

wicht zweier Konformationen (eine antiparallele und eine parallele Spezies) vor. Die Analyse solcher Mischungen gestaltet sich mit klassischen Methoden wie etwa der CD-Spektroskopie oder hochaufgelöster Strukturbestimmung schwierig. Auf der anderen Seite eignet sich die EPR-Spektroskopie sehr gut, um Abstandsverteilungen in heterogenen Systemen zu bestimmen.¹⁸⁾ Zu diesem Zweck wurde doppelt spinmarkierte Quadruplex-DNA synthetisiert und untersucht.¹⁹⁾ Die Schleifen der Quadruplexe wurden mit Nitroxiden so modifiziert, dass eine Abstandsmessung eine eindeutige Zuordnung der fraglichen Topologien erlaubte. Die Messungen zeigten eine hohe Flexibilität der Spinmarkierungen in den Schleifen. Dies erschwerte die Auswertung der Elektronenresonanzdaten, da im Gegensatz zu Messungen an Duplexstrukturen breite Abstandsverteilungen analysiert werden müssen.¹⁸⁾ Dennoch gelang es, zwei koexistierende Strukturen zu identifizieren, nämlich eine Korbstruktur mit antiparalleler sowie eine Propellerstruktur mit paralleler Strangorientierung.¹⁹⁾

Koordiniert von Hans-Achim Wagenknecht, Regensburg, mit Beiträgen von: Jörg Hartig, Konstanz Mark Helm, Mainz Andres Jäschke, Heidelberg Günter Mayer, Glasgow Ronald Micura, Innsbruck Harald Schwalbe, Frankfurt

Hans-Achim Wagenknecht, Jahrgang 1968, ist seit dem Jahr 2005 Professor für Organische Chemie an der Universität Regensburg. Er studierte Chemie an der Universität Freiburg und promovierte 1998 bei Wolf-Dietrich Woggon an der Universität Basel. Anschließend war er Postdoc bei Jacqueline K. Barton am California Institute of Technology, Pasadena. Er habilitierte sich im Dezember 2003 bei Horst Kessler an der TU München. Seine Forschungsinteressen gelten der chemischen Biologie im Bereich der präparativen Nucleinsäure- und Peptidchemie zum Aufbau funktionaler Nucleinsäure- und Peptidarchitekturen auf der Basis von Elektronentransfer, Energietransfer und Photokatalyse.



- 8) E. Zimmerman, A. Yonath, *ChemBioChem* 2009, 10, 63.
- 9) K. Lang, M. Erlacher, D.N. Wilson, R. Micura, N. Polacek, *Chem. Biol.* 2008, 15, 485.
- 10) H. Moroder, J. Steger, D. Graber, K. Fauster, K. Trapp, V. Marquez, N. Polacek, D. N. Wilson, R. Micura, *Angew. Chem.* 2009, 121, 4116.
- 11) V. Manoharan, B. Fürtig, A. Jäschke, H. Schwalbe, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 6261.
- 12) J. Steinreiber, T. R. Ward, *Coord. Chem. Rev.* 2008, 252, 751.
- 13) A. J. Boersma, B. L. Feringa, G. Roelfes, *Angew. Chem.* 2009, 121, 3396.
- 14) D. Coquiere, J. Bos, J. Beld, G. Roelfes, *Angew. Chem.* 2009, 121, 5261.
- 15) P. Fournier, R. Fiammengio, A. Jäschke, *Angew. Chem.* 2009, 121, 4490.
- 16) S. Burge, G. N. Parkinson, P. Hazel, A. K. Todd, S. Neidle, *Nucl. Acids Res.* 2006, 34, 5402.
- 17) D. J. Patel, A. T. Phan, V. Kuryavyi, *Nucl. Acids Res.* 2007, 35, 7429.
- 18) G. Jeschke, Y. Polyhach, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2007, 9, 1895.
- 19) V. Singh, M. Azarkh, T. E. Exner, J. S. Hartig, M. Drescher, *Angew. Chem.* 2009, 121, 9908–9910.

