

Knallgasbakterien: Mit „explosiver Kraft“ den Spieß umdrehen – CO₂ als Rohstoff und nicht als belastender Müll

Knallgas Bacteria: Harnessing the Explosive Power of Bacteria – CO₂ as Raw Material instead of Undesirable Waste

Petra Köfinger, Zalina Magomedova



Petra Köfinger studierte Mikrobiologie an der Karl-Franzens-Universität in Graz. Nach ihrer Dissertation an der Karl-Franzens-Universität arbeitet sie nun als Universitätsassistentin am TU Graz-Institut für Molekulare Biotechnologie. Der Fokus ihrer Forschung liegt auf der Entwicklung des Knallgasbakteriums *Ralstonia eutropha* als Zellfabrik.

Petra Köfinger studied microbiology at Karl-Franzens-University Graz. After her doctoral thesis at KFU Graz she started to work as a scientific assistant at the Institute of Molecular Biotechnology. The research focus is on the development of the knallgas bacterium *Ralstonia eutropha* as a cell factory.

Knallgasbakterien können effizient Kohlendioxid als Nahrungsquelle nutzen, wobei sie die dazu benötigte Energie aus der biologischen „Verbrennung“ von Wasserstoff gewinnen. Damit ist eine ausgezeichnete Basis vorhanden, um das umweltbelastende CO₂ als Rohstoff für die biotechnologische Herstellung von chemischen Substanzen aller Art zu nutzen. Ein Forschungsprojekt aus dem Doktorskolleg „Molekulare Enzymologie“ widmet sich genau dieser Thematik.

Die massive Freisetzung von CO₂ durch die immer noch wachsende Nutzung von fossilen Rohstoff- und Energieträgern hat zu bereits sichtbar gewordenen Einschnitten im Gleichgewicht der Natur geführt. Heute beträgt die weltweite CO₂-Emission, die hauptsächlich auf der Verbrennung von fossilen Rohstoffen beruht, 8,7 Gigatonnen Kohlenstoff pro Jahr.¹ Die CO₂-Konzentration in der Atmosphäre ist seit Beginn der Industrialisierung um mehr als ein Drittel gestiegen (von 280 ppm auf 386 ppm¹). Die klimatischen Folgen dieser steigenden CO₂-Konzentrationen in der Atmosphäre machen sich durch Klimaerwärmung, Erhöhung des Meeresspiegels und durch eine Ansäuerung der Meere bemerkbar. Das ist unbestritten erkannt worden und es wurden nicht zuletzt internationale Vereinbarungen abgeschlossen, um diese Spirale zu durchbrechen. Diese haben in einigen Bereichen zwar Erfolge gebracht, sind aber zum größten Teil noch recht zahnlos. Forschung und Technologieentwicklung haben sich daher zunehmend mit Fragen der Gewinnung von Energie, Rohstoffen und Produkten aus „erneuerbaren“ Quellen beschäftigt. Viele Staaten haben in den letzten Jahren großzügig geförderte Projekte zur Gewinnung von z. B. Bioethanol, Biodiesel, Biogas als Energieträger und von verschiedenen durch Fermentation gewonnenen organischen Säuren und Alkoholen als Chemie-

Knallgas bacteria (also known as hydrogen-oxidising bacteria) can efficiently use carbon dioxide as a food source; they gain their necessary energy from the biological “combustion” of hydrogen. This is an excellent basis for the environmentally damaging CO₂ to be used as feedstock for the biotechnological production of a variety of chemical substances. A research project including a PhD thesis in the framework of the PhD program (DK) Molecular Enzymology examines this issue.

The massive release of CO₂ caused by the still increasing use of fossil fuels and fossil energy resources has already had significant effects on nature. Today, global CO₂ emission, which is mainly based on the combustion of fossil fuels, is about 8.7 gigatons of carbon per year.¹ Since the beginning of the industrial revolution, the burning of fossil fuels has contributed to the increase in carbon dioxide in the atmosphere from 280 ppm to 386 ppm¹. The climatic consequences of increasing CO₂ concentrations in the atmosphere are global warming, rising sea levels and noticeable acidification of the oceans. To prevent the effects of increasing CO₂ concentration, international agreements have been made which are not proving particularly successful. Research and technology development are increasingly concerned with issues of production of energy, raw materials and products made from “renewable” sources. Many countries in recent years have been generously funding projects for the production of e.g. bioethanol, biodiesel and biogas as energy carriers made from organic acids and alcohols gained from different fermentation processes. All these approaches mainly focus on the use of herbal products, but nevertheless they have their drawbacks. They require intensive cultivation of energy crops and raw materials, which in turn leads to a shortage of high

