

## Neue Produktionsmechanismen

# Produktion von Öl in Cyanobakterien

GEORG HÖLZL, PETER DÖRMANN

INSTITUT FÜR MOLEKULARE PHYSIOLOGIE UND BIOTECHNOLOGIE DER PFLANZEN (IMBIO), UNIVERSITÄT BONN

**Cyanobacteria are photosynthetically active organisms like plants and algae, but their cell structure is less complex and they can therefore be changed more easily. The elucidation of the biosynthetic pathway for oil in cyanobacteria in 2020 will now enable new strategies for biotechnological oil production in microorganisms. Due to the simpler possibility of genetic modification and their photosynthetic activity, cyanobacteria are ideally suited for the biotechnological production of oil.**

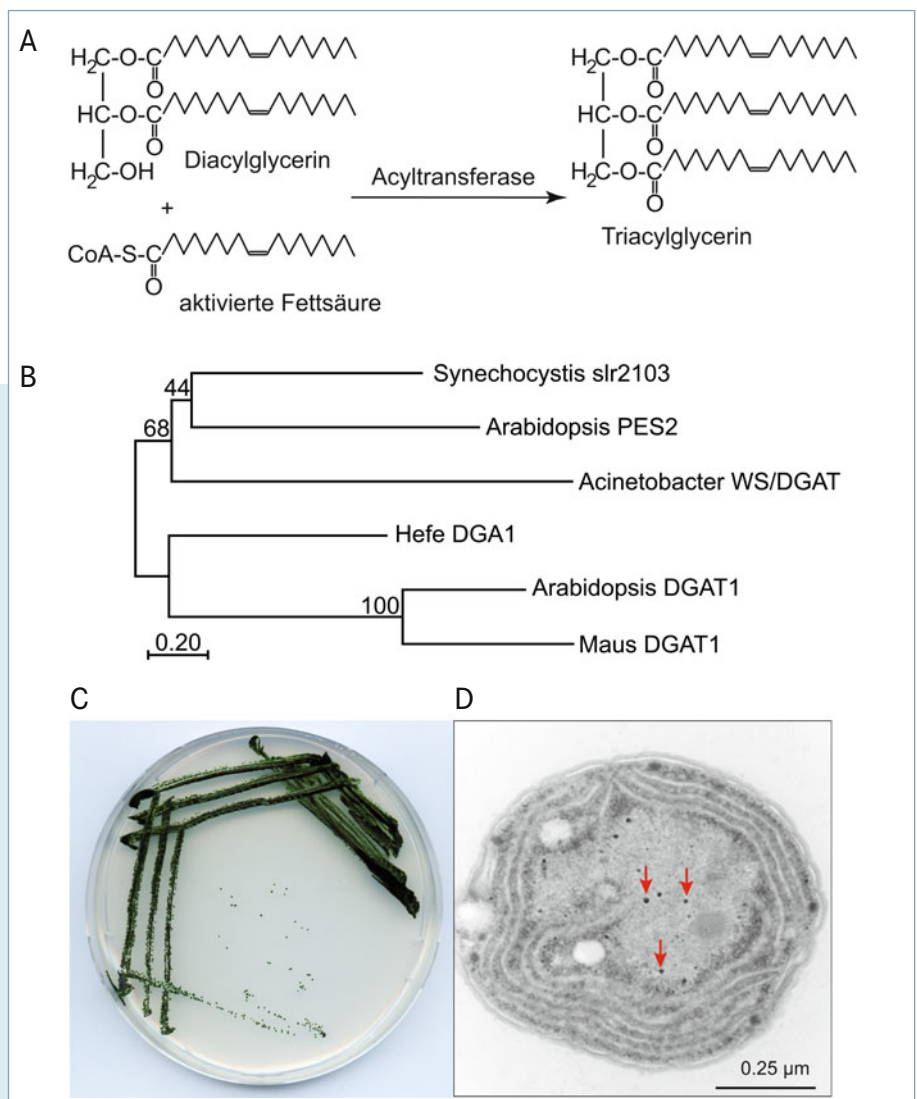
DOI: 10.1007/s12268-021-1563-y

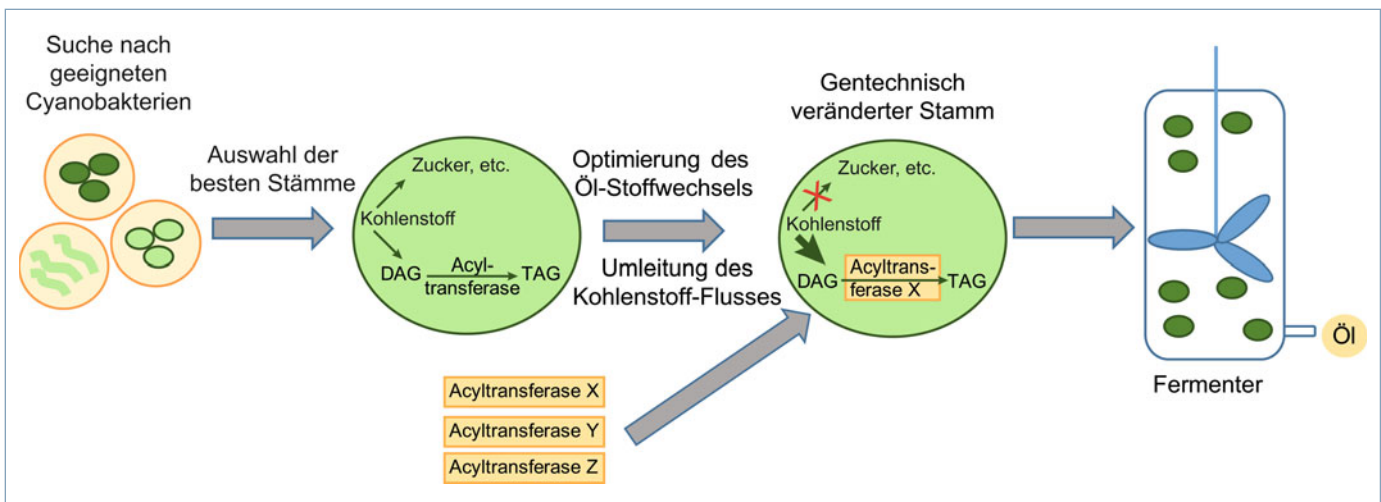
© Die Autoren 2021

■ Fette und Öle biologischen Ursprungs spielen eine entscheidende Rolle in der menschlichen Ernährung und als nachwachsende Rohstoffe. Sie werden in großen Mengen in der Lebensmittelindustrie verwendet, aber auch als Nahrungsergänzungstoffe (z. B. Fischöle mit  $\omega$ -3- und  $\omega$ -6-Fettsäuren) eingesetzt. Große Mengen an pflanzlichen Ölen werden für die Produktion von Biokraftstoffen (Biodiesel, Flugzeugtreibstoff) verwendet.

wendet. Leinöl wird z. B. aufgrund seines hohen Anteils an ungesättigten Fettsäuren für die Ernährung, aber auch als Firnis zum Holzschutz produziert. Während ein Teil der Fett- und Ölproduktion aus tierischen Quellen stammt, wird der größte Teil der Fette und Öle aus Pflanzen gewonnen. Die