

Control and Model-based Analysis of Microaerobic Processes

using *Rhodospirillum rubrum* as Model Organism

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktoringenieur (Dr.-Ing.)

von

Lisa Carius

geboren am 23. April 1983 in Tuttlingen

genehmigt durch die Fakultät für Elektrotechnik und Informationstechnik der
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Gutachter:

Prof. Dr.-Ing. Rolf Findeisen

Prof. Dr.-Ing. Andreas Kremling

Promotionskolloquium am 19. August 2015

Contributions in Systems Theory and Automatic Control
Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Band 6

Lisa Carius

**Control and Model-based Analysis
of Microaerobic Processes**
using *Rhodospirillum rubrum* as Model Organism

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.: Magdeburg, Univ., Diss., 2015

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 978-3-8440-4406-5

ISSN 2192-2799

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

Abstract

Microaerobic (oxygen-limited) conditions are critical for inducing many important microbial processes in industrial or environmental applications. However, due to technical difficulties the analysis of microaerobic growth and physiology is still underrepresented in current research. At very low oxygen concentrations the process performance often suffers from technical limitations. Available dissolved oxygen measurement techniques are not sensitive enough and thus control techniques and strategies, that can reliably handle these conditions, are lacking.

In this work we aim to settle this problem by employing a combination of experimental and theoretical methods from interdisciplinary areas. By employing elements of system biology, bioengineering and control engineering and the model organism *R.rubrum*, microaerobic process control strategies for batch and continuous cultivations are proposed in this thesis. Since the presented strategies are of minor complexity, employ conventional equipment and are independent of the growth behavior of the culture, they should be useful for the study and industrial application of microaerobic processes in general.

The microaerobic lifestyle of anoxygenic photosynthetic bacteria like *Rhodospirillum rubrum* represents such a process. When oxygen becomes limiting, the cells respond with a differentiation process and synthesise an extensive system of light-capturing intracytoplasmic membranes. These photosynthetic membranes harbor the photosynthetic apparatus which is composed of light-harvesting and reaction center protein complexes and catalyzes light-driven cyclic photophosphorylation for the generation of ATP. The majority of biological interesting products these organisms offer are linked to the expression of these photosynthetic membranes. In fact, it is this ability to produce large amounts of inner photosynthetic membranes under microaerobic conditions that makes *R.rubrum* interesting for industrial application as it allows the formation of photosynthetic membranes and related interesting products in common bioreactors without light.

The first part of this work focuses on the establishment of an experimental set-up for the systematic study of physiological processes which are associated with growth under microaerobic conditions. For this purpose a robust and reliable microaerobic process control strategy is developed, which uses the culture redox potential for assessing different degrees of oxygen limitation in bioreactor cultivations. By applying defined steps in the culture redox potential, growth specific reaction rates that describe the microaerobic growth behaviour of *R.rubrum* are experimentally derived. These rates are then used to obtain information about the metabolic activity and the

process behaviour under microaerobic conditions by means of stationary metabolic network analysis and dynamical modeling of the process behaviour. The metabolic flux analysis provides an insight into the utilisation of certain metabolic pathways which contribute to growth and photosynthetic membrane formation under microaerobic conditions. The dynamical process model is used to study the process dynamics, optimise the experimental conditions and identify properties of the system which are critical for process performance.

Based on the results of these simulation studies an optimal control strategy for the automation of continuous cultures under microaerobic conditions is developed. This process control strategy is build on the culture redox potential dependent control strategy and employs the unstructured process model to reconstruct inaccessible process information and predict the process behavior. The feed-back part of this controller, which compensates model-plant mismatch and exogenous disturbances, relies on a spectroscopic online measurement of the biomass concentration. The presented model-based two-degree-of-freedom control strategy allows to access and maintain every microaerobic steady-state of interest and to precisely and efficiently transfer the culture from one stable microaerobic steady-state into another. This is substantiated by showing that the process control strategies handle various situations that under open-loop conditions lead to a process abort. In the last part of this work we focus on the experimental investigation of the photosynthetic membrane formation in *R.rubrum* by employing the process control strategies developed during this work. The derived experimental results demonstrate that the proposed strategies create an experimental platform which allows the systematic analysis of such complex system biological challenges. The results further emphasis that by means of defined perturbations of continuous cultures, a new quality of process information about intracellular regulatory mechanisms, which are involved in controlling the respective physiological processes, can be derived.

