



Název projektu:

Společné česko-rakouské centrum řasových biotechnologií

Acronym: Algenetics

Období: 2017-2019

Souhrn projektu

Partneři:

FH OÖ Forschungs & Entwicklungs GmbH, Wels, Austria
Mikrobiologický ústav AVČR v. v. i., Centrum ALGATECH, Třeboň

Strategičtí partneři:

FH OÖ Studienbetriebs GmbH, Wels
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

leden 2020

Tento projekt byl financován Evropskou Unií prostřednictvím programu
INTERREG V-A Rakousko – Česká Republika

SHRNUTÍ PROJEKTU

STAV ZNALOSTÍ: Kjótský protokol zavázal smluvní strany ke snížení emisí skleníkových plynů na základě odborné shody na tom, že (i) dochází ke globálnímu oteplování a (ii) je mimořádně pravděpodobné, že jej způsobily především emise CO₂ způsobené člověkem. Protokol proto stanovil za cíl omezit nástup globálního oteplování snížením skleníkových plynů v atmosféře na "úroveň, která by zabránila nebezpečné antropogenní interferenci s klimatickým systémem". Jedním ze způsobů, jak dosáhnout tohoto cíle je nalezení alternativních zdrojů energie a paliv, které nezpůsobují další zvýšení emisí CO₂ do atmosféry. Jednou z možností je biotechnologická produkce biopaliv tzv. 3. generace pocházejících z biomasy mikrořas – biodieselu, etanolu, butanolu, metanu, leteckého paliva, atd., které budou produkovány v kultivačních jednotkách na velké ploše nebo v průmyslových komplexech za využití atmosférického CO₂, přebytečné energie a odpadů jako zdroje živin.

Během procesu fotosyntézy, za přítomnosti světla, mohou mikrořasy (mikroskopické prokaryotické sinice a eukaryotické řasy) vázat environmentálně nepříznivé CO₂ z atmosféry a přeměnit jej na energeticky bohaté sloučeniny a sloužit tak jako mikrobiální buněčné továrny. Je důležité vyzdvihnout, že například sinice jsou odpovědné za téměř polovinu globální fotosyntetické kapacity, a tak významně přispívají ke spotřebě atmosférického CO₂ a produkci kyslíku a biomasy, které jsou nezbytné pro život na Zemi. Také všechny zásoby fosilních paliv původně pocházejí z dávné biomasy produkované rostlinou fotosyntézou.

INOVACE: Inovace je v tomto projektu především založena na využití obnovitelných zdrojů a udržitelné produkci energie a cenných sloučeninách cestou základního výzkumu s cílem zlepšit vědecké znalosti, které přispějí k větší budoucí nezávislosti na zdrojích fosilních paliv a také ke snižování nárůstu koncentrace CO₂ v atmosféře. Cílem tohoto projektu je využití výhod sinic v oblasti genetického inženýrství a využití těchto mikroorganismů pro biotechnologické účely jako buněčné továrny pro produkci energeticky bohatých látek. Jako produkty byly vybrány bioetanol a škrob, protože oba mohou – jako zdroje energie – nahradit fosilní paliva.

PARTNEŘI PROJEKTU: Rakouský tým z FH OÖ Forschung & Entwicklungs GmbH má odborné znalosti v molekulární biologii sinic, aby se daly použít jako produkční systém pro průmyslově využitelné látky. Genetická optimalizace těchto sinic může vést k produkci širokého spektra látek, které mohou být buď přirozené (organismu vlastní), nebo nepřirozené (získané z cizího organismu). Český tým z Mikrobiologického ústavu – Centra Algatech má dlouholeté zkušenosti ve studiu fotosyntézy a pěstování mikrořas od laboratorního až po průmyslové měřítko pro produkci biomasy obsahující různé bioaktivní látky.

