

Das Team des Wiener Zweigs des CD-Labors: Stefan Heini, Esther Egger, Katharina Spat, Stefan Gross, Reingard Grabherr



CD-Labor verbessert die Performance von Silage-Kulturen Fortbildung für Milchsäurebakterien

© Universität für Bodenkultur (2)

Milchsäurebakterien können viel, aber nicht alles. Durch Methoden des Genetic und des Enzyme Engineering können ihnen neue Stoffwechselwege beigebracht werden. Damit beschäftigt sich ein von Reingard Grabherr geleitetes Christian Doppler-Labor.

Das im steirischen Kapfenberg angesiedelte Unternehmen Lactosan ist ein Anbieter von Produkten auf der Basis lebender Milchsäurebakterien, seien es Probiotika für die Tierernährung, seien es Starter-Kulturen für die Silage. Als Zukunftsmarkt kommt neben der Futtermittel- und der Biogaserzeugung auch die Herstellung rekombinanter Proteine mithilfe der Bakterienstämme in den Blick. Im Zuge der immer weiter voranschreitenden Optimierung der Produkte für diese Anwendungsfelder stieß man an den Punkt, an dem ein vertieftes molekularbiologisches Verständnis der eingesetzten Bakterienstämme den Vorteil brächte, gezielt in das Geschehen eingreifen zu können. Aus diesem Grund war Lactosan auf der Suche nach einem wissenschaftlichen Partner.

Gefunden hat man diesen in der Arbeitsgruppe von Reingard Grabherr an der Universität für Bodenkultur in Wien. Grabherr beschäftigt sich damit, das molekulare Wissen über biologische Vorgänge in Zellen in ein gezieltes „Zell-Engineering“ umzusetzen, und hat auf diesem Gebiet schon Erfahrungen mit Bakterien- und tierischen Zellen gesammelt. Nach ersten gemeinsamen Versuchen mit Milchsäurebakterien, beschloss

man, für die weitere Zusammenarbeit das Modell eines Christian Doppler-Labors zu wählen.

„Dieses Modell bietet uns den Vorteil, als einzelner Industriepartner eine langfristige Kooperation mit einer Forschungsgruppe einzugehen“, meint dazu Gerald Blüml, Sales Manager bei Lactosan. Von einer solchen Zusammenarbeit konnte auch der Eigentümer der Firma bald überzeugt werden.

Engineering für Enzyme und Zelle

Das so entstandene „CD-Labor für gentechnisch veränderte Milchsäurebakterien“ hat sich zwei Ziele gesetzt: die metabolische Leistung in der Silage zu verbessern und die Grundlagen dafür aufzubereiten, rekombinante Proteine mithilfe von Milchsäurebakterien herstellen zu lassen. Neben dem Zell-Engineering kam deshalb als weiteres Modul das Enzyme Engineering dazu – ein Fachgebiet, das von Helmut Schwab an der TU Graz abgedeckt wird. „Es wäre zum Beispiel sinnvoll“, erzählt Reingard Grabherr, „den von Lactosan verwendeten Bakterienstämmen, beizubringen, auch Cellulose abzubauen, um so zu einer Verbesserung der

Ausbeute in der Silage zu kommen.“ Dazu müssten Enzyme, die etwa von Pilzen oder Termiten für einen derartigen Stoffwechselprozess verwendet werden, in den Bakterien exprimiert werden. Um dabei ein optimales Ergebnis zu erzielen, kann man zunächst diese Enzyme selbst einem Optimierungsschritt unterwerfen, in dem man sich deren 3D-Struktur ansieht und die Aminosäuresequenz so adaptiert, dass die katalytischen Eigenschaften verbessert werden. Ebenso betrachtet man die für diese Enzyme codierenden Gene und modifiziert die Nucleotid-Sequenzen so, dass sie an die Bakterien besser angepasst sind.

Von den vielen bei Lactosan zum Einsatz kommenden Stämmen werden für die Arbeit im CD-Labor vor allem zwei herausgegriffen: *Lactobacillus plantarum* und *Lactobacillus buchneri*. „Der Vorteil von *L. plantarum* ist, dass sein Genom bereits vollständig bekannt ist“, sagt Grabherr. Bei *L. buchneri* ist das noch nicht so, hier besteht eine Kooperation mit dem Center for Biotechnology (Cebitec) an der Universität Bielefeld, das die Genomsequenzierung übernimmt. „Das interessante an diesem Stamm“, erzählt Grabherr, „ist, dass er obligat heterofermentativ ist, also neben Milch-

säure immer auch Essigsäure erzeugt“ – eine Eigenschaft, die in der Silage von großem Vorteil ist, da sie die Haltbarkeit nach dem Öffnen des Silos verbessert.