Literatur

- 1) A. Hayrapetyan, H. Grosjean, M. Helm, *Biol. Chem.* 2009, 390, 851.
- 2) R. Hänsel, S. Foldynova-Trantarkova, F. Löhr, J. Buck, E. Bongartz, E. Bamberg, H. Schwalbe, V. Doetsch, L. Trantirek, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 15761.
- 3) G. Mayer, *Angew. Chem.* 2009, 121, 2710.
- 4) M. S. L. Raddatz, A. Dolf, P. Knolle, E. Endl, M. Famulok, G. Mayer, *Angew. Chem.* 2008, 120, 5268.
- 5) J. Müller, B. Isermann, C. Dücker, M. Salehi, M. Meyer, M. Friedrich, T. Madhusudhan, J. Oldenburg, G. Mayer, B. Pöttsch, *Chem. Biol.* 2009, 16, 442.
- 6) M. Simonovič, T. A. Steitz, *Biochim. Biophys. Acta* 2009, 1789, 612.
- 7) M. T. Schmeing, V. Ramakrishnan, *Nature* 2009, 461, 1234.

Künstliche Enzyme für die Industrie

◆ Die industrielle Biotechnik gewinnt in der chemischen Industrie an Bedeutung, da sie biogene, nachwachsende Rohstoffe in Grund- und Feinchemikalien umwandelt und so hilft, den Anteil petrochemischer Rohstoffe zu reduzieren.¹⁾ Ob in fermentativen Prozessen, die mehrstufige Umwandlungen innerhalb eines Mikroorganismus und damit innerhalb eines Reaktionsschritts erreichen, oder beim Einsatz einzelner isolierter Biokatalysatoren – immer stehen Enzyme und enzymatische Reaktionen im Mittelpunkt. Die bekannten, natürlichen Enzyme genügen oft den Prozessanforderungen oder neu geforderten chemischen Reaktionen nicht. Damit steigt der Bedarf an technischen Enzymen mit neuen Eigenschaften.

Der Bedarf lässt sich durch das Ausschöpfen des natürlichen Reservoirs mit immer effizienteren Methoden zwar teilweise decken, z. B. durch hochparallele Pyrosequenzierung oder durch die Metagenomik. Wichtiger noch ist jedoch die Möglichkeit, Enzyme durch Design zu verändern und so zu neuartigen, künstlichen Enzymen zu gelangen, die einen breiten Einsatz biotechnischer Verfahren in der chemischen Industrie erlauben. Die gerichtete Evolution ist dabei das auch in nächster Zukunft wichtigste Werkzeug im Enzymengineering. Die verschiedensten molekularbiologischen Methoden erzeugen hier zufällig sehr viele Enzymvarianten und überprüfen sie anschließend auf Zieleigenschaften. Durch Wiederholung dieses Prozesses aus Variation und Selektion gelangt man in der Regel schnell und effizient zu optimierten technischen Enzymen.

Evolutives und rationales Design wachsen zusammen

◆ Die einzelnen Schritte in diesem Prozess wurden und werden kontinuierlich weiter verbessert. So unterstützen mit steigender Rechen-

leistung zunehmend informativere Algorithmen und strukturbasierte Modellierung die Erzeugung von Enzybibliotheken. Ein erfolgreiches Beispiel dafür ist der Schema-Algorithmus zur Herstellung von chimären Proteinen. Die Rekombination von Enzymen mit hoher Sequenzhomologie ist eine effiziente Methode, Enzybibliotheken herzustellen. Sie scheitert aber bei zu geringer Homologie. Der Schema-Algorithmus ermöglicht eine sequenzunabhängige, strukturgeführte Rekombination. Dabei werden Sequenzen strukturell verwandter Proteine in Elemente (die Schemas) unterteilt, die miteinander rekombiniert die Integrität der Gesamtstruktur nur geringfügig beeinträchtigen sollen.²⁾ Der Schema-Algorithmus ermittelt somit diejenigen Schnittpunkte, an denen eine Rekombination sinnvoll ist. Mit diesem System war es z. B. möglich, durch Rekombination von drei bakteriellen Ausgangsvarianten eine Bibliothek von Cytochrom-P450-Monooxygenasen herzustellen, die Varianten mit neuen Substratspezifitäten enthält.³⁾ In einem anderen Ansatz wurden mit dieser Methode deutlich stabilere Cellobiohydrolasen ebenfalls aus einer Bibliothek identifiziert, die