In summary it can be concluded that the proposed control strategies are a valuable tool to study regulatory mechanisms of microaerobic phenomena in response to oxygen limitation and have a high potential for industrial applications of microaerobic growth processes in general.

“In der Wissenschaft gleichen wir alle nur den Kindern, die am Rande des Wissens hie und da einen Kiesel aufheben, während sich der weite Ozean des Unbekannten vor unseren Augen erstreckt”.

Isaac Newton,
englischer Physiker, Mathematiker und Astronom(1643-1727).

Danksagung

Mein Dank gilt,

der Promotionskommission, besonders den beiden Gutachtern Prof. Dr.-Ing. Andreas Kremling und Prof. Dr.-Ing. Rolf Findeisen.

Prof. Dr. Hartmut Grammel für die Betreuung der experimentellen Arbeit.

den Institutionen Otto von Guericke Universität, Max Planck Institut Magdeburg, BMBF und ForSys Initiative.

Getreu nach dem Motto...

“Nichts beflügelt die Wissenschaft so, wie der Schwatz mit Kollegen auf dem Flur.“
(Arno Penzias (*1933), amerikanischer Physiker)

möchte ich besonders bei meinen Kollegen Oliver Hädicke, Philipp Rumschinski und Timm Faulwasser für die intensive Zusammenarbeit bei den theoretischen Teilen meiner Arbeit,

sowie bei Anke Carius, Ruxandra Rehnert und Claudia Bednarz für inspirative Gespräche und Unterstützung bei der Durchführung der zahlreichen Experimente und Analysen.

Meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere meinem Mann, gilt besonderer Dank für Unterstützung, Motivitation, Verständnis. Ihr seid wunderbar!

Contents

List of figures	XI
List of tables	XIII
List of symbols and abbreviations	XV
Deutsche Kurzfassung	XIX
1 Introduction	1
1.1 Motivation	1
1.2 The versatile lifestyle of <i>Rhodospirillum rubrum</i>	2
1.2.1 Morphology and the formation of photosynthetic membrane . . .	3
1.2.2 The industrial potential of anoxygenic photosynthetic bacteria . .	6
1.3 Modeling of biological systems	7
1.3.1 Stationary modeling or metabolic network modeling	7
1.3.2 Dynamical modeling of biotechnological processes	8
1.4 Microaerobic cultivation strategies	9
1.5 Contribution and outline of the thesis	10
2 Cultivation Strategy for the characterisation of microaerobic phenomena	12
2.1 Controlling of dissolved oxygen over the culture redox potential	12
2.1.1 Culture redox potential dependent control strategy	14
2.1.2 Results	18
2.1.3 Discussion	19
2.2 Experimental analysis of microaerobic batch cultures of <i>R.rubrum</i> . . .	20
2.2.1 Results	20
2.2.2 Discussion	22
2.3 Conclusion	27
3 Metabolic network analysis under microaerobic conditions	28
3.1 Metabolic modeling	28
3.1.1 Calculating the stationary flux distribution	30
3.1.2 <i>Flux Variability Analysis</i> of metabolic networks	31
3.1.3 Central carbon metabolism of <i>R.rubrum</i>	33
3.2 Metabolic activity of <i>R.rubrum</i> under microaerobic conditions	38
3.3 Results	40

3.3.1	Central carbon metabolism	42
3.3.2	Respiration	45
3.4	Discussion	46
3.4.1	Central carbon metabolism	46
3.4.2	Respiration	50
3.5	Conclusion	51
4	Model-based analysis and optimisation of microaerobic growth	53
4.1	Quantitative modeling of the growth process	53
4.1.1	Model derivation	54
4.1.2	Model analysis and validation	62
4.2	Process optimisation and analysis of microaerobic steady-states	65
4.2.1	Continuous cultivation technique	66
4.2.2	Results and Discussion	67
4.2.2.1	Process optimisation	68
4.2.2.2	Process analysis	69
4.3	Conclusion	72
5	Model-based control for the stabilisation of microaerobic steady-states	74
5.1	Controlling continuous cultures under microaerobic conditions	74
5.1.1	Two-Degree-of-Freedom controller	75
5.1.2	Model-based Two-Degree-of-Freedom control strategy	76
5.1.3	Online Monitoring of the biomass via UV-Vis spectroscopy	78
5.1.4	Implementation of the control strategy	80
5.2	Results and Discussion	81
5.2.1	Experimented steady-state controlled cultivations	82
5.2.2	Impact of the feedforward part on large set-point transitions	86
5.2.3	Stabilisation of microaerobic steady-states	86
5.2.4	Controller handles process disturbances	87
5.3	Conclusion	90
6	Experimental investigation of photosynthetic membrane formation in <i>R.rubrum</i>	92
6.1	Redox-sensitive formation of PM	92
6.1.1	Network of redox balancing	93
6.2	Results and Discussion	101
6.2.1	Intracellular responses on stepwise reductions of the CRP	104
6.2.2	Intracellular response to the provocation with light under microaerobic conditions	106
6.3	Conclusion	108
7	Conclusion and Summary	110

