

Zuckerschätze in der Muttermilch *Precious sugars in breast milk*

Muttermilch enthält den optimalen Mix für die gesunde Entwicklung des Säuglings. Einen maßgeblichen Beitrag dafür leisten bestimmte Mehrfachzucker namens humane Milch-Oligosaccharide. Wie diese zukünftig industriell produziert werden können, wird am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik der TU Graz in Zusammenarbeit mit dem Austrian Center of Industrial Biotechnology (acib) erforscht.

Im Hinblick auf die gesunde Entwicklung des Säuglings ist Muttermilch in ihrer Zusammensetzung unübertroffen. Neben den eigentlichen Nährstoffen Lipiden, Kohlenhydraten und Proteinen enthält sie auch unzählige immunologisch sowie prä- und probiotisch wirksame Substanzen. Darunter finden sich in großen Mengen sogenannte humane Milch-Oligosaccharide (HMOs). Bis jetzt wurden mehr als 200 verschiedene HMOs identifiziert, die immer mehr ins wissenschaftliche Rampenlicht rücken. Denn Ergebnisse aus klinischen Studien deuten auf mannigfaltigen Gesundheitsnutzen beim Menschen hin: Sie unterstützen die Entwicklung der Darmflora, indem sie als Präbiotika nützlichen Darmbakterien als Futter dienen und so ihr Wachstum und ihre Aktivität steigern. Ein weiterer positiver Effekt auf die Darmflora ist durch die bakterienhemmende Wirkung einiger HMOs gegeben. Sie haben gleiche „Andockstellen“ wie die Schleimhautzellen im Magen-Darm-Trakt, an die sich infektiöse Bakterien als ersten Schritt zur Infektion binden. In den Körper eingedrungene Bakterien unterscheiden nicht zwischen den Andockstellen von HMOs und jener der Schleimhautzellen, und werden so durch HMOs geködert und ausgeschieden. Weiters gelangen HMOs

Breast milk contains the optimal mix of nutrients for a healthy development of the baby. Certain complex carbohydrates known as human milk oligosaccharides are among the most important contributors. The Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering at TU Graz is researching in cooperation with the Austrian Center of Industrial Biotechnology (acib) how these might be produced industrially.

When it comes to the healthy development of a baby, breast milk and its ingredients are without rival. In addition to lipids, carbohydrates and proteins as genuine nutrients, it also contains countless immunological as well as prebiotically and probiotically active substances. These include large amounts of so-called human milk oligosaccharides (HMOs). So far more than 200 different HMOs have been identified and are increasingly in the focus of science. This is because the results of clinical studies indicate that they are beneficial for human health in numerous ways. As prebiotics they support the development of the intestinal flora by feeding beneficial intestinal bacteria, stimulating their growth and increasing their activity. Another advantage for the intestinal flora is the antibacterial effect of some HMOs. Their “docking points” are the same as those of the mucosal cells in the gastrointestinal tract where infectious bacteria attach in the first step towards infection. Bacteria entering the body are unable to distinguish between the docking points of HMOs and those of mucosal cells. Offering their docking points as a lure, HMOs proceed to capture the bacteria and ultimately excrete them. HMOs also enter the bloodstream and circulate in the body. It is assumed

Abbildung 1:
Muttermilch enthält den optimalen Mix für eine gesunde Entwicklung des Säuglings.

Figure 1:
Breast milk contains the optimal mix of nutrients for a healthy development of the baby.

in den Blutstrom und zirkulieren im Körper. Man geht davon aus, dass sie so auch vor Infektionen in anderen Körperbereichen wie der Lunge schützen. Zudem sind bestimmte HMOs wichtige Bausteine für die neuronale Entwicklung.

HMOs für „Flaschenkinder“






Was die Konzentration und Vielfalt an HMOs betrifft, kann die humane Muttermilch nicht einfach durch die Milch von Kühen und anderen Säugetieren ersetzt werden. Die derzeitige industriell hergestellte Säuglingsnahrung enthält zwar oft pflanzliche Oligosaccharide, die auch präbiotisch wirken. Sie unterscheiden sich jedoch in Struktur und Komplexität deutlich von den Oligosacchariden der menschlichen Muttermilch. Wie kommen nun „Flaschenkinder“ in den Genuss der positiven Effekte von HMOs? Der Nachbau der HMOs durch chemische Synthese im großen Stil stellte sich als schwierig und kostspielig heraus. Und die Isolierung von HMOs aus Muttermilch kommt aufgrund der begrenzten Ausgangsressource für die industrielle Großproduktion nicht in Betracht.