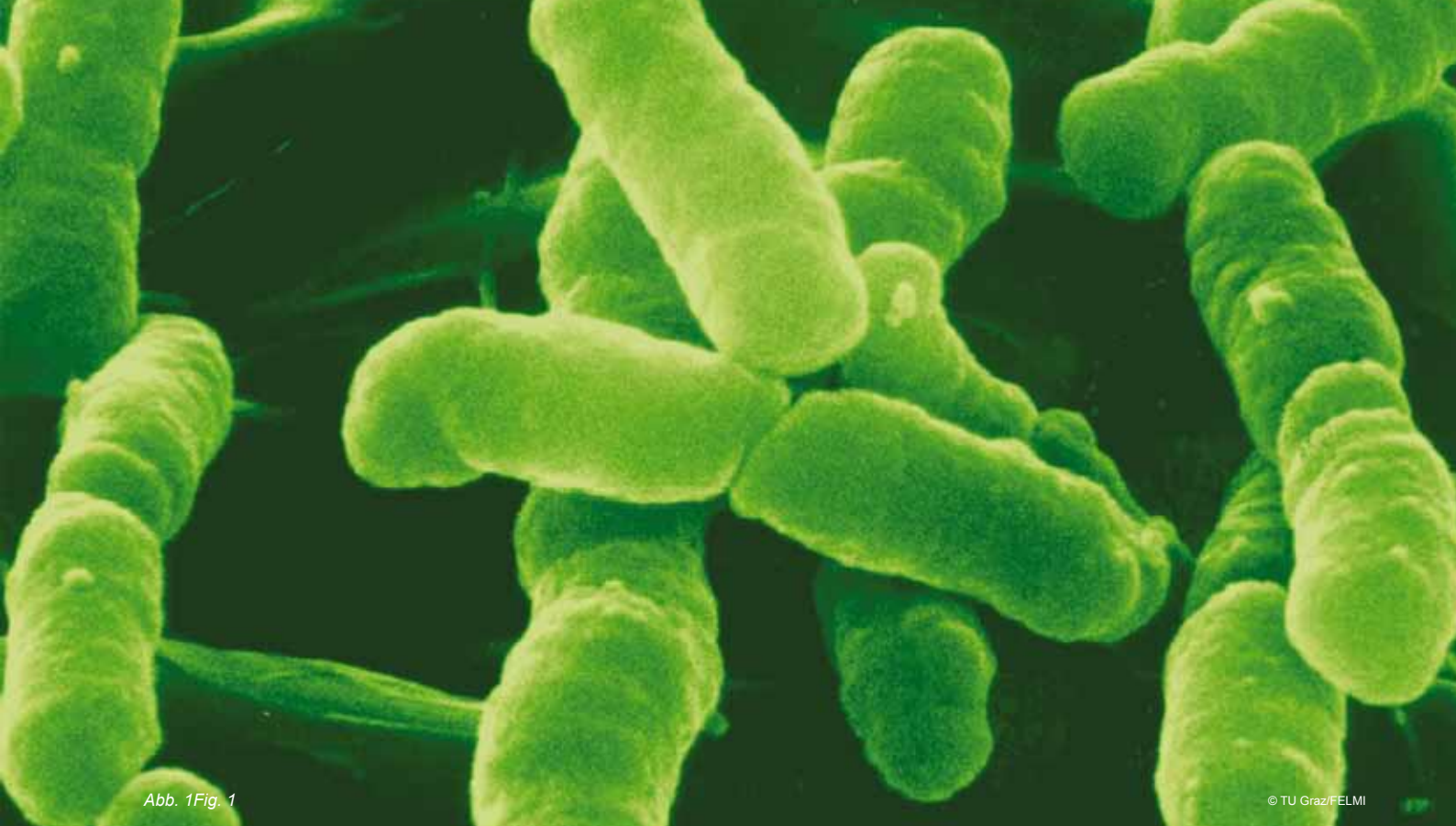


Abb. 1 Fig. 1

© TU Graz/FELMI

Rohstoffe gestartet. Alle diese Ansätze sind vorwiegend auf die Nutzung von pflanzlichen Produkten fokussiert, wobei ebenfalls Grenzen zutage getreten sind. Diese Ansätze erfordern Intensivkulturen von Energie- und Rohstoffpflanzen, was zu einer Knappheit an hochwertigen landwirtschaftlichen Flächen und zu einer verstärkten Auslaugung der Böden führt. Das heißt, diese Böden würden nicht mehr für die Lebensmittelversorgung der Weltbevölkerung zur Verfügung stehen, und dies bei steigender Bevölkerungszahl und drastischem Nahrungsmittelmangel für große Teile der Menschheit. Ein weiterer biotechnologischer Ansatz ist die Verwertung und Fixierung von CO₂ durch Mikroalgen. Da jedoch bei der biochemischen Photosynthese nur ein geringer Teil der Lichtenergie genutzt werden kann und zudem in Intensivkulturen noch technische Probleme bestehen, die notwendigen großen Einstrahlflächen zu generieren, sind diese Verfahren durch extrem schlechte Wirkungsgrade gehandicapt. Chemisch-physikalische Ansätze, um überschüssiges Kohlendioxid zu verflüssigen und dann in geeigneten Lagerstätten unterzubringen,² sind auch eher nur als „Zwischenlösung“ zu kategorisieren.

In unseren Forschungsarbeiten verfolgen wir einen neuen Ansatz. Knallgasbakterien können effizient Kohlendioxid als Nahrungsquelle nutzen, wobei sie die dazu benötigte Energie aus der biologischen „Verbrennung“ von Wasserstoff gewinnen. Der Vorteil dieses Ansatzes ist, dass

quality agricultural land and increased soil depletion. In short: in times of rising population figures and increasing food deficiency, these areas would not be available to supply food for the world's population. Another biotechnological approach is the recovery and fixation of CO₂ by microalgae. However, in biochemical photosynthesis just a small part of the light energy can be used. Furthermore, there are still technical problems with their intensive cultivation, which handicaps this process. Physical-chemical approaches for the removal of excess carbon dioxide in liquid form, where it is pressed into appropriate deposits,² are more likely to provide interim solutions.

In our research project we are pursuing a new approach. Knallgas bacteria are able to use carbon dioxide efficiently as a food source and the necessary energy is gained through the biological “combustion” of hydrogen. The advantage of this process is that hydrogen can be made available from any kind of primary energy through electric energy (water, wind, solar energy). This is an excellent basis for using the environmentally damaging CO₂ as a raw material for biotechnological production of chemical substances of all kinds. In our work we use the facultative chemolithoautotrophic knallgas bacterium *Ralstonia eutropha* (new name *Cupriavidus necator*). It can grow on conventional substrates like sugar and has been employed for many years in research projects for the biotechnological production of biological de-