aus drei Ausgangsvarianten hergestellt wurde.⁴⁾

Ein anderes Beispiel für den Einsatz von Rechenleistung beim Design von Enzymen für unnatürliche Reaktionen sind Algorithmen, die ursprünglich zur Vorhersage der 3-D-Struktur unbekannter Aminosäuresequenzen entwickelt wurden.⁵⁾ Damit gelang es, Proteinsequenzen zu identifizieren, deren Struktur einen Übergangszustand für eine Kemp-Eliminierung eines Benzisoxazols zu dem entsprechenden Salicylonitril bindet. Diese Reaktion hat an sich nur geringe industrielle Relevanz, sie kann aber als Modell für die Protonabstraktion von einer C-H-Bindung dienen, die etwa bei der Dehydratisierung von Kohlenhydraten von großem Interesse ist. Wie bei den frühen Versuchen mit katalytischen Antikörpern, die auf Basis der Bindung von Analoga des Übergangszustands entwickelt wurden, hatten auch hier die besten Varianten eine zwar messbare aber nur geringe Aktivität mit niedriger Umsatzrate. Durch gerichtete Evolution ließ sich eine Variante soweit verbessern, dass diese die gewünschte Reaktion mehr als millionenfach beschleunigt und eine für ein Enzym passable katalytische Effizienz von $2600 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ aufweist.⁶⁾

Hoher Durchsatz erfordert Miniaturisierung

◆ Auch Screening und Selektion bleiben wichtige Entwicklungsfelder. Vielversprechende Ansätze gab es hier vor allem in Richtung Miniaturisierung und Kompartimentierung, insbesondere zur Analyse und Selektion einzelner Zellen. Seit Jahren etabliert ist die Auslese von Enzybibliotheken mit fluoreszenzaktivierter Zellsortierung (fluorescence activated cell sorting, FACS). Diese beschränkt sich jedoch auf intrazelluläre Enzyme und Reaktionen und wird durch limitierten Stofftransport über die Zellmembran beeinträchtigt.

Ein neuer Ansatz exprimiert die zu optimierenden Enzyme auf der Oberfläche von *Escherichia coli* und verbindet die zu analysierende enzymatische Reaktion (z. B. Esterasen) mit einer kovalenten Kopplung des Produkts mit der Zelloberfläche.⁷⁾ Die Kopplung erfolgt über eine durch Peroxidasen katalysierte Radikalbildung und ist auf Reaktionen beschränkt, die Aromaten oder H_2O_2 bilden (Abbildung 1).

Allgemeiner einsetzbar, aber technisch aufwendiger sind Verfahren, bei denen Zellen mit Enzybibliotheken in Mikroemulsionen eingeschlossen werden. Ein Beispiel hierfür ist die mikrofluidische Methode der fluoreszenzaktivierten Tropfensortierung (fluorescence activated droplet sorting, FADS).⁸⁾ Dabei werden Zellen in Tropfen mit einer Größe von etwa 12 pL eingeschlossen und in situ lysiert, so dass die freigesetzten Enzyme barrierefrei mit extern zugegebenen Substraten reagieren können. Damit werden nicht nur mehrstufige enzymatische Reaktionen rekonstituierbar, sondern es können auch Reaktionen mit extern zugeführten homogenen Katalysatoren kombiniert und in miniature ganze Prozesse nachgestellt werden. Mikrofluidische Chips sortieren die aktiven Tropfen durch Dielektrophorese mit Geschwindigkeiten von bis zu 300 Tropfen pro Sekunde. Noch gibt es keine Publikation, die dem Einsatz dieser Methode für eine erfolgreiche

