

Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf 40204 Düsseldorf
Dekanat der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

An alle
hauptamtlichen Professoren/innen
und Privatdozenten/innen
des Faches Biologie der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Mathematisch-
Naturwissenschaftliche
Fakultät

Dekanat

Promotionsangelegenheiten

Universitätsstraße 1
40225 Düsseldorf
Telefon: +49 (0)211 81 15092
E-Mail: promotionmnf@hhu.de

26.04.2024

Promotionsverfahren von **Frau M.Sc. Luzie Kruse**
Auslage der Dissertation und Gutachten sowie Termin der mündlichen Prüfung
Anlage: Einseitige Zusammenfassung der Dissertation

Sehr geehrte Damen und Herren,

in dem oben genannten Promotionsverfahren wird die Annahme der Dissertation

***Halopseudomonas* spp. - Etablierung molekularbiologischer Methoden und Untersuchung der
Stresstoleranz einer neuen Bakteriengattung**

von den Berichterstattenden Prof. Dr. K.-E. Jaeger und Prof. Dr. N. Wierckx beantragt. Sie kann zusammen
mit den Gutachten in der Zeit

vom 09.05.2024 bis 20.05.2024

eingesehen werden. Bitte wenden Sie sich zur Einsicht an das Promotionsbüro (promotionmnf@hhu.de).

Einsprüche gegen diese Dissertation können nur zwei Tage nach der vorgenannten Frist
geltend gemacht werden. Erfolgt kein Einspruch, so gilt die Dissertation als angenommen
(§ 7 Ziffer (5) PO).

Sofern die Dissertation angenommen wird, findet die mündliche Prüfung am

23.05.2024 um 14:00 Uhr

im **Raum 26.24.U1.014** statt. Als Prüferinnen bzw. Prüfer sind vorgesehen:
Prof. Dr. T. Drepper, Prof. Dr. S. Smits und Prof. Dr. I. Axmann.

Die Öffentlichkeit ist bei der Befragung nicht zugelassen.

Mit freundlichen Grüßen
im Auftrag

Amina Diekmann

Zusammenfassung Inaugural-Dissertation

Die Gattung *Halopseudomonas* bildet eine einzigartige phylogenetische Gruppe im Stammbaum der *Pseudomonadaceae*, wovon die meisten Vertreter erst innerhalb des letzten Jahrzehnts isoliert wurden. Obwohl sie ein vergleichsweise kleines Genom haben, was auf eine limitierte metabolische Flexibilität hindeuten könnte, gelten sie als eurytherm und euryhalin. Zudem leben sie natürlicherweise in extremen Habitaten, wie der Tiefsee oder mit Öl-, bzw. Schwermetallen-kontaminierten Böden. Mehrere Vertreter der Gattung wurden bereits mit dem Abbau anthropogener Substanzen in der Umwelt in Verbindung gebracht. Aufgrund dieser Eigenschaften stellen die *Halopseudomonas*-Arten vielversprechende Kandidaten für biotechnologische Anwendungen dar, für die in dieser Arbeit die Grundlagen für die Erforschung und Anwendung bereitgestellt wurden.

Um diese Gattung näher zu untersuchen, wurden in dieser Arbeit stellvertretend vier Kandidatenstämme aus unterschiedlichen Habitaten (Öl- oder Schwermetall-kontaminierte Böden, Gezeitenzone oder Tiefsee) ausgewählt: *H. aestusnigri* VGXO14, *H. bauzanensis* BZ93, *H. litoralis* 2SM5 und *H. oceani* KX20. Als Grundvoraussetzung der mikrobiologischen Zugänglichkeit wurden geeignete Kultivierungsmethoden in Komplex- und Minimalmedien identifiziert. Hierbei erwiesen sich kurz- (C_4) und auch langkettige ($> C_6$) Dicarbonsäuren als besonders geeignete Kohlenstoffquellen. Ergänzend zu den Kultivierungsprotokollen wurden verschiedene gentechnische Werkzeuge verwendet. Hierzu zählten unter anderem unterschiedliche Transformationstechniken mit Plasmidsystemen, die divers kompatible Replikationsursprünge trugen. Außerdem ließen sich *via* Tn7-Transposition Geninsertionen in die zwei *attTn7*-Loci von *H. litoralis* realisieren. Zur Steuerung der heterologen Genexpression wurden darüber hinaus konstitutive und induzierbare Promotorsysteme evaluiert. Dabei konnte für das *AraC/P_{BAD}*-System gezeigt werden, dass die Induktion mit einer deutlich geringeren Induktorkonzentration als bei *P. putida* erfolgreich war.

Diese Arbeiten dienten als Grundlage, um die Osmotoleranz der *Halopseudomonas*-Arten nähergehend zu untersuchen. Hierzu wurde zunächst die phänotypische Reaktion der Kulturen bei Zugabe verschiedener Salze getestet. In allen vier ausgewählten *Halopseudomonas* Stämmen konnte erstmals die Produktion von sowohl Ectoin als auch 5-Hydroxyectoin nachgewiesen werden, obwohl das Gen der Ectoinhydroxylase *ectD* nicht in allen Genomen konserviert war. Eine potenziell neue Gruppe von Ectoinhydroxylasen konnte in *H. aestusnigri* und *H. oceani* identifiziert werden, die diese Reaktion stattdessen katalysieren könnten. Mit Hilfe einer gesteigerten Expression von *ectD* konnten die Produktion von 5-Hydroxyectoin in Relation zu Ectoin erhöht und so die Rolle dieses Osmolyts in der Osmotoleranz untersucht werden. Zur Evaluation der salzinduzierten Stressantwort auf Transkriptebene wurden entsprechende Transkriptomstudien in *H. litoralis* durchgeführt., wobei eine zweiphasige Stressantwort beobachtet wurde. In der frühen Phase konnten typische Stressreaktionen, wie eine gesteigerte Expression von Chaperon- und Energiehomöostase-assoziierten Genen beobachtet werden. Darüber hinaus waren Transkripte zur Produktion von mechanosensitiven Kanälen und verschiedener kompatibler Solute hoch abundant, während Transkripte zur Biosynthese von Flagellen niedrige Transkriptlevel aufwiesen. In der späten Phase waren Transkripte hoch abundant, die im Zusammenhang mit der Eisenaufnahme stehen. Daraus folgernd führte die externe Zugabe von Eisensulfat zu einer Regeneration des bakteriellen Wachstums unter osmotischem Stress.

Insgesamt gelang die Etablierung mikrobiologischer Kultivierungskonzepte und molekularbiologischer Methoden von vier ausgewählten *Halopseudomonas*-Arten. Hierbei wurde erstmals die Produktion des biomedizinisch relevanten Ectoins und 5-Hydroxyectoins, sowie eine zweistufige Reaktion bei osmotischem Stress auf Transkriptebene für diese Bakterien nachgewiesen. Zusammenfassend wurde in dieser Arbeit der Grundstein gelegt, um die Gattung *Halopseudomonas* biotechnologisch nutzbar zu machen.