

A. Ammann, H. Neve, K. J. Heller, A. Geis

Institut für Mikrobiologie der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel,
Standort Kiel

Transduktion in *Streptococcus thermophilus*: Charakterisierung und Bedeutung als Werkzeug zur gentechnikfreien Übertragung von Plasmiden

Mit einer gezielten Übertragung von Plasmiden in *Streptococcus thermophilus* Starterkulturen können deren Fermentationseigenschaften (z. B. hinsichtlich ihrer Phagenresistenz) verbessert werden. Häufig angewendete Methoden hierfür sind Transformation und Konjugation. Eine Alternative hierzu stellt die Transduktion dar, ein durch Bakteriophagen vermittelter natürlicher Gentransfer. Die Kenntnis über die molekularen Grundlagen dieses Verfahrens und dessen Effektivität ist für die Entwicklung eines gentechnikfreien DNA-Übertragungsverfahrens für *S. thermophilus* von großer Bedeutung. Die vier in den Modellversuchen verwendeten *S. thermophilus* *cos*-Typ Phagen waren in der Lage, Plasmid-DNA zu übertragen (10^{-7} bis 10^{-2} Transduktanten/infizierenden Phagen). Transduzierbar waren Plasmidkonstrukte (Größen 5,7 kb bis 9,2 kb) auf der Basis nativer *S. thermophilus* Plasmide, die kurze Sequenzübereinstimmungen zu Genomabschnitten (*cos*-Stellen) von *S. thermophilus* Phagen aufwiesen. Solche homologen Sequenzen wurden in verschiedenen nativen *S. thermophilus* Plasmiden identifiziert. Die Klonierung der *cos*-Sequenz des Phagen P53 in ein nicht-transduzierbares Plasmid ergab ein Plasmidkonstrukt mit hoher Transduzierbarkeit. Sowohl Wirts- als auch Nichtwirtsstämme eigneten sich als Empfängerstämme, wobei die Transduktionshäufigkeiten abhängig von der Adsorption der Phagenpartikel an dem jeweiligen Empfängerstamm war. Durch Optimierung des Transduktionsprotokolls wurde der Anteil an plasmidtragenden Zellen in den Transduktionsansätzen soweit erhöht, dass Transduktanten ohne Verwendung selektiver Marker identifiziert werden konnten.