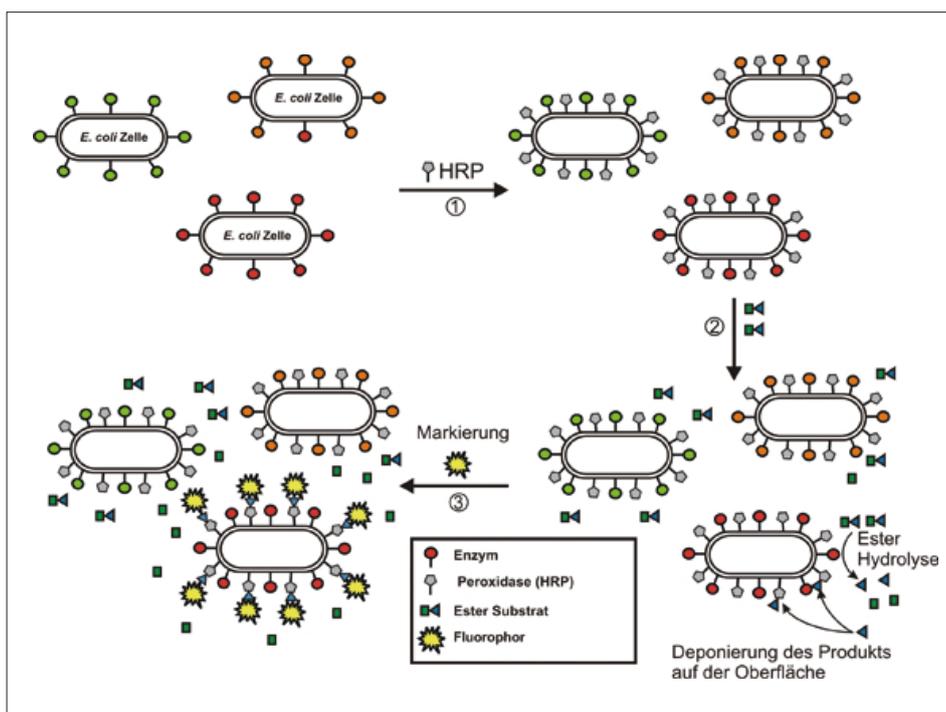


Abb. 1. Konzept der enzymkatalysierten Kopplung eines Markermoleküls auf der Oberfläche von *E. coli*.

Enzymoptimierung beschreibt, es lohnt sich aber, diese Entwicklung weiter zu verfolgen.

Enzyme für eine grüne Industrie

◆ Die wichtigsten etablierten Märkte für industriell angewandte und mit Enzymengineering optimierte Enzyme sind nach wie vor die Lebens- und Futtermittelindustrie, Waschmittel sowie die Textil- und Papierverarbeitung. Hydrolasen, insbesondere Proteasen, Amylasen, Lipasen, Phosphatasen, Cellulasen und Hemicellulasen, dominieren diese Anwendungen.

Bei den Futtermittelenzymen macht insbesondere das Beispiel der Phytase neue Entwicklungen deutlich.⁹⁾ Durch den Zusatz von Phytasen zu Futtermitteln lassen sich die Phosphatzugabe und damit die Phosphatmissionen bei intensiver Tierhaltung erheblich reduzieren. Über viele Jahre wurden hierfür Enzyme aus Pilzen eingesetzt. Ein herausragendes Beispiel für das Engineering pilzlicher Enzyme zu höherer Thermostabilität ist der von den Autoren so genannte Consensus-Ansatz: Dabei wurde durch Homologievergleich eine artifizielle Phytase mit einer um mehr als 20K gesteigerten Thermostabilität generiert, die anschließend durch Mutagenese weiter verbessert wurde.¹⁰⁾ Neuere Arbeiten zur Optimierung von pilzlichen Phytasen verwenden verstärkt Strukturinfor-

mationen zur Erzeugung von chimären Molekülen. Beispielsweise ließen sich Eigenschaften aus zwei strukturell verschiedenen *Aspergillus*-Phytasen modular kombinieren, indem die Proteine anhand Strukturinformationen in sieben Fragmente unterteilt und diese Fragmente miteinander kombiniert wurden.¹¹⁾

Aber auch bakterielle Phytasen wurden durch moderne Expressionssysteme und Screeningmethoden in jüngerer Zeit industriell nutzbar. Beispielsweise wurden Phytasen aus *E. coli*,¹²⁾ aus *Citrobacter sp.*¹³⁾ und aus *Buttaxiella sp.*¹⁴⁾ sowohl bakteriell als auch in Hefen und filamentösen Pilzen mit hoher Ausbeute exprimiert. Varianten der *Buttaxiella*-Phytase, die durch screeningbasierte gerichtete Evolution hergestellt wurden, zeigen eine hohe Aktivität verbunden mit einer Thermo- und Proteasestabilität.¹⁴⁾ Einzelne, optimierte Varianten enthalten dabei zwölf und mehr Aminosäureaustausche. Daraus wird deutlich, dass sich mit modernen und effizienten Methoden der gerichteten Evolution inzwischen sehr große Distanzen im Sequenzfunktionsraum überbrücken lassen.