mit Abstand wichtigste Ölpflanze ist die afrikanische Ölpalme, gefolgt von Sojabohne, Raps und Sonnenblume. In Europa werden Rapsöl und Palmöl zum großen Teil zur Biodieselproduktion eingesetzt (Beimischung von bis zu 7 % Biodiesel zum Dieselkraftstoff gemäß Biokraftstoffquotengesetz), daneben finden die Öle in der Lebensmittelindustrie Verwen-

► **Abb. 1:** Biosynthese von Triacylglycerin in Cyanobakterien. **A,** Biosyntheseweg von Triacylglycerin. Triacylglycerin entsteht in den Zellen durch den Transfer einer dritten Fettsäure an Diacylglycerin, katalysiert durch eine Acyltransferase. **B,** Phylogenetischer Baum der Acyltransferasen der Triacylglycerin-Biosynthese aus verschiedenen Organismen. Der phylogenetische Baum zeigt die Verwandtschaft (Sequenzähnlichkeit) der Acyltransferasen aus dem Cyanobakterium *Synechocystis* (slr2103), aus Pflanzen (*Arabidopsis thaliana* PES2/At3g26840 und DGAT1, At2g19450), dem Bakterium *Acinetobacter baylyi* (WS/DGAT/AF529086), aus Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*, DGA1/DGAT2) und Maus (*Mus musculus*, DGAT1). **C,** *Synechocystis*-Zellen gehören zu den photosynthetisch aktiven Cyanobakterien. Sie können als Kolonien auf der Oberfläche von Nährmedium in einer Petrischale wachsen. **D,** Eine *Synechocystis*-Zelle nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme. Man erkennt außen ringförmige Thylakoide, in denen die Proteine der Photosynthese eingebettet sind. In der Mitte der Zelle befinden sich Öltröpfchen (Pfeile), die u. a. mit Triacylglycerin gefüllt sind.