A Materials and Methods	114
A.1 Methods	114
A.1.1 Bacterial Strain, Media and Cultivation Conditions of the Pre-culture	114
A.1.2 Bioreactor Cultivations and Peripheral Components	114
A.1.3 Offline UV-Vis Spectroscopy	115
A.1.4 Online UV-Vis Spectroscopy	116
A.1.5 Analysis of organic acids via High Performance Liquid Chromatography	116
A.1.6 Enzymatic assays for substrates and excreted organic acids	116
A.1.7 Analysis of mRNA levels	116
A.1.8 Analysis of redox active components	117
A.1.8.1 Analysis of NADH, NAD ⁺ , NADPH and NADP ⁺ amounts	117
A.1.8.2 Analysis of GSH amounts	118
A.1.8.3 Analysis of Quinone pools	119
A.1.9 Experimentally determined reaction rates	120
Bibliography	121
Curriculum vitae	131

List of Figures

1.1	The cellular morphology and phenotype of <i>R.rubrum</i>	4
1.2	The vesicular intracytoplasmic membrane system of <i>R.rubrum</i>	5
1.3	PM as phenotypic marker	5
2.1	Block diagram of the control strategy	14
2.2	Batch set-up of the cultivation system	15
2.3	Culture redox potential(CRP)-dependent control strategy	16
2.4	Batch process procedure with a CRP step of -330mV	18
2.5	Description of the growth behaviour of <i>R.rubrum</i> cultures	21
2.6	Microaerobic batch cultivation of <i>R.rubrum</i> on M_2SF medium	26
3.1	Sketch of the central carbon metabolism in <i>R.rubrum</i>	34
3.2	Processes of the respiratory electron transport chain in <i>R.rubrum</i>	35
3.3	Cumulative metabolic network of <i>Rhodospirillacea</i>	39
3.4	Feasibility check of the ΔCRP data sets.	41
3.5	Stoichiometrically calculated oxygen uptake and CO_2 emission rates	45
3.6	Metabolic flux distributions at different degrees of oxygen limitation.	47
4.1	Flow-chart used for model development and analysis.	54
4.2	Mathematical description of the CRP-dependent growth response function	56
4.3	Overlay of experimental data and simulation results of all three hypotheses	61
4.4	Illustration of the set-based parameter estimation approach [86]	65
4.5	Important properties of different chemostat modes	67
4.6	Simulation results of continuous cultivations for selected CRP stepsizes	69
4.7	Simulated steady-state values for a CRP stepsize of -160mV	71
4.8	Steadiness of the biomass concentrations depend on the applied CRP stepsize	72
4.9	Sensitivity of steady-states with respecto to deviations in D_{stat}	73
5.1	Feedforward Two-degree-of-freedom control system	76
5.2	Block diagramm of the model-based 2DOF control strategy	77
5.3	Setup of the biomass monitoring device	79
5.4	Setup of the continuous cultivation system	80
5.5	First example of an automatised microaerobic steady-state cultivation	83
5.6	Second example of an automatised microaerobic steady-state cultivation	84
5.7	Impact of the Feedforward Part on Large Set-Point Transitions	85

5.8	Automatised process control strategy stabilises microaerobic steady-states	87
5.9	Automatised process control strategy handles heavy technical failure . . .	88
5.10	Automatised process control strategy handles large sampling volumes . . .	89
5.11	Automatised process control strategy handles technical failure	90
6.1	Simplified map of the network of redox balancing	94
6.2	Processes of the respiratory and phototrophic electron transport chain in <i>R. rubrum</i>	97
6.3	Physical map of the “photosynthesis gene cluster” of <i>R.rubrum</i>	100
6.4	Intracellular parameters during an automatised microaerobic steady- state cultivation - Example 1	102
6.5	Intracellular parameters during an automatised microaerobic steady- state cultivation - Example 2	103