Bioraffinerie: Grundchemikalien aus nachwachsenden Rohstoffen

◆ Enzyme sind für Anwendungen in Bioraffineriekonzepten eine besonders interessante Alternative zu chemischen Katalysatoren, da sie Kom-

ponenten selektiv umsetzen (Abbildung 2). So lassen sich durch selektive, enzymatische Depolymerisierung von Biomasse Stoffströme erzeugen, in denen einzelne Komponenten stark angereichert vorliegen.¹⁵⁾ Auf diese Weise können kostenintensive Reinigungsprozesse einzelner Substanzen drastisch reduziert werden.

Die enzymatische Hydrolyse der Cellulose zu Glukose ist dabei einer der wichtigsten Schritte. Im Vergleich zur relativ einfach zu erreichenden Hydrolyse von Stärke mit Amylasen ist für den Abbau der Cellulose mit Cellulasen derzeit immer noch die 40- bis 100-fache Menge an Enzymen notwendig.¹⁶⁾ Aktivere Enzymsysteme für die Verzuckerung der Cellulose zu entwickeln, ist daher eine wesentliche Aufgabe. Verschiedene Ansätze werden dabei einzeln oder kombiniert verfolgt. Zum Celluloseabbau sind vor allem drei Enzyme notwendig: Endoglucanase, die Celluloseketten intern spaltet, Exocellulase und Cellobiohydrolasen (CBH, Abbildung 3), die vom reduzierenden Ende kommend Cellobiose von den Celluloseketten abspalten und β -Glucosidase (BGL), die letztere in Glukose hydrolysiert.

Ein Ansatz ist es, neue Cellulasen zu entwickeln, die deutlich temperaturstabiler sind, um dadurch die Hydrolyse durch höhere Temperaturen zu beschleunigen. Während Amylasen mit optimaler Aktivität von weit über

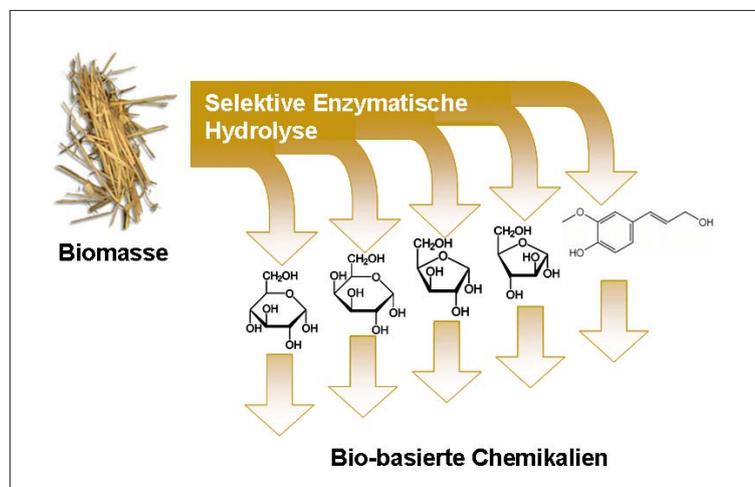


Abb. 2. Konzept der selektiven enzymatischen Hydrolyse (SEH) zur stofflichen Verwertung von Biomasse.

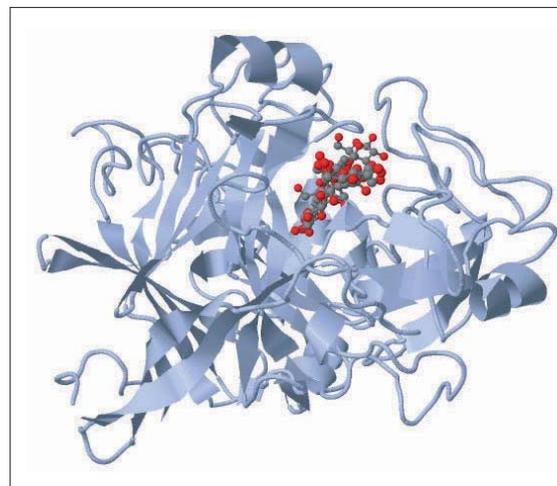


Abb. 3. Strukturmodell der katalytischen Untereinheit von Cellulasen der GH7-Familie. Zu erkennen ist die Tasche, in der ein einzelner Cellulosestrang gebunden und gespalten wird.

