NUTZBARMACHEN MIKROBIELLER RESOURCEN – ZUGRIFF AUF SEKUNDÄRMETABOLITEN UNKULTIVIERBARER BAKTERIEN



Projektträger:
AIT Austrian Institute of Technology

Wissenschaftliche Leitung:
Günter Brader

Weitere beteiligte Einrichtungen:
AIT Austrian Institute of Technology

Forschungsfeld:
Medizinische Biotechnologie

Förderinstrument: Projekte Grundlagenforschung

Projekt-ID: LS11-014

Projektbeginn: 01. November 2012

Projektende: folgt

Laufzeit: 36 Monate / beendet

Fördersumme: € 299.000,00

Kurzzusammenfassung:

Nutzbarmachen mikrobieller Ressourcen – Zugriff auf Sekundärmetaboliten unkultivierbarer Bakterien

Der überwiegende Anteil von Mikroorganismen kann mit den derzeitigen Methoden nicht kultiviert werden. Diese Organismen produzieren eine hohe Zahl an bisher nicht beschriebenen Substanzklassen. Darüber hinaus besitzen viele Bakterien Biosynthese-Gencluster, die unter gewöhnlichen Laborbedingungen nicht aktiv sind. Die funktionelle und bioinformatische Analyse von (Meta)genombibliotheken ermöglicht die Erschließung dieses großen Potentials an neuen wirksamen Substanzen. Speziell bei Antibiotika und Antitumor-Wirkstoffen, die derzeit zum großen Teil Naturstoffe oder chemisch modifizierte Derivate davon sind, ist die Eignung von unentdeckten Substanzen als Leitstruktur für die Entwicklung neuer Wirkstoffe groß. Eine bedeutende Problematik bei der Entdeckung neuer antibiotisch wirksamer Substanzen aus mikrobiellen Quellen ist die Tatsache, dass häufig vorkommende aktive Metaboliten bereits beschrieben wurden. Um in den Bereich Substanzklassen vorzudringen, müssen daher einerseits neue oder wenig verwendete Quellen, wie die DNA nicht kultivierter Bakterien, erschlossen werden und andererseits das mühsame Wiederentdecken bereits lange bekannter Substanzen bzw. Gene hintangehalten werden.
In dem vorliegenden Antrag sollen daher zunächst in einem Hochdurchsatz-Screening (Meta)genombibliotheken mit einer sehr hohe Zahl an Fosmid-Klonen getestet werden, wobei eine innovative Kombination von mikrostrukturierende Techniken, zellulären Biosensoren und Pyrosequenzierung von (Meta)genomen zur Anwendung kommen soll. Wir planen hierzu die Verwendung von Kapillar-Mikroschablonen zusammen mit Antibiotika- oder stresssensitiven Biosensoren, die eine hohe Dichte und einen hohen Durchsatz erlauben und die Detektion von aktiven Substanzen im subletalen Bereich ermöglichen. Zur Erhöhung der Metabolitenvielfalt sollen weiters mit Hilfe von Shuttle-Vektoren unterschiedliche Produzentenstämme eingesetzt werden. Positive Ergebnisse sollen mit einem unabhängigen Microfluid-Verfahren überprüft werden. Um die Wiederentdeckung von bereits bekannten Wirkstoffen zu verhindern und um in den (Meta)genomen kodierte Substanzklassen vorherzusagen, werden die (Meta)genom Bibliotheken der Pyrosequenzierung unterworfen. Positive Klone im funktionellen Screen werden ebenfalls sequenziert, um eine rasche Klassifikation der involvierten Substanzklassen zu ermöglichen. Diese Schritte erlauben eine enorme Arbeitsreduktion in der Phase der arbeitsintensiven Vergrößerung der Metabolitenproduktion, sowie der folgenden Auftrennung und Strukturaufklärung. Das Projekt soll letztlich den Aufbau einer (Meta)genom-Bibliothek mit biosynthetisch aktiven Klonen (einer „metachemical library“) ermöglichen, die letztlich nicht nur für Antibiotika-Screening sondern auch als Basis für verschiedenste Screenings dienen kann und nicht nur Leitstrukturen sondern auch neue Gene für deren Produktion liefern soll.

Schlüsselbegriffe:
metagenomic libraries, high-throughput-screening, capillary force patterning, microfluid systems, antibiotics, secondary metabolites, biosensors, pyrosequencing, biosynthetic cluster in silico prediction