List of Tables

2.1	Action of the input of the CRP controller	19
3.1	Key enzyme reactions of the completely reductive tricarboxylic acid (TCA) cycle	38
3.2	Calculated flux ranges of the Emden-Meyerhof-Parnas pathway	43
3.3	Calculated flux ranges of the entry reaction of the oxidative pentose phosphate pathway	43
3.4	Calculated flux ranges of the TCA cycle and selected anaplerotic reactions	44
3.5	Calculated flux ranges of the respiratory electron transport chain	44
4.1	Correlations of the three alternative model hypotheses.	59
4.2	Experimentally determined parameter values.	60
4.3	Least-Square estimated parameter values of model hypothesis I	60
4.4	Least-Square estimated parameter values of model hypothesis II	60
4.5	Least-Square estimated parameter values of model hypothesis III	61

List of symbols and abbreviations

This list serves as a reference for symbols and abbreviations that are not explained at each individual occurrence in the text. * \hat{x} , \hat{y} and \hat{p} refers to experimentally determined states, outputs and parameters

Variables and Acronyms

Acronyms	Description
AcCoA	acetyl-coenzyme A
α KG	α -ketoglutarate
CNA	<i>CellNetAnalyzer</i>
CO ₂	carbon dioxide
CRP	culture redox potential
Δ CRP	stepsize of CRP reduction
DW	dry weight
EMP	embden-meyerhof-parnas pathway
ETC	electron transport chain
Fum	fumarate
F1P	fructose-1-phosphate
F6P	fructose-6-phosphate
G6P	glucose-6-phosphate
HPLC	high pressure liquid chromatography
ICDH	isocitrate dehydrogenase
LHC	light harvesting complex
ME	malate enzyme
N ₂	nitrogen
O ₂	oxygen
OD	optical density
PDH	pyruvate dehydrogenase
PFK	phosphofructokinase
PM	photosynthetic membrane
PMF	proton motive force
pO ₂	partial oxygen pressure
PP _{<i>i</i>}	pyrophosphate
PPP	pentose phosphate pathway
PS	photosystem

List of symbols and abbreviations

Q	ubiquinone
QH ₂	ubiquinol
RC	reaction center
RQ	respiration quotient
succCoA	succinyl Coenzyme A
succ-DH	succinate dehydrogenase
TCA	tricarboxylic acid
TH	transhydrogenase
2DOF	two degrees of freedom

Variable	Description
σ	standard deviation of states x and parameter p
D^*	dilution rate
D_*	normalized dilution rate, cf. (4.7)
D_{stat}	reference steady-state value which attains the stationary state, cf. (5.3)
E	measured redox potential
E_{ref}	redox potential of the reference electrode
E_h	standard reduction potential
F_j	substrate concentration of the feed solution, with $j \in \{s, f\}$
\widehat{F}_j	physiologically feasible flux ranges $[\gamma_{j,min} \gamma_{j,max}]$
γ_j	net reaction rate of the reaction j
k	CRP affinity constant of the Hill kinetic
k_l	substrate dependent affinity constants $l \in \{1, 2, s, f\}$
$M_{R,i}$	molecular weight of $i \in \{c, s, f\}$, cf. (4.8)
n	Hill coefficient of the CRP-dependent growth kinetic
n_j	number of carbon molecules per mol substrate with $j \in \{s, f\}$
n_{ij}	the stoichiometric coefficient for metabolite i in reaction j
O_2	oxygen
p	model parameter
r_b^*	growth rate of the biomass
$r_{b,j}$	proportionate substrate specific growth rate with $j \in \{s, f\}$
r_j^*	rate of the experimentally determined reactions with $j \in \{c, s, f\}$
$\hat{r}_{c,j}$	proportionate specific carbon uptake with $j \in \{s, f\}$
$r_{b,min}$	smallest growth rate, which can be referred to as microaerobic
$r_{b,CRPmax}^*$	CRP-dependent, substrate independent, maximum growth rate
T	time interval of the optimal control problem, cf. (5.3)
$u_{ref}(t)$	feedforward input trajectory for 2DOF controller
v_b	constant of the growth kinetics, cf. (4.4),(4.5),(4.6)

w	constant of the logistic growth kinetic cf. (4.6)
x_i^*	concentration of the states with $i \in \{b, s, f\}$
$x_{b,stat}$	reference steady-state value of biomass concentration, cf. (5.3)
y^*	output vector
$y_{ref}(t)$	output reference trajectory for 2DOF controller, cf. (5.3)
$Y_{b/j}^*$	biomass-substrate yield coefficient of $i \in \{c, s, f\}$