100°C beschrieben sind, gibt es keine Cellulasen mit nur annähernd ähnlich hoher Temperaturstabilität, die kristalline Cellulose abbauen können. Mit der oben beschriebenen Schema-Variante war es möglich, CBH-Varianten zu erzeugen, die eine 30-fach höhere Halbwertszeit bei 63°C haben.¹⁷⁾

Ein ungelöstes Problem der Cellulosehydrolyse ist beispielsweise die hohe Produktinhibierung der CBH- und BGL-Aktivitäten durch Cellobiose und Glukose.

Enzyme ermöglichen hochselektive Zuckerfolgechemie

◆ Eine Alternative zu Hydrolasen sind Phosphorylasen, da diese die direkte Bildung von phosphorylierten Intermediaten ermöglichen. Durch gerichtete Evolution ließ sich beispielsweise die Aktivität zur Spaltung von Lactose in einer Phosphorylase aus *Cellulomonas uda* deutlich steigern.¹⁸⁾ Das optimierte Enzym enthält zwei Aminosäureaustausche. Mit permeabilisierten, das optimierte Enzym intrazellulär exprimierenden *E.-coli*-Zellen wurde so erfolgreich α -D-Galactose-1-phosphat aus Lactose hergestellt.¹⁹⁾

Kohlenhydrate wie Glukose, aber auch Glycerin sind die mit Abstand häufigsten biogenen Moleküle. Für ihre Verwendung in der Industrie ist es notwendig, die Anzahl ihrer funktionellen Gruppen zu reduzieren, beispielsweise durch Dehydratisierung. Dies ist mit klassischer Säurekatalyse bei hohen Temperaturen möglich, allerdings entstehen dabei zahlreiche Nebenprodukte. Dehydratasen bieten hier eine hochselektive Alternative. Allerdings sind diese meist über radikalische Mechanismen arbeitenden und Cofaktoren wie Cobalamin enthaltenden Enzyme in der Regel nicht stabil genug. Mit gerichteter Evolution lassen sich diese Enzyme stabilisieren und aktivieren. Sättigungsmutagenese an zwei Positionen der Glyceroldehydratase von *K. pneumoniae* stabilisiert dieses Enzym beispielsweise fast um das Zehnfache.²⁰⁾ Wie in vielen anderen Fällen bereits festgestellt, liegen auch hier die modifizierten Aminosäurereste in deutlicher

Entfernung zum aktiven Zentrum, was den Vorteil der ortsungerichteten Mutagenese unterstreicht.

Außen Enzym, innen Fermenter

◆ Eine interessante weitere Entwicklung ist die Expression von Enzymen auf der Oberfläche von Zellen. Beispielsweise ließ sich in jüngster Zeit durch Expression der *Candida-antarctica*-Lipase B auf der Oberfläche von Hefezellen ein Ganzzellbiokatalysator generieren, den man zur Herstellung von Polyestern mit geringer Nebenproduktbildung einsetzen könnte.²¹⁾ Systeme zur Oberflächenexpression von Enzymen werden vor allem dann interessant, wenn sie mit den fermentativen Aktivitäten der Zellen kombinierbar sind. Beispielsweise wurde durch Expression einer Glucoamylase aus *Aspergillus* auf der Oberfläche von *Saccharomyces cerevisiae* ein Hefestamm erzeugt, der Ethanol direkt aus verflüssigter Stärke produziert.²²⁾ Das Prinzip der Hydrolyse von Cellulose durch Oberflächenenzyme und anschließende Aufnahme der entstehenden Monomere nutzt natürlicherweise eine Reihe von Mikroorganismen. Besonders weit verbreitet ist die Expression eines Cellulose spaltenden Enzymkomplexes, des Cellulosoms, in Clostridien. Analog wurden Cellulasen auf der Oberfläche von Hefezellen exprimiert, beispielsweise eine Beta-Glucosidase und eine Endoglucanase aus *Aspergillus* auf der Oberfläche von *S. cerevisiae*. So ließen sich Hefezellen generieren, die Betaglucane zu Ethanol fermentieren.²³⁾ In jüngeren Arbeiten wurden analog Komponenten des Cellulosoms aus verschiedenen anaeroben Clostridien auf der Oberfläche von *S. cerevisiae* exprimiert.^{24,25)}

Metalloenzyme mit Zukunft?