Der biotechnologische Weg

Hier kommt nun die Biotechnologie ins Spiel: Bernd Nidetzky und seine Forschungsgruppe am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik der TU Graz erforschen, wie sich die humanen Milch-Oligosaccharide im Labor mit biotechnologischen Methoden synthetisieren lassen. In Zusammenarbeit mit dem Austrian Centre of Industrial Biotechnology (acib) haben sie sich auf zwei Gruppen von HMOs fokussiert, die in hohen Konzentrationen in humaner Muttermilch vorherrschen: fucosylierte Oligosaccharide und sialylierte Oligosaccharide. Genauer wollen sie herausfinden, wie man Enzyme, die die Verbindungsreaktion zwischen den einzelnen Oligosaccharid-Bausteinen in Gang bringen (Glycosyltransferasen), in ausreichender Menge mit Hilfe von Mikroorganismen gewinnt und diese effektiv einsetzt.

„Die gute Nachricht ist, dass alle humanen Milch-Oligosaccharide auf nur fünf Zucker-Grundbausteinen basieren, die mithilfe von Enzymen zu den komplexen Strukturen verknüpft werden können“, erklärt Barbara Petschacher, die in Bernd Nidetzky's Team zu diesem Thema forscht.

Einen großen Erfolg konnten die Forschenden an der TU Graz und des acib bereits vergangenes Jahr verzeichnen: Es gelang ihnen, ein Enzym aus der Gruppe der Sialyltransferasen so zu verändern, dass es zwei unterschiedliche HMOs herstellen kann. Beide HMOs bestehen aus Sialinsäure und Laktose, die jedoch an unterschiedlichen >

-  antimikrobiell
anti-microbial
-  präbiotisch
prebiotic
-  immunmodulierend
immune-modulating
-  entzündungshemmend
anti-inflammatory
-  Gehirnentwicklung
brain development



© lanweldman - Fotolia.com

that this allows them to provide protection against infections in other parts of the body and the lung. Finally, certain HMOs are important building blocks for the neuronal development of the baby.

HMOs for bottle-fed babies

In terms of concentration and sheer variety of HMOs, the milk of cows and other mammals cannot replace human breast milk. Although industrially manufactured baby food nowadays often contains plant-based oligosaccharides with a certain prebiotic effect, their structure and complexity differs considerably from that of the oligosaccharides in human breast milk. So how can we make sure that bottle-fed babies also benefit from the positive effect of HMOs? The reconstruction of HMOs by means of large-scale chemical synthesis was found to be both difficult and costly. Isolating HMOs from breast milk is not an option because of the limited availability of the resource for industrial volume production.

The biotechnological approach

This is where biotechnology comes into play: Bernd Nidetzky and his team of researchers at the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering at TU Graz are searching for possibilities to synthesise human milk oligosaccharides in the laboratory by biotechnological means. In cooperation with the Austrian Centre of Industrial Biotechnology (acib) they focused on two groups of HMOs that occur in high concentration in human breast milk – fucosylated oligosaccharides and sialylated oligosaccharides. Their aim is to find out how to produce a sufficient amount of the enzymes that catalyse the linking reaction between the individual oligosaccharide components (glycosyltransferases) with the aid of microorganisms, and how to >

Abbildung 2:
Gesundheitsnutzen von humanen Milch-Oligosacchariden (HMOs).
Figure 2:
Beneficial health effects of human milk oligosaccharides (HMOs).

Molekülstellen miteinander verbunden werden. „Dies ist insofern beachtenswert, als das Enzym normalerweise sehr spezifisch ist und in der unveränderten Form die Moleküle nur auf eine Art miteinander verknüpft“, so Katharina Schmölzer vom acib, die bei dieser Studie federführend war.

Abbildung 3:

Am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik der TU Graz wird in Zusammenarbeit mit acib erforscht, wie sich HMOs mit biotechnologischen Methoden synthetisieren lassen.

