

Funktionelle Analyse von pflanzlichen Glykosyltransferasen kleiner Moleküle mittels Aglykon Bibliotheken

Antragsteller:	Professor Dr. Wilfried Schwab Technische Universität München Wissenschaftszentrum Weihenstephan Fachgebiet Biotechnologie der Naturstoffe Liesel-Beckmann-Straße 1 85354 Freising Telefon: +49 8161 712912 Telefax: +49 8161 712950 E-Mail: schwab@wzw.tum.de Professor Dr. Matthias Wüst Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften Endericher Allee 11-13 53115 Bonn Telefon: +49 228 732964 Telefax: +49 228 733499 E-Mail: matthias.wuest@uni-bonn.de
Fachliche Zuordnung	Biochemie und Biophysik der Pflanzen Lebensmittelchemie Pflanzenphysiologie
Förderung	Förderung seit 2016

Projektbeschreibung

Die Glykosylierung von Naturstoffen ist eine entscheidende Modifikation der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe. In Pflanzen spielt die Glykosylierung u.a. eine wichtige Rolle bei der Regulation des Hormonhaushalts, der Entgiftung von Xenobiotika und der Biosynthese, Speicherung und Funktion der Sekundärstoffe. Eine spezielle Unterklasse der weit verbreiteten Glykosyltransferase (GT) Familie katalysiert diese Reaktionen. Obwohl diese Enzyme bereits seit Jahrzehnten intensiv untersucht wurden, sind bisher nur wenige in Pflanzen charakterisiert worden. Im Gegensatz dazu haben Pflanzengenom-Projekte eine unerwartete Komplexität innerhalb dieser Familie aufgedeckt und erste Hochdurchsatz (HTS) Untersuchungen bewiesen die Substratpromiskuität der Enzyme, die die Funktionsanalyse einzelner Gene und die Ermittlung der in planta Funktionen beträchtlich erschweren. Vor kurzem haben wir jedoch ein neues Verfahren für die Identifizierung von in vivo Substraten der GTs entwickelt, auch wenn diese Substrate nicht im Handel erhältlich sind. Dieses Verfahren verwendet physiologische Aglykon-Bibliotheken, die durch Hydrolyse von natürlichen Glykosiden für das Substrat-Screening hergestellt werden und ermöglicht dadurch die zielgerichtete Entdeckung von enzymatischen Aktivitäten, die von Genen mit unbekannter Funktion kodiert werden. Die innovative Methode soll in diesem Projekt optimiert und in HTS Untersuchungen für die funktionelle Charakterisierung von GTs aus Apfel, Erdbeere, Himbeere, Trauben und Tomaten verwendet werden. Kandidatengene werden aus Genomsequenzen und verwandten Transkriptom-Daten ausgewählt, rekombinante Proteine werden heterolog exprimiert und Aglykon Bibliotheken aus verschiedenen Blatt- und Fruchtgewebe hergestellt. Mehrere Donorsubstrate werden synthetisiert und neue Glykoside strukturell identifiziert. Schließlich sollen die Funktionen der GTs in planta durch reverse genetische Ansätze überprüft werden. Das Projekt wird die physiologische Rolle von neuen GTs bei der Biosynthese von Glykosiden kleiner Moleküle aufzudecken und wird die Verwendung der GTs in biotechnologischen Prozessen zur Produktion von Lebensmittel-Zusatzstoffen ermöglichen.

DFG-Verfahren	Sachbeihilfen
Großgeräte	Microplate-Reader