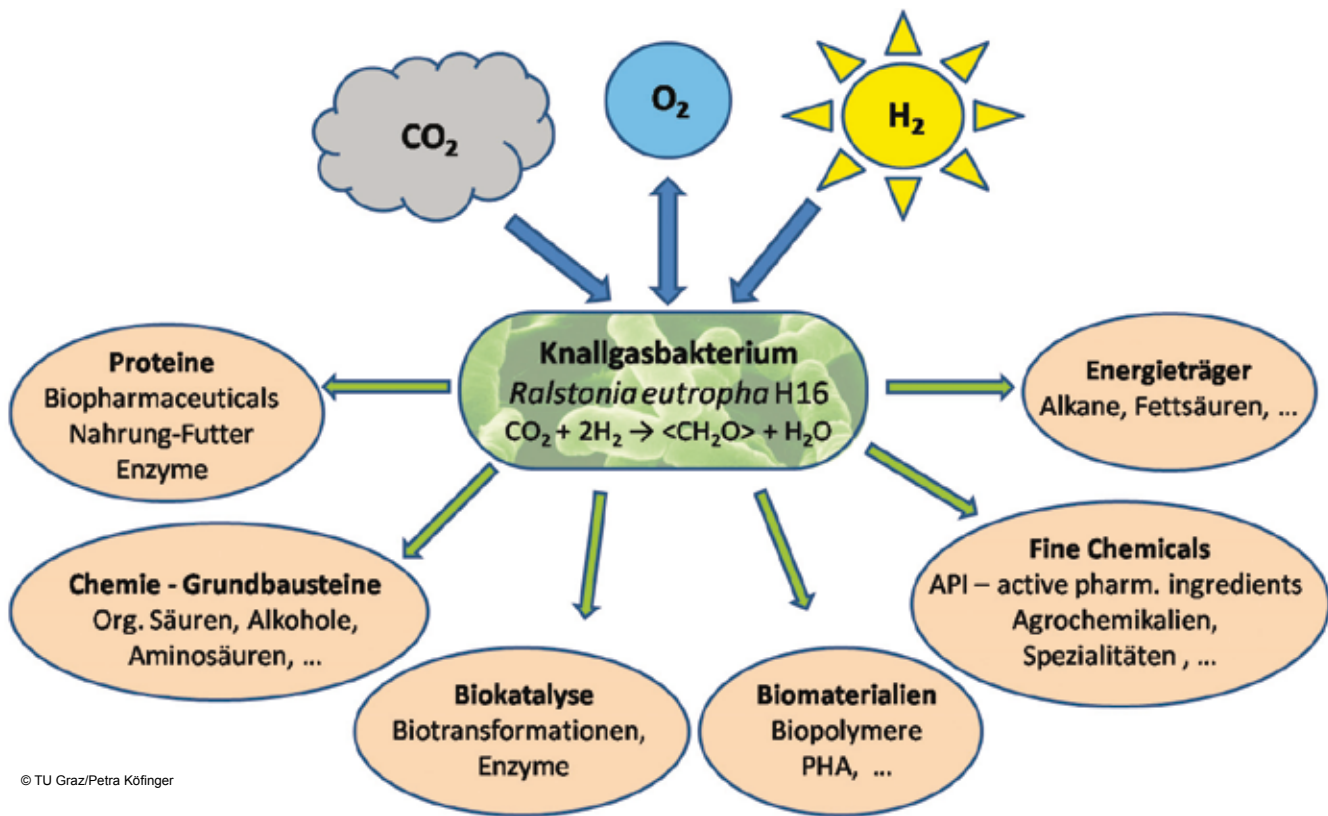


Zalina Magomedova studierte Genetik und Molekularbiologie an der Staatlichen Universität Sankt Petersburg in Russland. Seit 2010 arbeitet sie an ihrer Dissertation im Rahmen des DK „Molekulare Enzymologie“ am Institut für Molekulare Biotechnologie.

Zalina Magomedova studied genetics and molecular biology at Saint-Petersburg State University, Russia. Since 2010 she has been completing her PhD research in the Molecular Enzymology DK program at Institute of Molecular Biotechnology.

Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Knallgasbakteriums *Ralstonia eutropha* H16.

Fig. 1: Electron microscope photograph of the knallgas bacterium *Ralstonia eutropha* H16.



© TU Graz/Petra Köfinger

Abb. 2: Schematische Darstellung des Ziels dieses Projekts: Knallgasbakterien mithilfe der modernen Biotechnologie dahingehend zu verändern, dass sie als effiziente Zellfabriken zur Herstellung verschiedenster organischer Verbindungen eingesetzt werden können.

Fig. 2: Schematic representation of the project aim: To alter knallgas bacteria using modern biotechnology so that it can be used as an efficient cell factory for the production of a variety of organic compounds.

Wasserstoff über elektrische Energie im Prinzip aus jeder Art von Primärenergie (Wasser, Wind, Solarenergie) verfügbar ist. Damit ist eine ausgezeichnete Basis vorhanden, um das umweltbelastende CO_2 als Rohstoff für die biotechnologische Herstellung von chemischen Substanzen aller Art zu nutzen. In unseren Arbeiten verwenden wir das fakultativ chemolithoautotrophe Knallgasbakterium *Ralstonia eutropha* (neuer Name *Cupriavidus necator*). Es kann auch auf Basis konventioneller organischer Substrate wie Zucker wachsen. An der TU Graz wird damit seit Langem an Forschungsprojekten zur biotechnologischen Produktion von biologisch abbaubaren Kunststoffen gearbeitet.

Ziel unseres Projekts ist, die molekularen Grundlagen dieses Bakteriums genau zu studieren, um darauf aufbauend durch „Zell-Engineering“ effiziente „Zellfabriken“ zur Herstellung verschiedenster organischer Verbindungen wie Basis- und Feinchemikalien für die chemische Industrie, aber auch zur Herstellung von Verbindungen, die als Energieträger dienen („Biotreibstoffe“), zu entwickeln. Derzeit werden im Hinblick auf solche Anwendungen Expressionsvektoren für gentechnische Modifikationen entwickelt sowie Enzyme, die für die Entwicklung spezifischer Zellfabriken benötigt werden, studiert.

Die Knallgasbakterien sind nicht nur hinsichtlich der Fixierung von CO_2 interessant. Aufgrund ihrer Fähigkeit, Wasserstoff als Energieträger zu nutzen,

gradable polymers at Graz University of Technology.

