

WEISSE BIOTECHNOLOGIE MIT PFLANZENZELLEN

Pflanzen offenbaren ein breites Spektrum an ernährungs-physiologisch und pharmazeutisch relevanten Sekundärmetaboliten. In einem Verbundprojekt mit den Instituten für Botanik (Pflanzenphysiologie), Betriebliche Umweltökonomie sowie Holz- und Faserwerkstofftechnik beschäftigen sich Wissenschaftler an der Professur für Bioverfahrenstechnik der TU Dresden in Kooperation mit der TU Kaiserslautern sowie der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften Plovdiv mit der Kultivierung sowie der Untersuchung verschiedener Pflanzenkulturen.

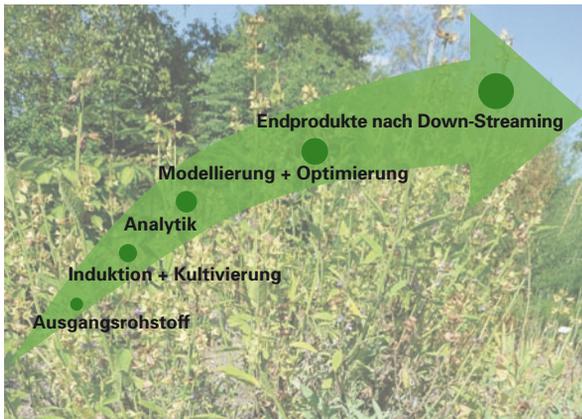


Abb. 1: Biotechnologische Gewinnung von Sekundärmetaboliten

Die traditionelle Produktion pflanzlicher Sekundärstoffe weist eine starke Abhängigkeit von klimatischen und geographischen Einflüssen auf. Eine Alternative stellt eine Herstellung mit pflanzlichen Zell- und Gewebekulturen durch ganzjährige Kultivierung unter optimalen Bedingungen im Bioreaktor dar (siehe Abb.1). Diese verzichtet zudem auf den Einsatz von Schadstoffen wie Pestiziden und ermöglicht eine nachhaltige und ressourcenschonende Produktion.

Im Rahmen des Forschungsprojektes werden die Modellsysteme Sonnenblume (*Helianthus annuus*) zur α -Tocopherolproduktion sowie Salbei (*Salvia sp.*) zur Produktion der Triterpensäuren Oleanol- und Ursolsäure betrachtet. Letztere werden beispielsweise auf Grund ihrer antioxidativen und entzündungshemmenden Eigenschaften in Kosmetika und Gesundheitsprodukten eingesetzt.

Verschiedene Varianten zur Induktion und Kultivierung von Hairy roots sowie Optimierungen der Kultivierungsbedingungen von Kalluskulturen von Salbei und der Sonnenblume wurden untersucht (siehe Abb. 2 und 3). Erste Versuche der etablierten Salbei-Kulturen im Hinblick auf die Produktion von Sekundärmetaboliten wurden durchgeführt.



Abb. 2: Hairy roots von *Salvia sp.*



Abb. 3: Kallus von *Helianthus annuus*

Die Analytik der Zielprodukte erlaubt ein Screening der in vitro Kulturen in Abhängigkeit von verschiedenen Kultivierungsstrategien in Bezug auf ihre Metabolitbildung.

Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurde eine Screening-Methode auf Oleanol- und Ursolsäure entwickelt. Die Anwendung dieser Methode auf Kallus-Extrakte von Salbei ermöglicht eine Differenzierung zwischen produktiven und nicht-produktiven Zelllinien (siehe Abb. 4). Dabei wurden neben Spuren von Oleanol- und Ursolsäure auch Hinweise auf die Synthese weiterer Metaboliten entdeckt.

Für die genaue Quantifizierung wird eine HPLC-Analyse der Extrakte durchgeführt. Die bisher nicht bekannten Metabolite sollen mit Hilfe der GC-MS Analytik entschlüsselt werden.

Produktion von Oleanol- und Ursolsäure

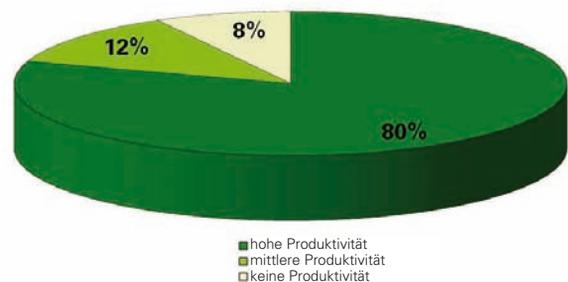


Abb. 4: Oleanol- und Ursolsäure-Produktion der Kalluskulturen von *Salvia officinales*

Ein weiterer Aspekt der Analytik besteht in der Bereitstellung von Kennwerten zur Modellierung des Wachstums von Pflanzenzellkulturen. Beispiele hierfür liegen in der Substratverwertung von Stickstoff- und Kohlenstoffquellen.