ZÁMĚR PROJEKTU: Záměrem projektu ALGENETICS bylo zlepšit a rozšířit přeshraniční vědeckou spolupráci mezi dvěma regionálními institucemi, FH OÖ Forschung & Entwicklungs GmbH se sídlem ve Welsu a Mikrobiologickým ústavem – Centrum Algatech se sídlem v Třeboni

v Jihočeském regionu. Protože jsou oba partneři projektu odborníky v doplňujících se oblastech výzkumu mikrořas, pro jejich spolupráci v tomto projektu bylo možné využít kombinaci různých moderních biotechnologických technik, které zaručily multidisciplinární přístup k tématu projektu. Za účelem výměny zkušeností mezi dvěma partnery pracovali zástupci výzkumných skupin po určitý čas v partnerských institucích, aby se naučili a procvičili nové techniky pro realizaci hlavního cíle projektu – založení společného česko-rakouského centra řasové biotechnologie. Výsledky projektu byly komunikovány a propagovány jako semináře, výzkumné zprávy, vědecké práce a příspěvky na mezinárodních konferencích.

CÍL VÝZKUMU: Výzkumným cílem projektu bylo využití sinicového kmene *Synechocystis* sp. PCC6803 jako buněčné továrny – produkčního systému výroby cenných látek. Projekt byl specificky zaměřen na konstrukci geneticky upravených transformantů pro produkci energeticky bohatých sloučenin - škrobu a bioetanolu - které nejsou přirozeně tvořeny v tomto organismu. Tato technologie je zcela inovativní v zemích partnerů projektu. Glykogen (přirozená zásobní látka pro *Synechocystis*), škrob a etanol mohou být využity jako uhlík-neutrální zdroj transportních paliv, které nekonkurují potravinářským plodinám. Mělo by to také přispět k vyšší budoucí nezávislosti na fosilních zdrojích a ke snížení emisí CO₂ do atmosféry.

VÝSLEDKY PROJEKTU: V rámci Společného česko-rakouského centra pro řasovou biotechnologii mezi partnery – Univerzita aplikovaných věd ve Welsu, Horní Rakousko a Centrum Algatech v Třeboni, jižní Čechy byl sestaven komplexní proces od sinicové buňky k produkci energeticky bohatých látek bioetanolu a škrobu ve fotobioreaktoru. Byly získány jedinečné společné znalosti různých genetických, biotechnologických a technologických metodik. Projekt zahrnoval vývoj genetických optimalizačních metod, konstrukci a výběr transformantů produkujících energeticky bohaté sloučeniny, optimalizaci kultivačních režimů, růstové testy od laboratorního po pilotní měřítko včetně zpracování pro kvantifikaci a produkci požadovaných sloučenin bioetanolu, glykogenu nebo škrobu podobných polysacharidů. V průmyslové aplikaci v budoucnu by tento proces mohl přispět k zabezpečení dodávek energie a snížení oxidu uhličitého.

Vzhledem k tomu, že *Synechocystis* sp. PCC6803 přirozeně neprodukuje škrob a etanol, požadované geny musí být vneseny. Této modifikace bylo dosaženo integrací/modifikací příslušných genů do buňky. Výsledné transformanty byly analyzovány s ohledem na jejich genomickou modifikaci pro potvrzení stabilní tvorby produktu. Ze stovek transformantů na agarových miskách byly vybrány nejvhodnější (asi 20). Byly zkoumány čtyři typy: (i) ty, které mají zvýšenou produkci glykogenu, (ii) ty, které produkují škrob podobný glykogen, (iii) dvojité transformanty se zvýšenou tvorbou produktu a tvorbou škrobu, (iv) transformanty produkující etanol. Vybrané kmeny byly pěstovány na minerálním médiu v osvětlených fotobioreaktorech, např. v třepaných baňkách nebo v bublaných skleněných válečcích. V těchto pokusech byly vybrané transformanty charakterizovány z hlediska fyziologie, růstu a výtěžku požadovaných produktů. Pro optimalizovanou produkci je důležité korelovat fotosyntetickou aktivitu, růst a produkci požadovaných sloučenin. Celý kultivační proces byl popsán ve formě SOP (standardního operačního postupu) a lze jej podrobněji přečíst v T1.2.1.

