

AG Biokatalyse (Dr. Jens Rudat)



Arbeitsgruppe:

Sandra Baumann (BTA),
Dr.-Ing. Ulrike Engel (Dipl.-Nat.)
Sarah-Marie Dold (M.Sc.)
Christin Slomka (M.Sc.)

Die Arbeitsgruppe wird ergänzt und unterstützt durch Studierende unterschiedlicher Fachrichtungen (Abschlussarbeiten Diplom/Master/Bachelor sowie Praktikant(inn)en und wissenschaftliche Hilfskräfte).

Wir bieten regelmäßig die Betreuung studentischer (Abschluss-)Arbeiten im Rahmen unserer Projekte an und begrüßen diesbezügliche Anfragen sowohl von Bio- und Chemieingenieuren als auch von Naturwissenschaftlern.

Alumni:

Dr. Birgit Brucher, c-LEcta GmbH. Leipzig
Dr. Markus Andre, Institut Fresenius, Taunusstein
Dr. Mareike Perzborn, Lonza AG, Visp (Schweiz)

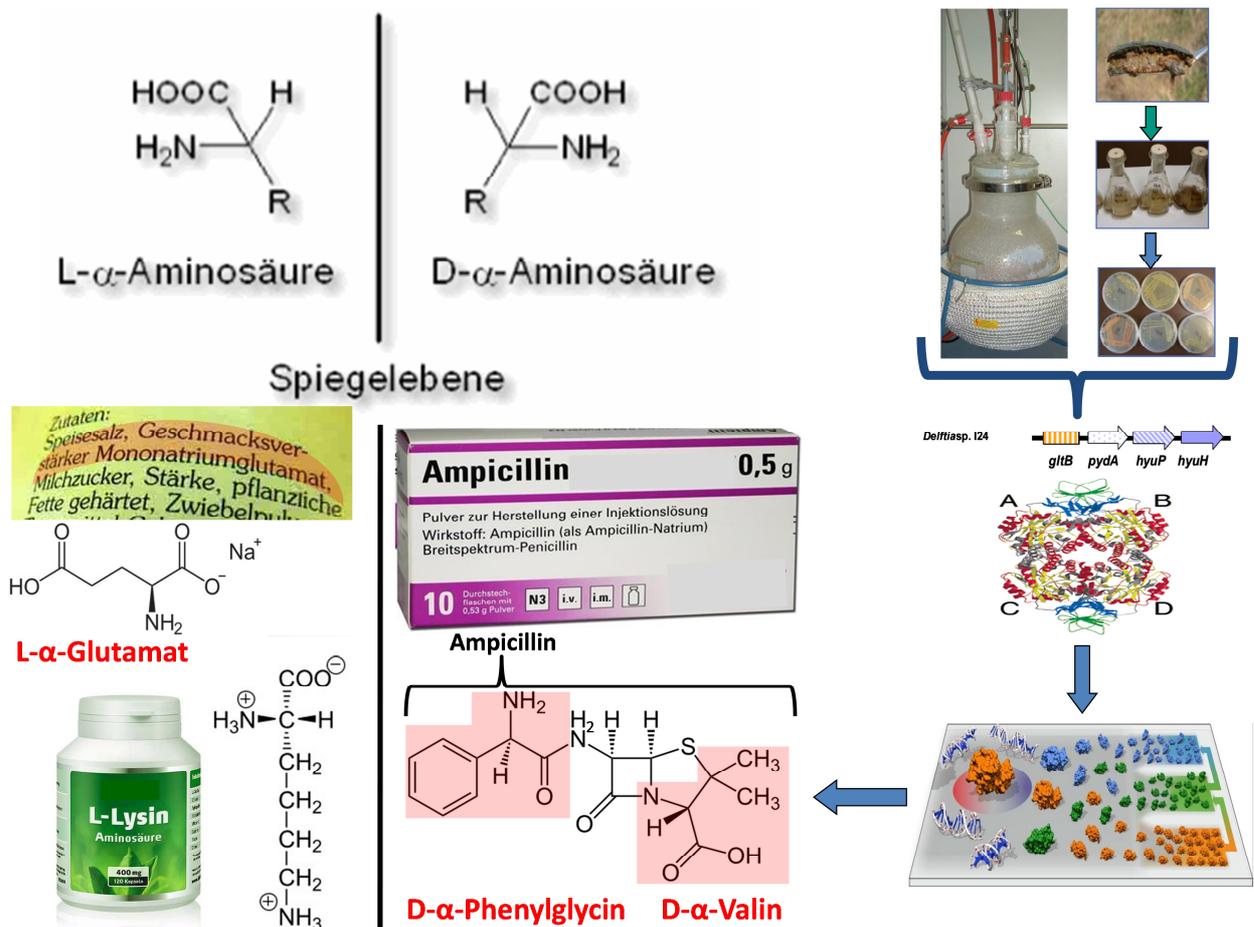
Arbeitsfelder:

Die Arbeitsgruppe Biokatalyse befasst sich mit der enzymatischen Umsetzung niedermolekularer Verbindungen für chemische und pharmazeutische Anwendungszwecke.