▲ **Abb. 2:** Strategie zur Produktion von Öl in Cyanobakterien. Geeignete Cyanobakterien mit hoher Ölproduktion werden ausgewählt und durch die Umleitung des Kohlenstoffflusses zur Ölproduktion optimiert. Diese optimierten Stämme können in Fermentern zur biotechnologischen Ölproduktion eingesetzt werden. Eine weitere Steigerung der Ölproduktion könnte durch stärkere Expression geeigneter Acyltransferasen (X, Y, Z) erreicht werden. DAG: Diacylglycerin (Ölvorstufe); TAG: Triacylglycerin (Öl).

dung. Fette und Öle bestehen aus Triacylglycerin (TAG), welches Glycerin enthält, das mit drei Fettsäuren verestert ist (**Abb. 1A**). Triacylglycerin wird in den Zellen aus Diacylglycerin (DAG) und einer aktivierten Fettsäure durch Enzyme, die Acyltransferasen, synthetisiert und in Lipidtröpfchen (*lipid droplets*) gespeichert. Die entsprechenden Acyltransferasen wurden aus Tieren, Pflanzen, Algen, Hefen und Bakterien isoliert (**Abb. 1**, [1]).

Neben der Isolierung von tierischen und pflanzlichen Fetten gewinnen biotechnologische Strategien zur Produktion von Triacylglycerin immer mehr an Bedeutung. Hierzu werden insbesondere Grünalgen (z. B. *Chlamydomonas*) oder Heterokont-Algen (*Nannochloropsis*) aufgrund ihrer Fähigkeit zur Photosynthese verwendet [2]. Wie Pflanzen können Algen durch Photosynthese aus Kohlenstoffdioxid und Wasser Zucker synthetisieren. Algen können diesen Zucker in Triacylglycerin umwandeln, allerdings tun sie dies bevorzugt unter bestimmten Wachstumsbedingungen, wie Stress. Diese Bedingungen und die Tatsache, dass sie nur schwer gentechnisch verändert werden können, beeinträchtigen den großtechnischen Einsatz von Algen zur Ölproduktion. Algen gehören wie Tiere, Pflanzen und Hefen zu den eukaryoten Organismen, die Zellen mit Organellen einschließlich eines Zellkerns enthalten, der über ein Genom aus Chromosomen verfügt. Die Komplexität der eukaryoten DNA, in Kombination mit der in Kompartimente aufgeteilten Zellstruktur, erschwert in der Praxis die Möglichkeiten zu genetischen Verän-

derungen. Prokaryote Organismen (z. B. Bakterien) enthalten keine Organellen und die DNA liegt ohne Zellkern im Cytosol der Zelle vor. Bakterien können einfach gentechnisch modifiziert werden, indem fremde Gene in übertragbaren genetischen Einheiten (Plasmiden) in die Zellen eingebracht oder ins Genom integriert werden. Außerdem können zelleigene Gene durch homologe Rekombination ausgeschaltet werden.

Die Cyanobakterien stellen ein Phylum innerhalb der Bakterien dar und können ebenso wie eukaryote Algen und Pflanzen durch Photosynthese Kohlenstoffdioxid und Wasser in Sauerstoff und Zucker umwandeln. Der so erzeugte Zucker wird in Cyanobakterien hauptsächlich in Form von Glycogen (Zuckerpolymer) oder Polyhydroxyalkanoat (ein Polyester zur Speicherung von Kohlenstoff) gespeichert (**Abb. 2**, [3]). Cyanobakterien sind aufgrund ihrer prokaryoten Natur ideal für biotechnologische Anwendungen geeignet. Gentechnisch angepasste Cyanobakterienstämme werden bereits zur Produktion von Ethanol oder Wasserstoff eingesetzt [4, 5]. Allerdings blieb die Antwort auf die Frage, ob Cyanobakterien auch Triacylglycerin synthetisieren können, kontrovers.