◆ Die homogene Katalyse mit Metallkomplexen wie denen des Rutheniums oder Wolframs bilden die Grundlage für viele industrielle Prozesse. So hat etwa die Metathese von Fettsäuren großes Potential für die

Herstellung von bifunktionellen Monomeren. Sie beruht auf der katalytischen Eigenschaft von Ruthenium und anderen Übergangsmetallen, in Komplexen zwei C-C-Doppelbindungen umzugruppieren. Leider sind diese Reaktionen sehr unspezifisch und es entsteht eine große Zahl an Produkten.

Die hohe Spezifität enzymkatalysierter Reaktionen mit der Reaktivität von Übergangsmetallkomplexen zu verbinden, ist ein naheliegender, aber schwieriger Ansatz. Derartige künstliche Metalloenzyme sind seit nahezu 20 Jahren Objekt der Forschung und unterschiedliche Proteinscaffolds wurden für die direkte (Subtilisin, Zn-Finger-Proteine) oder indirekte (Häm-Proteine) Bindung von Übergangsmetallionen und -komplexen untersucht.²⁶⁾ Auch wenn die Fortschritte in den letzten Jahren hier enorm sind, stehen industriell einsetzbare Enzyme hier noch aus.

Ulrich Ketting leitet seit dem Jahr 2007 die Bereiche Biorefinery und Molekulare Biotechnologie in der zentralen Forschung der Süd-Chemie in München. Er studierte Biotechnologie an der TU Braunschweig und promovierte 1999 am MPI für Biophysikalische Chemie in Göttingen. Ketting ist Mitgründer der Direvo Biotech, einem auf das Engineering von Enzymen spezialisierten Unternehmen, für das er bis 2006 als Forschungsvorstand tätig war. ulrich.ketting@sud-chemie.com



Volker Sieber, Jahrgang 1970, ist seit Dezember 2008 Leiter des Lehrstuhls für Chemie Biogener Rohstoffe an der TU München. Er studierte Chemie an der Universität Bayreuth und der University of Delaware und promovierte 1998 in Biochemie. Nach einem Forschungsaufenthalt am Caltech arbeitete er acht Jahre bei der Degussa und der Süd-Chemie an enzymatischen und chemischen Verfahren für die Umwandlung biogener Rohstoffe. sieber@tum.de



Literatur

- 1) T. Haas, A. Skerra, Nachr. Chemie. 2008, 56, 1028.
- 2) G. Saab-Rincon, Y. Li, M. Meyer, M. Carbone, M. Landwehr, F. H. Arnold, Protein Engineering Handbook [Hrsg. S. Lutz, U. T. Bornscheuer], Wiley-VCH, Weinheim, 2009.
- 3) M. Landwehr, M. Carbone, C. R. Otey, Y. G. Li, F. H. Arnold, Chem. & Biol. 2007, 14, 269.