Expertise besteht insbesondere in der Biotransformation von Stickstoff-Heterozyklen (Hydantoine, Dihydropyrimidine, Diketopiperazine) sowie kanonischer und nicht-kanonischer Aminosäuren.

Aminosäuren und deren abgeleitete Derivate sind zentrale Bausteine in der Wirkstoffsynthese und Feinchemie (z.B. für Penicillin-Derivate mit erhöhtem Wirkungsspektrum). Während die Proteine bildenden Aminosäuren wie etwa der Geschmacksverstärker Glutamat oder das Futtermittel Lysin zumeist kostengünstig aus nachwachsenden Rohstoffen zur Verfügung gestellt werden können, sind hiervon abweichende Strukturen (unnatürliche Reste, Aminogruppe in D-Konfiguration und/oder nicht in α -Position) zumeist nur über sog. Racematspaltungen mit einer theoretischen Ausbeute von maximal 50% zugänglich.

In der Arbeitsgruppe werden enzymatische Reaktionskaskaden zur Produktion dieser ungewöhnlichen Aminosäuren untersucht und auch rekombinant aus verschiedenen Mikroorganismen zusammengestellt. Diese Enzymkaskaden ermöglichen bis zu 100% Ausbeute und tragen schon allein dadurch erheblich zur Ressourcenschonung und Abfallvermeidung bei. Eine Substratsynthese auf nachhaltiger Basis ist oft möglich.



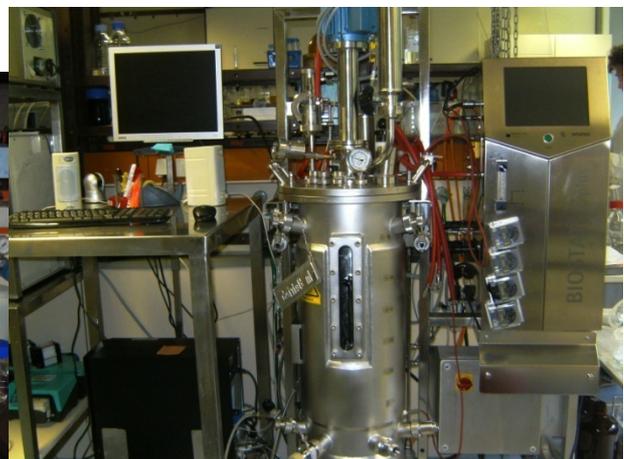
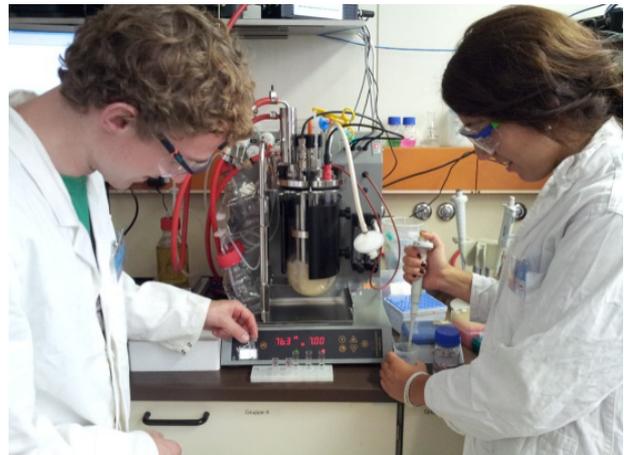
Als **Schlüsselkompetenzen** können hervorgehoben werden:

- Mikrobiologie: Isolierung, Identifikation und Charakterisierung neuer Bakterienstämme sowie Optimierung der Wachstumsbedingungen
- Chemie: Synthese und Reinigung neuartiger Substrate für biokatalytische Umsetzungen; Identifikation der Substanzen mittels NMR oder MALDI-MS (extern)
- Enzymologie: Identifikation und Isolierung neuer Enzymsysteme; Reinigung und ggf. Immobilisierung der Enzyme; Durchführung von Biotransformationen
- Biochemie: Analyse der Biotransformationen mittels hochauflösender Flüssig-Chromatographie (HPLC), UV-Spektralphotometrie u.a.
- Molekularbiologie: Identifikation, Klonierung und heterologe (Über-)Expression der zu den Biokatalysatoren gehörigen Gene; dadurch Generierung von Produktionsstämmen

