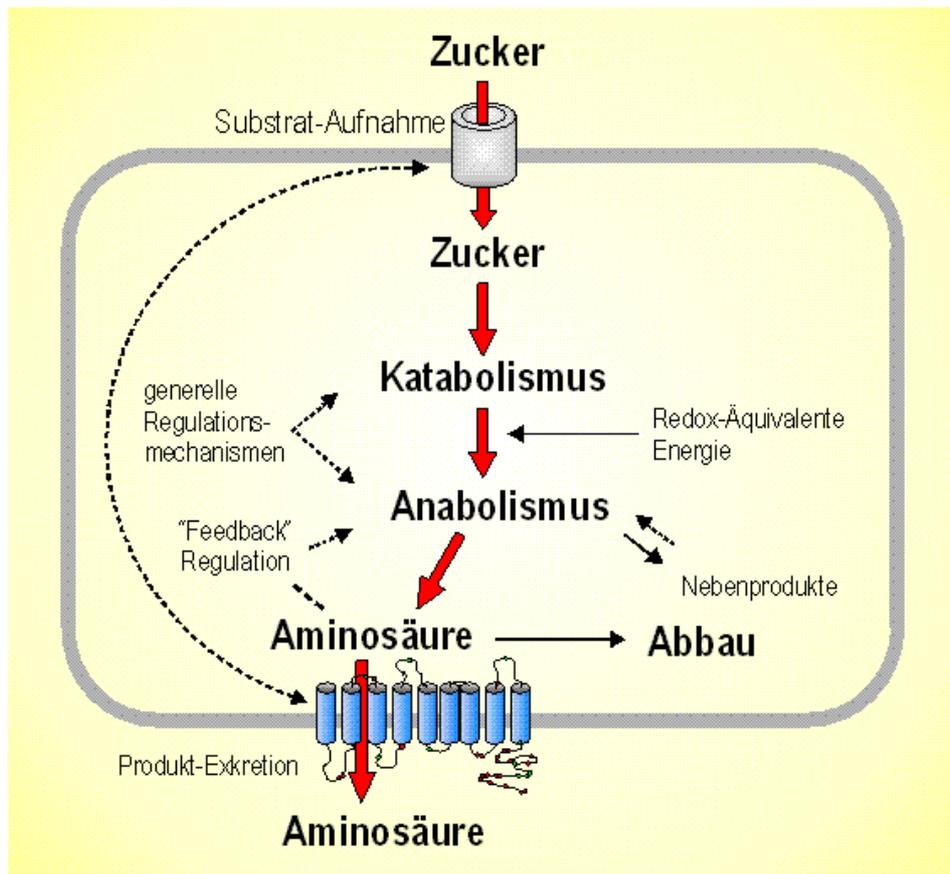


Abb. 1: Schematische Darstellung der Umwandlung eines Zuckers in eine Aminosäure und deren Exkretion im Verlauf des bakteriellen Stoffwechsels

Die Sekretion von Proteinen durch Gram-positive Bakterien stellt eine attraktive Alternative zu den weit verbreiteten Strategien zur intrazellulären Proteinexpression dar. Am Institut für Biotechnologie wird daher die Proteinsekretion bei verschiedenen Gram-positiven Bakterien (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus carnosus*, *Corynebacterium glutamicum*) und deren Nutzung als Wirtsorganismen für die sekretorische Gewinnung von biotechnologisch interessanten heterologen Proteinen und Peptiden untersucht. Einige pathogene Gram-positive Bakterien (wie z.B. *Staphylococcus aureus* und *Mycobacterium tuberculosis*) besitzen für die Sekretion von Proteinen neben dem klassischen Sekretionsweg noch ein alternatives System (Sec2), das für die Sekretion von einigen wenigen Proteinen verantwortlich ist. Diese oft sehr großen Proteine sind für die Virulenz der Mikroorganismen von entscheidender Bedeutung. Der Doktorand Michael Caspers konnte zeigen, dass es neben dem Signalpeptid noch im reifen Teil der Proteine Determinanten gibt, die für den Sec2-spezifischen Membrantransport von entscheidender Bedeutung sind.