Im Jahr 2020 gelang es unserer Arbeitsgruppe, das Gen für die Triacylglycerinsynthese aus dem Cyanobakterium *Synechocystis* zu isolieren und zu charakterisieren [6]. Dieses Gen enthält die Erbinformation für eine neue Acyltransferase (slr2103), die eine Ähnlichkeit zu pflanzlichen Enzymen zeigt, die an der Wachstestersynthese in Chloroplasten

beteiligt sind [7]. Diese Acyltransferase aus *Synechocystis* ist ein Mitglied einer neuen Klasse von Triacylglycerin-Synthasen, welche verschieden von den bisher bekannten Acyltransferasen aus Tieren, Hefen, Pflanzen und nicht photosynthetischen Bakterien (z. B. *Acinetobacter*) sind (**Abb. 1B**, [1]).

Der Gehalt an Triacylglycerin in *Synechocystis* ist zu gering für eine biotechnologische Nutzung [6]. Daher ist es notwendig, nach anderen Cyanobakterienstämmen zu suchen, die größere Mengen an Triacylglycerin produzieren, oder Wachstumsbedingungen zu finden, unter denen Triacylglycerin in den Zellen akkumuliert (**Abb. 2**). Weiterhin ist es möglich, mithilfe von gentechnischen Veränderungen Cyanobakterienstämme zu erzeugen, die größere Mengen an Triacylglycerin produzieren. Diese Ziele sind zurzeit Gegenstand der Forschung in unserem Labor. Die Identifizierung des Biosynthesewegs für Triacylglycerin in Cyanobakterien eröffnet den Weg für eine neue Strategie zur nachhaltigen Ölproduktion für die menschliche Ernährung bzw. als nachwachsender Rohstoff. Im Unterschied zu anderen mikrobiologischen Produktionssystemen wird keine Kohlenstoffquelle (z. B. Zucker) benötigt, da die Zellen Kohlenstoffdioxid aus der Luft und Wasser mithilfe des Sonnenlichts in Zucker und Sauerstoff umwandeln und somit einen Beitrag zum Klimaschutz beisteuern können. Ein Vorteil gegenüber eukaryoten Algen ist, dass Cyanobakterien schneller und einfacher genetisch an biotechnologische Produktionsbedingungen angepasst werden können. Die notwendigen Anpassungen umfassen die

Produktion größerer Mengen an Triacylglycerin, eine maßgeschneiderte Zusammensetzung an Fettsäuren, die Adaptation an die Erfordernisse der Anzucht usw. Daher wird die zukünftige Entwicklung von Cyanobakterien zur biotechnologischen Produktion wichtiger biologischer Inhaltsstoffe, einschließlich von Öl, spannend bleiben.

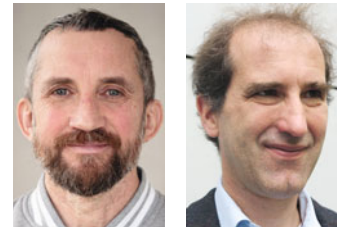
### Danksagung

Wir bedanken uns bei Dr. Michael Melzer, IPK Gatersleben, für das Anfertigen elektronenmikroskopischer Aufnahmen von *Synechocystis*. ■

### Literatur

- [1] Röttig A, Steinbüchel A (2013) Acyltransferases in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 77: 277–321
- [2] Liu B, Benning C (2013) Lipid metabolism in microalgae distinguishes itself. *Curr Opin Biotechnol* 24: 300–309
- [3] Koch M, Doello S, Gutekunst K et al. (2019) PHB is produced from glycogen turn-over during nitrogen starvation in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Int J Mol Sci* 20: 1942
- [4] Weaver PF, Lien S et al. (1980) Photobiological production of hydrogen. *Solar Energy* 24: 3–45
- [5] Deng MD, Coleman JR (1999) Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria. *Appl Environ Microbiol* 65: 523–528
- [6] Aizouq M, Peisker H, Gutbrod K et al. (2020) Triacylglycerol and phytol ester synthesis in *Synechocystis* sp. PCC6803. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117: 6216–6222
- [7] Lippold F, vom Dorp K, Abraham M et al. (2012) Fatty acid phytol ester synthesis in chloroplasts of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24: 2001–2014

**Funding note:** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.  
**Open Access:** Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.



Georg Hölzl (links) und Peter Dörmann

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Peter Dörmann  
 Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnologie der Pflanzen (IMBIO)  
 Universität Bonn  
 Karlrobert-Kreiten-Straße 13  
 D-53115 Bonn  
 doermann@uni-bonn.de

Hier steht  
eine Anzeige.

 Springer