

2. BIOSENSOR SYMPOSIUM

TÜBINGEN 2001

<http://barolo.ipc.uni-tuebingen.de/biosensor2001>

Schwermetallmonitoring mittels transgener Hefen

Dr. Kristina Tag¹; U. Kaule¹; S. v. Brehmer¹; Dr. M. Lehmann¹; Dr. G. Hanke², Dr. H. Kröber², H.-J. Bauer², Dr. K. Riedel¹, Prof. G. Kunze¹

¹Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Corrensstr.3, D-06466 Gatersleben

² Institut für Medizintechnik Dresden e.V., Bernhard-Voß-Str. 25, D-01145 Radebeul

Tel. 039482-5350

tag@ipk-gatersleben.de www.ipk-gatersleben.de

Registriernummer der Online-Anmeldung: 138

Vortrag

Schwermetallionen spielen bei der Reinigung von Abwässern der Galvanik-Industrie eine entscheidende Rolle. Hier muss die Abwasserbehandlung mit Verfahren gekoppelt sein, die diese toxischen Metallionen vom Abwasser trennen. Dazu ist eine kontinuierliche Messung der spezifischen Verbindungen, d.h. der Schwermetallionen-Konzentration, essentielle Voraussetzung, um mit möglichst geringem Materialeinsatz einen optimalen Reinigungseffekt zu erzielen.

Für solche Messungen wird derzeit vor allem die Atomadsorptionsspektrometrie eingesetzt, die zwar sehr exakt, aber auch sehr kostenintensiv ist und nur die absoluten und nicht die biologisch verfügbaren Konzentrationen an Schwermetallbelastungen misst. Zunehmend besteht daher die Forderung nach Messsystemen, die durch eine schnelle, kostengünstige und umweltschonende Schadstofffassung, speziell von Schwermetallionen, charakterisiert ist, bei der der apparative Aufwand möglichst gering sein soll. Diese Forderungen erfüllen Biosensoren, die durch den Einsatz von gentechnisch veränderten Mikroorganismen, speziell Hefen, auch für solche Aufgabenstellungen genutzt werden können.

Mit Unterstützung der „Deutschen Bundesstiftung Umwelt“ wurden am Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben und am Institut für Medizintechnik Dresden mittels gentechnisch veränderter Hefen (*Saccharomyces cerevisiae*) mikrobielle Sensoren konstruiert, die erstmals auch Schwermetallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+}) auf Respirationbasis spezifisch in Form eines positiven Messsignals erfassen können. Dazu wurden in die Hefe *S. cerevisiae* Plasmide transformiert, welche Kassetten mit Schwermetallionen-regulierbaren Transkriptionspromotoren von *S. cerevisiae* und dem *lacZ*-Gen von *E. coli* enthielten. Diese Kassetten sind nur in Gegenwart von entsprechenden Schwermetallionen aktiv, d.h. nur unter diesen Bedingungen wird die vom *lacZ*-Gen codierte β -Galactosidase gebildet.

Durch die Kopplung zwischen Schwermetallionen-regulierbarem Promotor und *lacZ*-Gen kommt es in der Laktose-negativen Hefe *S. cerevisiae* bei einem Überschuss von Laktose und gleichzeitigem Vorhandensein von Schwermetallionen im Messsystem zur Expression des *lacZ*-Gens, was zur Synthese von β -Galactosidase führt. Dieses Enzym ist in der Lage, die im Messsystem vorhandene Laktose zu Glukose und Galaktose zu spalten. Beide Spaltprodukte können im Gegensatz zur Laktose in *S. cerevisiae* metabolisiert werden. Dadurch wird die Stoffwechselaktivität der immobilisierten Hefezellen gesteigert, was im Gesamtsystem einen erhöhten Sauerstoffverbrauch nach sich zieht, der als Messsignal dient (Abb.).

Auf der Basis dieses Messprinzips konnten bisher Biosensoren entwickelt werden, mit denen spezifisch Cu^{2+} , Zn^{2+} und Cd^{2+} gemessen werden können. Anhand der in einer gerührten Messzelle erhaltenen Parameter lassen sich diese Sensoren bevorzugt zur Messung von Proben mit hohen Cu^{2+} -, Zn^{2+} - und Cd^{2+} -Belastungen einsetzen.

Für kontinuierliche Messungen ist der Einsatz der Rührzelle ungeeignet. Deshalb wurden die mikrobiellen Sensoren an eine vom Institut für Medizintechnik Dresden entwickelte FIA angepasst und On-line-Messungen durchgeführt.

Die mit dem Sensor für den Cu^{2+} -Nachweis erhaltenen Ergebnisse belegen die Eignung der rekombinanten Hefezellen für On-line-Messungen. Dabei konnten die Messparameter gegenüber der Rührzelle sogar noch verbessert werden. So ließ sich durch Modifikationen an der FIA-Apparatur die Sensitivität des Messbereiches für Cu^{2+} um das 10fache steigern.

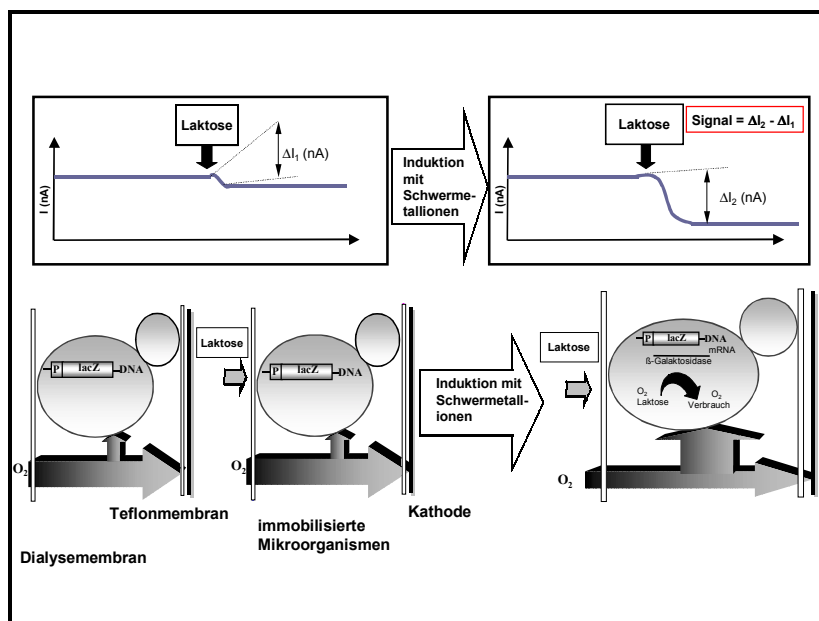


Abb.: Messprinzip eines Biosensors zur Bestimmung von Schwermetallionen auf Respirationbasis, der als mikrobielle Sensorkomponente gentechnisch veränderte Hefen enthält.