Die Genomanalyse als Grundlage

Ist das Genom einmal bekannt, gilt es, dessen einzelnen Bauteile zu identifizieren: einerseits solche Bauteile, die bestimmten Stoffwechselwegen zugeordnet werden können, andererseits solche, die regulatorische Funktion haben und damit als Werkzeuge für das Genetic Engineering interessant sind. Ist beispielsweise das Gen für ein bestimmtes, in einem Stoffwechselschritt wichtiges Enzym bekannt, wird man versuchen, dieses Enzym verstärkt in den Bakterien zu exprimieren. Dabei reiche es, so Grabherr, aber nicht aus, einen einzelnen Schritt im metabolischen Gesamtzusammenhang isoliert zu betrachten, vielmehr müssten die Folgen für die ganze damit zusammenhängende Kaskade untersucht werden. „Letztlich geht es darum, Bausteine zu finden, mit denen wir alles einbauen können, was wir wollen, an der Stelle, an der wir wollen“, fasst Grabherr das Ziel zusammen. Darüberhinaus müsse aber auch betrachtet werden, wie sich die Zellen nach dem Einbau von Genen verhalten. So ist etwa zu vermeiden, dass die Zelle dadurch unter Stress gerät oder an Robustheit verliert, auch das wäre der wirtschaftlichen Nutzung der erwünschten Prozesse abträglich.

Im vergangenen Jahr wurde auch ein Projekt zur Untersuchung des Metagenoms einer Silage gestartet. Grabherr: „In einer

Silage gibt es Konsortien von vielen verschiedenen Arten. Besonders das, was sich unter anaeroben Bedingungen abspielt, ist noch wenig erforscht.“ Wenn die Gesamtheit aller Mikroorganismen genomisch untersucht wird, kann man zu Aussagen darüber gelangen, wie sich Konsortien im Verlaufe der Silage verändern, was am Anfang und was im weiteren Verlauf vorhanden ist. Eine andere Ebene ist die Betrachtung des Sekretionsverhalten der Bakterien. Grabherr: „Wenn ein bestimmtes Produkt von den Milchsäurebakterien hergestellt wird, dann wollen wir ja auch, dass dieses in den Überstand tritt.“

Ein erster Zwischenstand

Knapp zwei Jahre arbeitet das CD-Labor für gentechnisch veränderte Milchsäurebakterien mit seinen beiden Zweigen in Wien und Graz jetzt. Die erste wissenschaftliche Evaluation des Labors, die nach zwei von sieben Jahren Laufzeit stattfindet, steht unmittelbar bevor. Mittlerweile hat man sich Methoden zurechtgelegt, mit denen man den untersuchten Stämmen Herr werden will. Die Arbeitsgruppe von Reingard Grabherr kennt nun die molekularen Bausteine und baut an Expressionsvektoren zur Veränderung der gentechnischen Ausstattung. In der Gruppe von Helmut Schwab hat man inzwischen Enzymkandidaten für den Cellulose-Abbau identifiziert, die auch in Milchsäurebakterien funktionieren. Die Optimierung der Enzymstruktur ist nun der nächste Schritt.



Die Stars, um die sich alles dreht: Milchsäurebakterien

testo

Messtechnik + Kalibrierdienst

Simulatoren Kalibratoren

Zum Kalibrieren Ihrer Messmittel:

Vorgaben:

- Trocken-Kalibratoren bis 1.200 °C
- Kalibrier-Pumpen für Drücke bis 700 bar
- Simulatoren mit 11 Typen Thermoelemente, 14 Widerstandsthermometer, mV, mA, Hz mit HART® Kommunikation

Prüfmittel:

- Kalibratoren für °C, %rF, m/s, Pa, mA, mV, Hz
- Vollautomatische Kalibrier-Abläufe möglich
- Software für Prüfmittelverwaltung

Infos unter:
01 / 486 26 11-70
oder beratung@testo.at

testo GmbH
Leibergasse 94
1170 Wien

Tel: 01 / 486 26 11-70
Mail: beratung@testo.at