The main aim of our project is to study the molecular basics of this bacterium and, using these results, construct cell factories using cell engineering. These cell factories are used for the production of different organic compounds, such as basic and fine chemicals, for the chemical industry and for the production of compounds which serve as energy carriers (biofuels). Currently, a set of expression vectors for genetic modifications are being developed, and we are also working on enzymes which are needed for the development of specialized cell factories.

Knallgas bacteria have attracted great interest due to their ability to fix carbon dioxide and use hydrogen as a sole source of energy. These properties allow them to be used in reduction reactions with various organic molecules. The goal in the first project phase is the development of cell factories for “bioreduction”. In a first step, the high diversity of oxido-reductase enzymes is analyzed and characterized using modern molecular biology and genome research tools. By using the genes coding for such enzymes, biocatalysts on the basis of living cells are created. The reaction performed in this environment is a selective reduction of organic molecules with the help of molecular hydrogen.

Future work is to continue the research in the context of an interdisciplinary project and to use

können sie auch sehr effizient Reduktionsreaktionen an unterschiedlichen organischen Molekülen durchführen. Die Ziele in der ersten Projektphase sind vorerst auf die Entwicklung von Zellfabriken zur „Bioreduktion“ ausgerichtet. In den derzeit durchgeführten Arbeiten wird die in diesem Bakterium vorhandene außerordentlich hohe Diversität von Enzymen, die in Reduktionsreaktionen beteiligt sind, mittels moderner Methoden der Molekularbiologie und Genomforschung erfasst und charakterisiert. Mithilfe der für solche Enzyme codierenden Gene werden Biokatalysatoren auf Basis lebender Zellen geschaffen, mit denen selektive Reduktionen an organischen Molekülen durchgeführt werden. Dabei kann molekularer Wasserstoff direkt zur Reduktion eingesetzt werden.

Die große Zukunftsvision ist, die begonnenen Arbeiten in einem größeren transdisziplinären Projektrahmen weiterzuführen und Knallgasbakterien als Plattform für die Rückgewinnung von CO₂ zu entwickeln. Wasserstoff ist bereits als chemischer Energiespeicher entwickelt, hat jedoch Grenzen bezüglich des Transports und kann daher nicht gut als mobiler Energieträger genutzt werden. Durch den Einsatz der Knallgasbakterien ist es möglich, die chemische Energie unter gleichzeitiger Fixierung von CO₂ in organische Substanzen, die als Rohstoff und Energieträger genutzt werden können, zu überführen.

knallgas bacteria as a platform to recover CO₂. Hydrogen has already been developed as a chemical energy storage material; however it has its limitations with respect to transport and is not completely suitable for use as a mobile energy source. By using knallgas bacteria, it is possible through the fixation of CO₂ to convert the chemical energy into organic substances which can then be used as a raw material and energy source.

Literatur/References:

¹ *According to the World Meteorological Organisation, WMO Greenhouse Gas Bulletin 2009.*

² *Deutsche Physikalische Gesellschaft: „Klimaschutz und Energieversorgung in Deutschland 1990–2020“, Bad Honnef 2005.*

DK Molekulare Enzymologie

Das Doktoratskolleg (DK) Molekulare Enzymologie hat sich zum Ziel gesetzt, die begabtesten Studierenden aus dem Bereich der molekularen Biowissenschaften für eine internationale wissenschaftliche Karriere vorzubereiten. Das Ausbildungsprogramm beinhaltet interdisziplinäre Workshops, Seminare sowie eine Reihe von Kursen zur Vermittlung wichtiger Labortechniken. Ein zentraler Teil des Programms ist die Internationalität: Die Studierenden müssen einen Teil ihrer Forschungstätigkeit in einem ausländischen Partnerlabor durchführen. Ein Teilaspekt dieses Projekts „Knallgasbakterien: Mit ‚explosiver Kraft‘ den Spieß umdrehen – CO₂ als Rohstoff und nicht als belastender Müll“ wird im Rahmen des DK als Grundlagenforschungsprojekt durchgeführt.

DK Molecular Enzymology

The Molecular Enzymology PhD program (DK) has set itself the goal of preparing the most talented students in the field of molecular life sciences for an international academic career. The disciplinary training program includes workshops, seminars and a number of courses to convey important laboratory techniques. A central part of the training program is its international approach: students need to perform some of their research in a foreign partner laboratory. The project “Knallgasbakterien: Mit ‘explosiver Kraft’ den Spieß umdrehen – CO₂ als Rohstoff und nicht als belastender Müll (Knallgas Bacteria: Harnessing the Explosive Energy of Bacteria – CO₂ as Raw Material instead of Undesirable Waste)” is a basic research project carried out as part of the DK program.