Für unsere Forschung steht der Arbeitsgruppe im IBLT_2: Technische Biologie folgende **Ausstattung** zur Verfügung:

Mikrobiologie und Biotechnologie:

- Laborzulassung für Arbeiten mit Mikroorganismen der Risikogruppe 2
- Umfangreiche Stammsammlung: >150 Bakterienstämme der Risikogruppen 1 und 2, dazu marine Bakterien aus 13 verschiedenen Gattungen, knapp 30 eukaryontische Mikroorganismen (Hefen, Schimmelpilze und Grünalgen).
- Temperierbare Schüttelinkubatoren (z.T. beleuchtbar für Algenzucht).
- Kleinfertmer, Parallel-Fermentationssystem, Technikumsfermenter (40L).



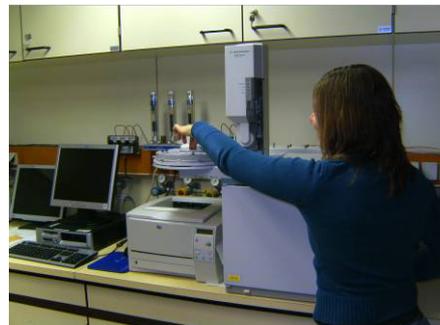
Enzymologie (Enzymtechnik und Biokatalyse):



- FPLC-System „ÄKTA“ zur Proteinreinigung (gekühlt)
- Thermoschüttler zur Durchführung von Biotransformationen
- Möglichkeit zur Enzym-Immobilisierung und Kopplung an Magnetpartikel

Biochemische Analytik:

- mehrere HPLC-Anlagen
- mehrere Gas-Chromatographen
- Polarimeter



- Spektralphotometer
- Mikrotiterplatten-Fluoreszenzreader
- Speedvac zur Probenkonzentrierung
- Rotationsverdampfer

Molekularbiologie:

- Laborzulassung für gentechnisches Arbeiten nach S1 und S2
- Grundausstattung für molekularbiologisches Arbeiten (Thermocycler etc.)
- Real-Time quantitative PCR
- Möglichkeit zur Denaturierenden Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE) zur schnellen Stamm-Differenzierung



Aktuelle Projekte:

- Molecular Interaction Engineering (MIE), Teilprojekt „Synthetische Reaktionskaskaden“ (*SynCasc*)

Projektlaufzeit: 01.01.2013 – 31.12.2017

Projektpartner:

- [FZ Jülich: IBG 1](#) (Prof. M. Pohl, Dr. D. Rother)
- [KIT CN: IFG](#) (Prof. M. Franzreb)
- [KIT CN: IMT](#) (Dr. B. Rapp)
- [KIT CS: IBLT 4](#) (Prof. J. Hubbuch)
- [KIT CS: TVT/TFI](#) (Prof. W. Schabel)

Förderung:

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) über Projektträger Jülich (PTJ), Strategieprozess „[Nächste Generation biotechnologischer Verfahren](#)“

→ [Projektbeschreibung](#)

- „Zellfreie Enzymkaskade im Mikrofluidsystem für die optimierte biotechnologische Produktion von chemischen Grundbausteinen aus Reststoffen“

Projektlaufzeit: 01.01.2012 – 31.12.2015

Projektpartner:

- [KIT CN: IMVT](#) (Prof. R. Dittmeyer, Dipl.-Chem. M. Kraut)
- [KIT CN: IFG](#) (Prof. U. Obst, Dr. G. Brenner-Weiß)
- [KIT CS: IBLT 4](#) (Prof. J. Hubbuch)

Förderung:

Portfolio-Prozess BioÖkonomie ("[Sustainable BioEconomy](#)") der Helmholtzgemeinschaft Deutscher Forschungszentren (HGF)

Abgeschlossene Projekte:

- Entwicklung eines Verfahrens zur *Cronobacter sakazakii*-freien Herstellung von sprühgetrockneten milch- und cerealienbasierten Lebensmittelpulvern

→ [Projektbeschreibung](#)

Projektlaufzeit: 01.10.2010 – 31.03.2013

Projektpartner:

- Industrie: Milchwerke Mittelelbe GmbH
- KIT CS: IBLT_1 (Prof. H. Schuchmann)

Förderung:

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Programm zur Innovationsförderung

- PolyTe: Polymere Tenside aus nachwachsenden Rohstoffen mit optimierten Performance-Eigenschaften, Teilprojekt „Acylpeptide – Neuartige Oligopeptid-basierte Tenside“.