Modellierung des Wachstums von Pflanzenzellen:

Für die kosten- und ausbeutenoptimierte Nutzung der Produktionskapazität von Pflanzenzellen ist eine mindestens makroskopische, modelltheoretische Nachbildung des Stoffwechsels zur Einstellung optimierter Kultivierungsbedingungen notwendig.

Ziel ist die Modellierung, Simulation und experimentelle Erprobung eines Kultivierungsprozesses der sich in Biomasseaufbau und Sekundärmetabolitproduktion gliedert.

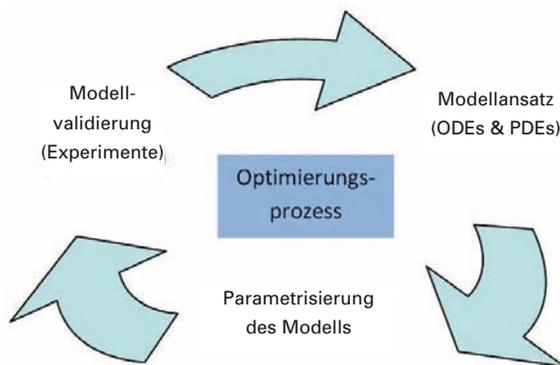


Abb. 5: Modelloptimierungsprozess

Der Stoffwechsel einer Pflanzenzelle kann durch Differentialgleichungen mit Aussagen zu Biomasse-, Produkt- und Nährstoffkonzentrationsänderungen beschrieben werden. Üblicherweise ist ein rein analytischer Ansatz zur Lösung der entstehenden Differentialgleichungssysteme schon aufgrund der Vernetzung und Komplexität der Einzelbedingungen nicht möglich. Zur Anwendung kommen numerische Lösungsmethoden und Simulatoren.

Zur Parametrisierung des Modells zum Wachstumsverhalten von Hairy Root-Kulturen sind verschiedene Kennwerte notwendig.

Mit den Parametern zur Simulation lässt sich das Modell validieren. Auftretende Abweichun-

gen werden durch Verfeinerung des Modells und wiederholtes Durchführen des Parametrisierungsprozesses minimiert (siehe Abb. 5).

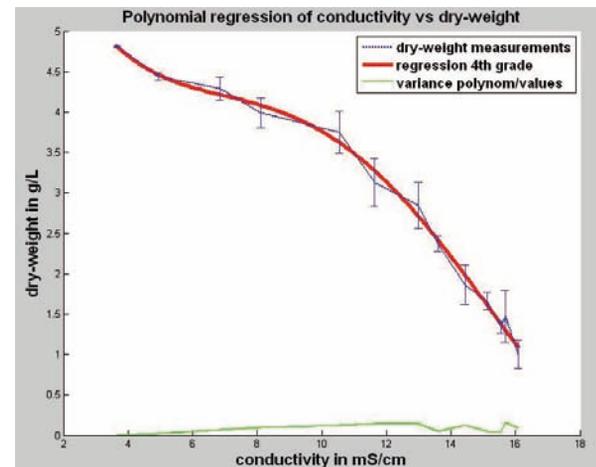


Abb. 6: Zusammenhang Leitfähigkeit und Biomassezunahme

Zur Abschätzung der Biomassezunahme im Wachstumsprozess wurde mit Hilfe experimentell gewonnener Daten ein funktionaler Zusammenhang zwischen spezifischer elektrischer Leitfähigkeit und Trockengewicht der Kalluskultur etabliert (siehe Abb. 6).

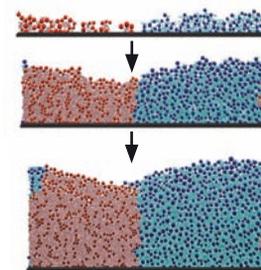


Abb. 7: Simulation

Das Wachstumsverhalten der Kalluskulturen von Sonnenblume und Salbei wird mit einem Simulator für individuenbasierte Modelle (iDyNoMiCS) nachgestellt. Die durch Simulation generierten Daten können sowohl numerisch weiterverarbeitet als auch grafisch in Form von Bildsequenzen (siehe Abb. 7) oder Videos visualisiert werden. Die gewonnenen Daten sind mit experimentell gewonnenen Daten vergleichbar und reduzieren den Experimentieraufwand.

Die gewonnenen Daten sind mit experimentell gewonnenen Daten vergleichbar und reduzieren den Experimentieraufwand.

Kontakt

Technische Universität Dresden
 Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik
 Nachwuchsforschergruppe „Weiße Biotechnologie mit Pflanzenzellen“
 Prof. Th. Bley, Dr.-Ing. J. Steingroewer
 01062 Dresden
www.tu-dresden.de/mw/ilb/wbtwpc



Gefördert vom Europäischen Sozialfonds und dem Freistaat Sachsen.

