

Scientific Paper:

Biokatalyse transkript Sonderband 2003

Mikrotiterplatten-Reaktoren mit integrierten pH-Sensoren und Autodisplay in *E. coli* zur evolutiven Enzymentwicklung

Prof. Dr. Elmar Heinzle¹, staatl. gepr. LMChem. Svenja Weiß¹, Prof. Dr. Otto Wolfbeis², Dipl. Chem. Sarina Arain², Prof. Dr. Ingo Klimant³, Dr. Gernot John⁴, Dr. Christian Krause⁴, Dr. Thomas Rübiger⁵, Günther Müller⁶, Dr. Harald Waltenberger⁶, Dr. Joachim Jose⁷, Dipl.-Biol. Eva Schultheiss⁷

¹Technische Biochemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken

²Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg

³Institut für Analytische Chemie, Mikro- und Radiochemie, TU Graz,

⁴Presens GmbH, Regensburg,

⁵BMG Labtechnologies GmbH, Offenburg

⁶MicroCoat Biotechnologie GmbH, Bernried,

⁷Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken

Abstract:

Ein limitierender Schritt zur Ausschöpfung des enormen biokatalytischen Potenzials ist das quantitative Screening von Biokatalysatoren. In diesem Projekt wurden parallel neue Methoden zum Autodisplay von Enzymen in *E. coli* und zum quantitativen Screening Säure-umsetzender Enzyme in Mikrotiterplatten erarbeitet. Es wurden 96-Well Mikrotiterplatten mit integrierten optischen Sensoren entwickelt, die über einen pH-unempfindlichen Referenzfarbstoff verfügen, weitgehend kalibrierfrei sind, auch in Flüssigkeiten mit Eigenfluoreszenz einsetzbar sind und mit denen in konventionellen Readern gemessen werden kann. Dazu mussten jeweils geeignete Beschichtungstechniken für Platten mit Rund- und Flachboden entwickelt werden. Mit diesen Mikrotiterplatten-Reaktoren wurden zunächst Mischungsstudien durchgeführt, wobei festgestellt wurde, dass je nach den eingestellten Parametern Mischzeiten von unterhalb einer Sekunde bis mehrere Minuten resultieren. Geeignete Bilanzierungsmethoden wurden entwickelt und implementiert. Damit konnten bei geeigneter Pufferung die kinetischen Parameter von Esterasen bestimmt werden. Unter Einsatz eines Autodisplay-Systems in *E. coli* wurde eine neue Esterase entwickelt, welche derzeit evolutiv verbessert wird.

Key-words: 96-Well-Mikrotiterplatten-Reaktoren, pH-Optosensor, mischen, Autodisplay, evolutive Enzymentwicklung, Esterase