- 4) P. Heinzelman, C. D. Snow, M. A. Smith, X. L. Yu, A. Kannan, K. Boulware, A. Villalobos, S. Govindarajan, J. Minshull, F. H. Arnold, *J. Biol. Chem.* 2009, 284, 26229.
- 5) A. Zanghellini, L. Jiang, A. M. Wollacott, G. Cheng, J. Meiler, E. A. Althoff, D. Rothlisberger, D. Baker, *Protein Sc.* 2006, 15, 2785.
- 6) D. Rothlisberger, O. Khersonsky, A. M. Wollacott, L. Jiang, J. DeChancie, J. Betker, J. L. Gallaher, E. A. Althoff, A. Zanghellini, O. Dym, S. Albeck, K. N. Houk, D. S. Tawfik, D. Baker, *Nature* 2008, 453, 190.
- 7) S. Becker, A. Michalczyk, S. Wilhelm, K. E. Jaeger, H. Kolmar, *ChemBioChem* 2007, 8, 943.
- 8) J. C. Baret, O. J. Miller, V. Taly, M. Ryckelynck, A. El-Harrak, L. Frenz, C. Rick, M. L. Samuels, J. B. Hutchison, J. J. Agresti, D. R. Link, D. A. Weitz, A. D. Griffiths, *Lab Chip*. 2009, 9, 1850.
- 9) D. E. Rao, K. V. Rao, T. P. Reddy, V. D. Reddy, *Crit. Rev. Biotechnol.* 2009, 29, 182.
- 10) M. Lehmann, L. Pasamontes, S. F. Lassen, M. Wyss, *Biochim. Biophys. Acta.* 2000, 1543, 408.
- 11) J. Bei, Z. Chen, J. Fu, Z. Jiang, J. Wang, X. Wang, *J. Biotechnol.* 2009, 139, 186.
- 12) M. S. Kim, J. D. Weaver, X. G. Lei, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 79, 751.
- 13) Y. O. Kim, H. W. Kim, J. H. Lee, K. K. Kim, S. J. Lee, *Biotechnol. Lett.* 2006, 28, 33.
- 14) M. A. Cervin, O. Kensch, U. Kettling, S. Kim, B. Leuthner, A. Miasnikov, K. Pellengahr, M. Ward, WO2008097619, 2008.
- 15) A. Koltermann, U. Kettling, T. Brueck, M. Rarbach, WO2008113585, 2008.
- 16) F. Wen, N. U. Nair, H. M. Zhao, *Curr. Op. Biotech.* 2009, 20, 412.
- 17) P. Heinzelman, C. D. Snow, I. Wu, C. Nguyen, A. Villalobos, S. Govindarajan, J. Minshull, F. H. Arnold, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009, 106, 5610.
- 18) M. R. De Groeve, M. De Baere, L. Hoflack, T. Desmet, E. J. Vandamme, W. Soetaert, *Protein Eng. Des. Sel.* 2009, 22, 393.
- 19) M. R. De Groeve, V. Depreitere, T. Desmet, W. Soetaert, *Biotechnol. Lett.* 2009, 31, 1873.
- 20) X. H. Qi, Y. L. Chen, K. Jiang, W. P. Zuo, Z. F. Luo, Y. T. Wei, L. Q. Du, H. Wei, R. B. Huang, Q. S. Du, *J. Biotech.* 2009, 144, 43.
- 21) T. Tanino, T. Aoki, W. Y. Chung, Y. Watanabe, C. Ogino, H. Fukuda, A. Kondo, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009, 82, 59.
- 22) A. Kotaka, H. Sahara, Y. Hata, Y. Abe, A. Kondo, M. Kato-Murai, K. Kuroda, M. Ueda, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2008, 72, 1376.
- 23) A. Kotaka, H. Bando, M. Kaya, M. Kato-Murai, K. Kuroda, H. Sahara, Y. Hata, A. Kondo, M. Ueda, *J. Biosci. Bioeng.* 2008, 105, 622.
- 24) S. L. Tsai, J. Oh, S. Singh, R. Chen, W. Chen, *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, 75, 6087.
- 25) M. Lilly, H. P. Fierobe, W. H. van Zyl, H. Volschenk, *FEMS Yeast Res.* 2009, 9, 1236.
- 26) Y. Lu, N. Yeung, N. Sieracki, N. M. Marshall, *Nature* 2009, 460, 855.
- 27) A. F. A. Peacock, J. A. Stuckey, V. L. Pecoraro, *Angew. Chem.* 2009, 121, 7507.

GDCh

GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

Mitglied in einem lebendigen Netzwerk werden!



Über 28.000 Mitglieder machen aus der Gesellschaft Deutscher Chemiker eine starke und dynamische Wissenschaftsorganisation.

Werden Sie Mitglied und profitieren Sie von einer Fachgesellschaft, die sich durch umfassende Leistungen, hohe Netzwerkaktivitäten und beständiges Wachstum auszeichnet!

Kontakt:

Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V
 Mitgliederservice Telefon: +49 69 7917-334/-335/-372
 Postfach 90 04 40 Fax: +49 69 7917-374
 60444 Frankfurt am Main E-Mail: ms@gdch.de

www.gdch.de