Projektlaufzeit: 01.10.2008 – 30.09.2010

Projektpartner:

- Industrie: Cognis GmbH (mittlerweile zu BASF gehörig); c-LEcta GmbH; Taros Chemicals GmbH & Co. KG
- Fraunhofer Gesellschaft: FhG-UMSICHT (Prof. G. Deerberg); FhG-IGB (PD S. Rupp)
- Universitäten: HHU Düsseldorf/IMET (Prof. K.-E. Jaeger); HHU Düsseldorf/IBOC (Prof. J. Pietruska); TU Dortmund (Prof. A. Gorak)

Förderung:

BMELV über Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR), Förderkennzeichen 22012708

→ [Schlussbericht](#)

- BioSysPro: Neue Enzyme und Verfahren zur Herstellung von biobasierten Produkten durch Integration von biotechnologischen und chemischen Verfahren.

Projektlaufzeit: 01.04.2006 – 31.03.2009

Projektpartner:

- Fraunhofer Gesellschaft: FhG-ICT (Prof. T. Hirth; Koordinator); FhG-IME (Prof. R. Fischer); FhG-IGB (Prof. H. Brunner)
- Universitäten: RWTH Aachen/IMG (Prof. F. Kreuzaler); RWTH Aachen/IMB (Dr. U. Commandeur); Uni Münster/IBBP (Prof. D. Prüfer)

Förderung:

BMBF über PTJ, Förderschwerpunkt „Nachhaltige BioProduktion“

→ [Abschlussbericht](#)

Publikationen (seit 2010)

Originalarbeiten

Andre M, Kühl B, Brenner-Weiß G, Sylдат C, Rudat J (2014) Cationic Heterooligopeptides by Ficain-catalyzed Co-oligomerization of Lysine and Methionine Ethylesters. *J Peptide Sci*, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/psc.2639/supinfo>

Perzborn M, Sylдат C, Rudat J (2013) Enzymatical and microbial degradation of cyclic dipeptides (diketopiperazines). *AMB Express*. 3,51.

Perzborn M, Sylдат C, Rudat J (2013) Separation of Cyclic Dipeptides (Diketopiperazines) from their corresponding linear dipeptides by RP-HPLC and method validation. *Chromatography Research International Volume 2013*, Article ID 310269, 8 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/310269>

Engel U, Sylдат C, Rudat J (2012) Novel amidases of two *Aminobacter* sp. strains: Biotransformation experiments and elucidation of gene sequences. *AMB Express* 2, 33

Engel U, Sylдат C, Rudat J (2012) Stereoselective hydrolysis of aryl-substituted dihydropyrimidines by hydantoinases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (94: 1221).

Brucher B, Rudat J, Sylдат C, Vielhauer O (2010) Enantioseparation of Aromatic β^3 -Amino acids by Precolumn Derivatization with o-Phthaldialdehyde and N-Isobutyryl-L-cysteine. *Chromatographia* 71, 1063-1067

Bretschneider U, Sylдат C, Rudat J (2010) Synthese aromatischer β -Aminosäuren mit neuen cyclischen Amidasen. *Chem Ing Tech* 82: 161

Brucher B, Sylдат C, Rudat J (2010). Mikrobielle Umsetzung von β -Phenylalanin mittels neuer Transaminasen. *Chem Ing Tech* 82: 155

Übersichtsartikel und Buchkapitel

Engel U, Rudat, J, Sylдат, C (2014) The Hydantoinase Process: Recent developments for the production of non-canonical amino acids. In: *Industrial Biocatalysis*, Grunwald, P, Ed.; Pan Stanford: Singapore, (in press)

Rudat J, Brucher B, Sylдат C (2012): Transaminases for the synthesis of enantiopure beta-amino acids. *AMB Express* 2, 11

Ausgewählte internationale Konferenzbeiträge

Baumann S and Rudat J (2011) Heat inactivation of *Cronobacter* in powdered infant formula. *Int J Medical Microbiol*, 2011. 301: 59

Engel U, Brucher B, Sylдат C, Rudat J (2011). Chemoenzymatic synthesis and microbial degradation of enantiopure aromatic beta-amino acids. Proceedings of the Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology (VAAM), April 3 – 6, Karlsruhe, Germany, ISSN 0947-0867

Bretschneider U, Sylдат C, Rudat J (2010) Synthesis of aromatic β -amino acids using novel cyclic amidases. *J Biotechnol* 150S: 123

Engel U, Sylдат C, Rudat J (2010) Synthesis of enantiopure aromatic beta-amino acids using novel cyclic amidases. Proceedings of the 5th International Congress on Biocatalysis, August 29 - September 2, Hamburg, Germany, ISBN 978-3-941492-24-0