Subscripts	Description
------------	-------------

c	carbon
f	fructose
s	succinate
b	biomass

Deutsche Kurzfassung

Regelung und modellbasierte Analyse von mikroaeroben Prozessen am Beispiel des Modellorganismus *Rhodospirillum rubrum*

Es ist und war stets ein Bedürfnis und eine Herausforderung der Forschung natürliche Vorgänge und Prozesse ganzheitlich zu verstehen. So ist es auch Kerngedanke der Systembiologie, dass Teile eines biologischen Systems nicht unabhängig voneinander betrachtet werden können, da die für ein System charakteristischen Eigenschaften oftmals aus Interaktionen vieler biologischer Komponenten und Hierarchieebenen resultieren. Aus diesem Grund ist es nicht ausreichend, sich bei der Analyse auf eine Hierarchieebene des Systems zu beschränken oder einzelne Komponenten und Mechanismen isoliert zu studieren. Für das Gelingen experimenteller systembiologischer Untersuchungen ist es entscheidend, dass die wesentlichen Eigenschaften der natürlichen Umgebung im Experiment imitiert werden können. Hierfür müssen zunächst die Schlüsseleigenschaften der natürlichen Umgebungsbedingungen, welche das im Fokus liegenden Systemverhalten hervorrufen, identifiziert werden. Lassen sich diese Eigenschaften in einen experimentellen Versuchsaufbau übertragen, so kann dieses Systemverhalten durch das Einstellen definierter Bedingungen zuverlässig und reproduzierbar abgerufen werden. Je komplexer und spezieller die natürliche Umgebung des zu beobachtenden Systems und je anpassungsfähiger der im Fokus stehende Organismus, desto größer ist die biotechnologische Herausforderung, eine geeignete und stabile experimentelle Umgebung zu schaffen. Oftmals ist die Anwendung rein experimenteller Methoden hierfür nicht zielführend.

Stark sauerstofflimitierte Bedingungen, die im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen, stellen eine solch spezielle biotechnologische Herausforderung dar, da die für diese Wachstumsbedingungen wesentlichen, sehr geringen Sauerstoffpartialdrücke mit konventionellen Methoden oftmals nicht messbar und somit nicht einstellbar sind. Genau diese mikroaeroben Lebensbedingungen sind jedoch häufig der Lebensraum von Organismen, welche aus physiologischen, pathologischen oder biotechnologischen Gründen von großer Bedeutung sind. Die Entwicklung von Prozessführungsstrategien, welche das reproduzierbare und robuste Anfahren und Halten definierter mikroaerober Zustände ermöglichen, ist daher sowohl für Forschung und Entwicklung als auch für den industriellen Einsatz erstrebenswert.

Das anoxygene Photosynthesebakterium *Rhodospirillum rubrum* ist aus mehreren Gründen bestens als Modellorganismus für die Entwicklung einer solchen Herangehensweise geeignet. Dieses Bakterium ist als einziger Vertreter seiner Art in der Lage, Photosynthesemembranen unter mikroaeroben Bedingungen im Dunkeln herzustellen. Diese besondere Eigenschaft bietet großes biotechnologisches Potential, da bei der industriellen Herstellung der mit der Bildung von Photosynthesemembranen einhergehenden Produkte auf den Einsatz von kosten- und energieintensiven Photobioreaktoren verzichtet werden kann. Die hohe metabolische Flexibilität, welche es diesem Organismus erlaubt, sich in seinem natürlichen Lebensraum sehr schnell an sich ändernde Wachstumsbedingungen anzupassen, stellt eine besondere Herausforderung für das Entwickeln geeigneter Prozessführungsstrategien dar. Wichtigster Grund ist jedoch, dass bezüglich der regulatorischen Mechanismen, welche mit dem mikroaeroben Wachstum und der sauerstoffsensitiven Produktion der Photosynthesemembranen verbundenen sind, noch viele Fragen offen sind. Kernursache hierfür ist das Fehlen einer geeigneten Prozessführungsstrategie für das Einstellen definierter, stabiler und reproduzierbarer Systemzustände und der daraus resultierende Mangel an systematischen Datensätzen.