Figure 3:

Researchers at the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering at TU Graz in cooperation with acib are searching for possibilities to synthesise HMOs in the laboratory by biotechnological means.



© acib

Nächster Schritt: Metabolic Engineering

Im nächsten Schritt in Richtung industrieller Herstellung von HMOs werden Mikroorganismen so verändert, dass sie bestimmte Oligosaccharide herstellen. Barbara Petschacher nimmt dabei das Bakterium *Escherichia coli* unter die Lupe. *E. coli* ist in der Lage, den aktivierten Zucker GDP-L-Fucose herzustellen. Dieser Zucker ist ein Zwischenprodukt auf dem Weg zu einem Bestandteil der Bakterienzellwand. „Unser Ziel ist es, den Syntheseweg von GDP-L-Fucose mit der Produktion einer Glycosyltransferase so zu koppeln, dass das Bakterium gezielt fucosylierte HMOs produziert“, erklärt Petschacher.

Die Ergebnisse der Forschung an der TU Graz in Zusammenarbeit mit dem acib, die vom österreichischen Kompetenzzentrenprogramm COMET gefördert wird, sind nicht nur für die Herstellung von Säuglingsnahrung, sondern auch für die Entwicklung von Functional Foods für ältere Kinder und Erwachsene bedeutend. Synthetisch hergestellte HMOs könnten etwa in therapeutischen Nahrungsmitteln eingesetzt werden, die die Behandlung von schwerwiegenden Erkrankungen unterstützen und das Risiko einer Infektion mit multi-resistenten Krankenhauskeimen reduzieren.

Text: Ulrike Keller ■

effectively use them. “The good news is that all human milk oligosaccharides are based on just five basic sugar building blocks that can be linked by enzymes to form complex structures,” says Barbara Petschacher from Bernd Nidetzky’s team who is investigating this particular subject.

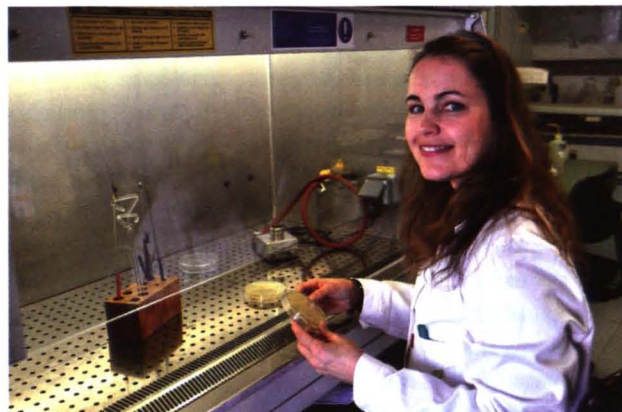
Last year the researchers at TU Graz and acib already reached a major milestone. They succeeded in modifying an enzyme from the group of sialyltransferases so that it is able to produce two different HMOs. Both HMOs consist of sialic acid and lactose but these are linked at different molecule positions. “This is notable in that the enzyme is normally very specific. If unmodified it will only connect the molecules in one way,” explains Katharina Schmölzer from acib, the leading partner in this study.

Next step: Metabolic Engineering

In the next step towards the industrial production of HMOs, microorganisms are modified to make them produce certain oligosaccharides. Barbara Petschacher concentrates her attention on the bacterium *Escherichia coli*. *E. coli* is capable of producing the activated sugar GDP-L fucose. This sugar is an intermediate product of a metabolic pathway, at the end of which it becomes a component of the bacterium’s cell wall. “What we are trying to do is couple the synthesis pathway of GDP-L fucose with the production of a glycosyltransferase to get the bacterium to ultimately produce fucosylated HMOs,” reveals Petschacher.

The results of the research at TU Graz in cooperation with acib, supported by the Austrian Competence Centre Programme COMET, are not only significant for the production of baby food but also for the development of functional foods for older children and adults. As an example, synthetically produced HMOs could be used in therapeutic foodstuffs that support the treatment of severe diseases and reduce the infection risk with multi-resistant hospital germs.

Text: Ulrike Keller ■



© Keller – TU Graz

Abbildung 4:
Barbara Petschacher am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik der TU Graz.

Figure 4:

Barbara Petschacher at the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering at TU Graz.