

**Strain and process engineering to exploit solvent tolerance
mechanisms of *Pseudomonas taiwanensis* VLB120 for
asymmetric styrene epoxidation**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

Dr.-Ing.

von der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen

der Technischen Universität Dortmund

genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. Jan Volmer

aus

Borken

Tag der mündlichen Prüfung: 18.01.2016

1. Gutachter: Prof. Dr. Andreas Schmid
2. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Rolf Wichmann

Dortmund 2016

Chemical Biotechnology
Prof. Dr. Andreas Schmid (ed.)

Jan Volmer

**Strain and process engineering to exploit solvent
tolerance mechanisms of *Pseudomonas taiwanensis*
VLB120 for asymmetric styrene epoxidation**

Volume 23

D 290 (Diss. Technische Universität Dortmund)

Shaker Verlag
Aachen 2016

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.d-nb.de>.

Zugl.: Dortmund, Technische Univ., Diss., 2016

Copyright Shaker Verlag 2016

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-4302-0

ISSN 1868-0283

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Andreas Schmid dafür bedanken, dass er mir die Möglichkeit gab, diese Arbeit am Lehrstuhl für Biotechnologie an der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen der TU Dortmund anzufertigen. Seine Visionen und Ideen, sowie der mir gewährte wissenschaftliche Freiraum haben den Grundstein für diese Arbeit gelegt.

Herrn Prof. Rolf Wichmann danke ich für die Bereitschaft, das Zweitgutachten dieser Arbeit zu übernehmen, und für die hilfreichen Kommentare und Korrekturen. Bei Herrn Prof. Arno Behr und Herrn Prof. Gerhard Schembecker bedanke ich mich für die Abnahme meiner Promotionsprüfung.

Ganz besonderer Dank gebührt meinem Betreuer und Gruppenleiter Prof. Bruno Bühler, der jederzeit bereit war, wissenschaftliche Fragestellungen jeglicher Art mit seiner Expertise zu analysieren und zu diskutieren. Insbesondere bei der schriftlichen Ausarbeitung dieser Arbeit half er mit vielen hilfreichen Kommentaren und Korrekturen.

Den von mir betreuten Studenten Christoph N., Christina W. und Timo L. danke ich für die wissenschaftlichen Erkenntnisse, die sie im Rahmen ihrer Diplom-, Master-, und Bachelorarbeiten erbracht haben.

Bei meinen Kollegen Martin L. und Karsten L. bedanke ich mich für die sehr gute und freundschaftliche Zusammenarbeit und den vielfältigen Ideen-, aber auch Frust austausch, während und nach der eigentlichen Arbeit.

Für die sehr angenehme Arbeitsatmosphäre in der finalen Bearbeitungsphase möchte ich den in Dortmund gebliebenen BT-Mitgliedern Karolin S., Katrin R., Kerstin L., Mattijs J., Michael H., Patty K., Sabine V. und Verena O. herzlichst danken. Bessere Bedingungen zur Fertigstellung dieser Arbeit kann ich mir nicht vorstellen. Natürlich war es aber auch die einzigartige Gruppendynamik über den gesamten Zeitraum dieser Dissertation, die für eine sehr gute Stimmung gesorgt und damit maßgeblich die Motivation hochgehalten hat. Vielen Dank dafür an: Anja K., Babu H., Bartłomiej T., Birgitta E., Christian D., Christian D., Christian W., Daniel K., Eleni T., Francesco F., Frank E., Frederick F., Hendrik K., Jan H., Jana R., Jianan F., Jochen L., Jonathan C., Kamila K., Katja B., Kirsten K., Lars B., Linde D., Manfred S., Marcel G., Marvin K., Nadine L., Oliver F., Özde Ü., Rainer G., Rohan K., Sjeff C. und Suresh S.. Besonders hervorzuheben sind hier auf jeden Fall Christine W. und Stefanie H., die jederzeit

ihre Hilfe in administrativen Angelegenheiten angeboten und mir so den Rücken freigehalten haben.

Allen Mitgliedern des ERA-IB Projektes "Pseudomonas 2.0" danke ich für die sehr produktiven und interessanten Projekttreffen an den verschiedensten Orten Europas und für ihren wissenschaftlichen Input zu dieser Arbeit.

Gefördert wurde diese Arbeit durch ein Promotionsstipendium des CLIB2021-Graduiertenclusters, dem ich für die finanzielle Unterstützung und die Möglichkeit vielfältige Kontakte zu knüpfen danken möchte.

Der größte Dank gebührt natürlich meiner Familie, die mich sowohl während meines Studiums, als auch während der Promotion, jederzeit in jeglicher Hinsicht unterstützt hat. Neben meinen Eltern und Geschwistern ist hier besonders meine Frau Rabea hervorzuheben, die mir insbesondere in schwierigen Phasen immer starken Rückhalt gegeben hat. Vielen Dank dafür!

Table of contents

Danksagung	I
Table of contents	III
Summary	V
Zusammenfassung	VII
List of abbreviations	IX
Chapter 1: General introduction	1
Chapter 2: Evaluation of solvent tolerance and adaptability of <i>P. taiwanensis</i> VLB120 for efficient conversion of cyclohexane to cyclohexanol	25
Chapter 3: Engineering of <i>P. taiwanensis</i> VLB120 for constitutive solvent tolerance and increased specific styrene epoxidation activity	55
Chapter 4: Constitutively solvent-tolerant <i>P. taiwanensis</i> VLB120 Δ C Δ ttgV shows particularly high styrene epoxidation activities in two-liquid phase biotransformations	79
Chapter 5: The application of <i>P. taiwanensis</i> VLB120 Δ C Δ ttgV allows a reduction of the amount of solvents in two-liquid phase biotransformations	111
Chapter 6: Solvent tolerance of <i>P. taiwanensis</i> VLB120 is highly dependent on glucose dehydrogenase activity	133
Chapter 7: General discussion	159
Chapter 8: Conclusion & Outlook	185
Chapter 9: Appendix	195
Chapter 10: References	205
Curriculum vitae	227