Erstes Ziel dieser Arbeit ist es, die für die Untersuchung des im Fokus liegenden Systemverhaltens notwendigen Kultivierungsbedingungen im experimentellen Versuchsaufbau zu identifizieren und reproduzierbar einzustellen. Hierfür wird zunächst eine geeignete Mess- und Regelungsstrategie für den mikroaeroben Bereich entwickelt und etabliert. Desweiteren werden Prozessführungsstrategien entworfen, die das reproduzierbare und robuste Anfahren dieser häufig stark sensiblen und instabilen mikroaeroben Systemzustände in Batch- und Chemostatreaktoren ermöglichen und die sowohl auf andere Organismen übertragbar als auch im Labor- und Industriemassstab einsetzbar sind. Die Übertragbarkeit auf andere Organismen wird gewährleistet, indem die Prozessführungs- und Regelungsstrategien nicht auf für den Organismus spezifischen Eigenschaften aufbauen und auch auf keine Organismus spezifischen Prozessvariablen zurückgreifen. Um einen Upscale in den Industriemassstab zu ermöglichen wird für den experimentellen Aufbau auf den Einsatz von Sonderanfertigungen und sensiblen Messapparaturen verzichtet. Vielmehr wird auf technische Komponenten zurückgegriffen, welche aus ökonomischer und verfahrenstechnischer Sicht auch für den Einsatz im industriellen Maßstab geeignet sind.

Durch das Ineinandergreifen theoretischer (modellbasierter) und experimenteller Methoden und Analysen werden Prozessführungs- und Regelungsstrategien entwickelt, welche die systematische Untersuchung von stationären Systemzuständen und von dynamischen Systemantworten ermöglichen. Um neue Erkenntnisse bezüglich des mikroaeroben Wachstums und der mikroaeroben Produktion von Photosynthesemem-

branen zu gewinnen, werden die Kernkomponenten der für diesen Prozess relevanten Mechanismen untersucht. Eine Kombination aus modellbasierten und experimentellen Analysemethoden gestattet es, die involvierten Mechanismen und deren Interaktionen ganzheitlich zu betrachten. Hierbei sind die zellulären Hierarchieebenen des Zentralstoffwechsels, der respirativen und anoxygen-phototrophen Elektronentransportkette, des zellulären Redoxpotentials und der Genexpression von Bedeutung. Durch diese Herangehensweise kann beispielsweise gezeigt werden, dass sich die Synthese der Photosynthesemembranen entgegen aller Erwartungen nichtlinear zur Sauerstoffverfügbarkeit verhält. Die modellgestützte Analyse der experimentellen Daten erlaubt unter anderem die Schlussfolgerung, dass der Zitronensäurezyklus und dessen spezifischer Operationsmodus unter mikroaeroben Bedingungen maßgeblich zur Regulation des intrazellulären Redoxpotentials beiträgt und somit auch Einfluss auf das mikroaerobe Wachstum und die Produktion der Photosynthesemembranen hat. Insbesondere sei auf die dynamischen Datensätze hingewiesen, welche die transiente zelluläre Reaktion auf das Überführen eines definierten stationären Systemzustandes in einen anderen beschreiben. Aufgrund dieser Datensätze können die Reaktionen der intrazellulären Regulationsmechanismen ganzheitlich studiert und eine Fehlinterpretation der stationär generierten Datensätze vermieden werden. Auf diese Weise erzeugte experimentelle Datensätze lassen darauf schließen, dass der Redoxzustand des Quinonpools als on-off Signal für die Induktion der Photosynthesemembran-Produktion auf Genexpressions-ebene fungiert. Darüber hinaus deuten die Analysen der Datensätze darauf hin, dass der Reduktionsgrad des Quinonpools in Abhängigkeit der vorherrschenden Wachstumsbedingungen durch die Interaktion dreier in Verbindung stehender intrazellulärer Mechanismen beeinflusst wird: des Zitronensäurezyklus, des Photosystem und der respirativen Elektronentransportkette.