V rámci projektu byl proveden pilotní experiment, jehož cílem bylo kvantitativní stanovení produkce bioetanolu v kapalně frakci kultury a škrobu nebo glykogenu v biomase vybraných producentů. V závěrečném období projektu byly kultivovány dva transformanty v pilotním měřítku (25 litrový fotobioreaktor) pro testování (i) produkce bioetanolu, (ii) nadprodukce glykogenu. Byly navrženy metody stanovení a izolace bioetanolu v médiu a technologie získávání bioetanolu z kultury mikrořas (popsáno v dokumentu SOP T1.3.1.). Takto získaný bioetanol by mohl být využit jako obnovitelná alternativa k fosilním palivům. Byl také vypracován postup pro izolaci a kvantifikaci glykogenu a škrobu z biomasy *Synechocystis* (dokument T1.3.1). Pro následné zpracování je biomasa sklizena a vystavena kyselé hydrolyze za zvýšené teploty. Tímto způsobem se polysacharidy v biomase štěpí na monosacharidy, které byly měřeny kapalinovou chromatografií. Výsledná směs obsahující glukózu může být fermentovaná kvasinkami nebo bakteriemi k získání bioetanolu.

Výsledky projektu byly prezentovány jako plakátová sdělení a diskutovány na přednáškách při seminářích, národních a mezinárodních setkáních a kongresech.

Grafické schéma projektu

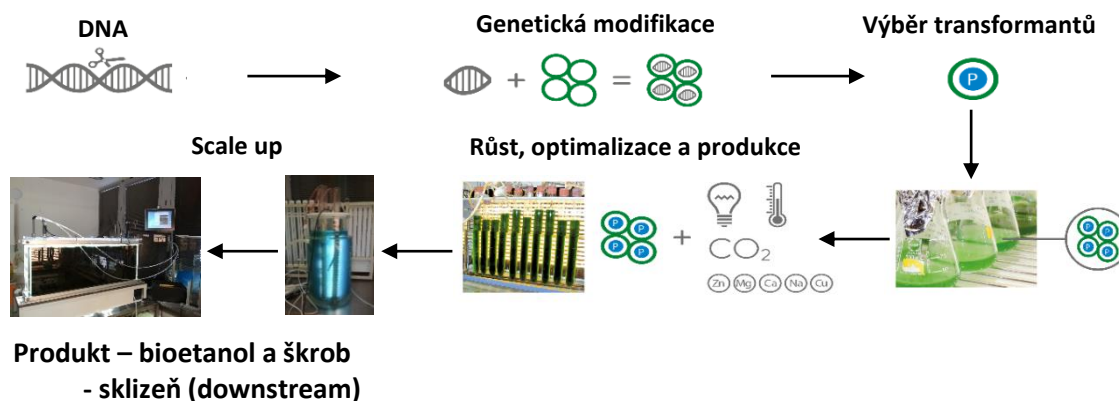


Schéma procesu pro produkci bioetanolu a škrobu ze sinic. Specifické úseky DNA, které posilují požadovanou tvorbu produktu musí být integrovány do sinicové buňky. Výběr nejslibnějších modifikovaných kmenů – transformantů byl proveden na genomické a proteomické úrovni. Vybrané transformanty byly dále optimalizovány z hlediska růstového režimu a výtěžku produktu v kultivačních pokusech až do pilotního měřítka.

VÝSTUPY

- Založení Společného česko-rakouského centra pro řasovou biotechnologii mezi Fachhochschule ve Welsu v Horním Rakousku a Centra Algatech v Třeboni v jižních Čechách.
- Společné pokusy byly prováděny v obou laboratořích s výměnou pracovníků. Byly vytvořeny jedinečné společné znalosti různých genetických, biotechnologických a technologických metodik.
- Byl sestaven seznam transformantů sinic *Synechocystis* sp. PCC6803 připravených během projektu, které produkují požadované sloučeniny – bioetanol, glykogen nebo škrob (aktivita T1.1.1).
- Tyto mutanty byly charakterizovány fyziologickými pokusy pro optimalizaci jejich růst s cílem korelovat fotosyntetickou aktivitu a produkci požadovaných sloučenin.
- Byly vypracovány Standardní operační postupy pro kultivaci transformantů *Synechocystis* a následné zpracování biomasy.
- Postup projektu byl vykazován ve formě společných šestiměsíčních periodických zpráv.
- Výsledky projektu byly prezentovány formou roll-upů i plakátových sdělení a ústních prezentací na seminářích, národních a mezinárodních setkáních, konferencích a kongresech.