TASSMATA: EIN VERFAHREN ZUR ERSCHLIESSUNG VON NEUARTIGEN BIOAKTIVEN SUBSTANZEN DURCH DIE GEZIELTE AKTIVIERUNG VON UNBEKANNTEN SEKUNDÄRMETABOLIT- GENCLUSTERN IN FILAMENTÖSEN PILZEN.



Projektträger:
Universität für Bodenkultur Wien

Wissenschaftliche Leitung:
Joseph Strauss

Weitere beteiligte Einrichtungen:
IMC Fachhochschule Krems

Forschungsfeld:
Mikrobiologie and Genetik

Förderinstrument: Projekte Grundlagenforschung

Projekt-ID: LS19-009

Projektbeginn: 01. November 2020

Projektende: folgt

Laufzeit: 36 Monate / laufend

Fördersumme: € 290.000,00

Kurzzusammenfassung:
Mikroorganismen, wie zum Beispiel filamentöse Pilze, sind eine reichhaltige Quelle für bioaktive Substanzen. Einige dieser Verbindungen können in Medikamente weiterentwickelt und als Antibiotika, in Therapien gegen Krebs bzw. chronischen Entzündungen oder anderen Behandlungsgebieten eingesetzt werden. Die steigende Resistenz von Mikroorganismen gegen diverse Antibiotika und der Bedarf an neuen Therapien gegen schwer heilbare Erkrankungen macht es notwendig, neuartige bioaktive Substanzen zu entdecken und weiterzuentwickeln. Bioinformatische Analysen von mikrobiellen Genomen berechneten, dass sogar in sehr gut erforschten Gattungen wie zum Beispiel Aspergillus sp. weit mehr genomische Baupläne für solche Substanzen (auch Sekundärmetaboliten genannt) existieren, als derzeit bekannt. Der Grund hierfür liegt darin, dass diese Substanzen nur unter bestimmten Bedingungen von den Mikroorganismen hergestellt werden und die natürlichen Auslöser unbekannt sind, oder im Labor nicht nachgeahmt werden können. Obwohl viele verschiedene methodische Ansätze existieren, um solche „kryptischen" biosynthetischen Gengruppierungen gezielt zu aktivieren, bleibt ihr Anwendungsbereich jedoch auf solche Gengruppierungen beschränkt, welche ein Gen für einen spezifischen Transkriptionsfaktor (Genregulator) beinhalten. Diese Gene fehlen jedoch in 50 % aller Sekundärmetabolit-Gengruppierungen. Um dennoch in der Lage zu sein, diese reichhaltige Quelle an möglichen bioaktiven Substanzen anzuzapfen, wollen wir in diesem Projekt einen synthetischen RNA-geleiteten Genaktivator entwickeln und zum Einsatz bringen. Dieser Genaktivator besteht aus einer enzymatisch inaktiven Variante der Endonuklease Cas9 (dCas9), welche an den dreiteiligen Genaktivator VPR gekoppelt ist (VPR-dCas9). Dieses Fusionsprotein ist in der Lage mehrere Gene gleichzeitig zu aktivieren. Diese Gene können gezielt angesteuert werden, indem die Fusionsproteine mit sogenannten RNA-Molekülen (guide RNAs) beladen werden, welche spezifisch für die individuellen Gene sind. Abgesehen von der gleichzeitigen Aktivierung kann auch das Aktivierungspotential der einzelnen Gene über die Positionierung der guide RNA im Bereich des Zielgens gesteuert werden. Initiale „Proof of Concept" Experimente zeigen, dass die gezielte Aktivierung von einzelnen Genen in Aspergillus nidulans mittels VPR-dCas9 funktionieren. Nach der erfolgreichen Etablierung der VPR-dCas9 vermittelten Aktivierung mehrerer Gene in Aspergillus nidulans werden wir kryptische Sekundärmetabolit-Gengruppierungen aktivieren. Deren metabolische(s) Endprodukt(e) (i.e. bioaktive Substanz(en)) werden anschließend strukturell analysiert (NMR) und die Bioaktivität gegen Indikator-Keime, menschliche (Krebs-) Zelllinien und in Bezug auf

entzündungshemmende Wirkungen getestet. Dieses Projekt soll den Grundstein dafür legen, mittels dem entwickelten System neuartige bioaktive Substanzen aus einer Großzahl von filamentösen Pilzen zu isolieren und zu charakterisieren.

Schlüsselbegriffe:
fungal genetics, epigenetics, secondary metabolites, bioactive substances, drug discovery, pharmaceutical research, biotechnology, analytical chemistry, biochemistry