

Strategien zur Präzisionsfermentation und Anwendungsoptimierung von rekombinantem Casein in mizellaren Substrukturen - "SPArC"



Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Bonn
Forschungseinrichtung(en):	Technische Universität München - School of Life Sciences Forschungsdepartment Life Science Engineering Professur für Cellular Agriculture Prof. Dr. Marius Henkel
	Technische Universität München - School of Life Sciences Forschungsdepartment Life Science Engineering Professur Food Process Engineering Prof. Dr. Petra Först
Industriegruppe(n):	Milchindustrie-Verband e.V. (MIV), Berlin
Projektkoordinator:	Dr. Thomas Spiegel Hochland Deutschland GmbH, Heimenkirch
Laufzeit:	2025 – 2028
Zuwendungssumme:	€ 523.561,--

Forschungsziel

Die rekombinante Gewinnung von Milchproteinen rückt vor allem aus Gründen der Nachhaltigkeit in den Fokus der aktuellen Forschung. Das in Milch enthaltene Molkenprotein β -Lactoglobulin (BLG) ist bereits in größerem Maßstab rekombinant herstellbar. Die Anwendung rekombinant gewonnener Milchproteine in Lebensmitteln stellt einen Zukunftsmarkt mit hohem wirtschaftlichem Potenzial dar, der derzeit im Fokus einzelner Unternehmen mit nicht allgemein zugänglicher Expertise steht. Die Erzeugung der großen Bandbreite an Strukturen unterschiedlicher traditionell hergestellter Milchprodukte allein auf Basis von BLG oder pflanzlicher Alternativen sind für Unternehmen eine große Herausforderung. Bovine Caseinmizellen stellen die Hauptproteinfraktion in Kuhmilch dar und fungieren als die primär strukturbildende Komponente in den meisten etablierten und geschätzten Milchprodukten. Es werden bisher jedoch nur wenige Firmen in Zusammenhang mit rekombinanten Caseinen genannt, darunter bspw. neben der prominenten kalifornischen Firma Perfect Day in Europa „Those Vegan Cowboys“ (Gent, Belgien) und die Formo Bio GmbH (Berlin). Für den Einsatz in neuen Lebensmitteln weisen bovine Caseine in Form der originären Mizellen, oder durch strukturelle Modifizierungen abgeleitete Produkte, eine hohe Funktionalität hinsichtlich Schaumbildung, Emulsionsstabilisierung und Wasserbindevermögen auf.

Um eine Abhängigkeit von einzelnen auf diesem Feld forschenden Unternehmen zu vermeiden, sollte die Charakterisierung und Ableitung von Anwendungen rekombinant gewonnener Caseinfraktionen im Fokus allgemeinzugänglicher Forschung stehen. Bisher sind jedoch weder effiziente mikrobielle Produktionssysteme noch Prozesse für die rekombinante Herstellung von Caseinen etabliert. Die funktionellen Eigenschaften

rekombinant gewonnener Caseine sind bisher kaum aufgeklärt. Ferner ist wenig bekannt über den Einfluss posttranslationaler Modifikation auf das Expressionsverhalten bzw. deren Auswirkung auf techno-funktionelle Eigenschaften der Caseine. Unterschiede in Zusammensetzung und kolloidalen Eigenschaften solcher Caseinfraktionen gegenüber bovinen Caseinmizellen können die im Rahmen der Herstellung von Lebensmitteln auftretenden Wechselwirkungen maßgeblich verändern. Mizellen in Humanmilch enthalten im Gegensatz zu Kuhmilch nur Spuren von α -Casein. Dies stellt das Erfordernis einer Integration von α -Caseinen zur Ausbildung von Mizellen und spezifischer Funktionalität in Frage. Weiterhin ist nicht geklärt, ob sich beim Einsatz rekombinanter Caseine ohne aufwändigen Aufbau boviner Mizellstrukturen Anwendungsvorteile erzielen lassen. So werden in Verarbeitungsprozessen von Caseinmizellen zur Funktionalitätserhöhung häufig strukturelle Veränderungen beispielsweise mittels Labs, Säure oder Schmelzsäuren durchgeführt. Auf Basis rekombinant gewonnener Caseine könnten mittels einer spezifischen Strukturmodulation für einzelne Anwendungen maßgeschneiderte Caseinfraktionen erzeugt werden. Demzufolge ist es von Bedeutung, die grundlegenden Eigenschaften rekombinant gewonnener Caseine in Abhängigkeit von äußeren Einflussfaktoren systematisch zu untersuchen und mit denen boviner Caseinmizellen und Caseinmonomeren zu vergleichen.

Bei der mikrobiellen Herstellung kann es zu nicht-natürlichen Faltungsmustern während der Translation kommen, was zu Zellstress und Degradationseffekten durch exponierte Proteindomänen führen und einen negativen Einfluss auf die Prozesseffizienz haben kann. Die besondere Struktur der Caseine als sog. „intrinsisch ungeordnete Proteine“, denen i.d.R. eine fixierte 3D-Konformation fehlt, legen zusätzlich eine Beteiligung an diesen Effekten nahe und unterstützen die ausgeprägte Temperaturabhängigkeit des Teilfaltungs- und Aggregationsverhaltens von Caseinen. Es gilt deshalb die Translationsrate, Faltung und Aggregationsverhalten in einem engen Rahmen feinjustieren, um optimale biomassespezifische Produktbildungsraten sowie Produkt-pro-Substrat- bzw. Raum-Zeitausbeuten zu erreichen. Das Aggregationsverhalten der Caseine ist dabei u.a. stark temperaturabhängig, was durch die Wahl der verwendeten Methoden zur temperaturabhängigen Translationskontrolle adressiert wird und Vorteile im Vergleich zu konventionellen rekombinanten Verfahren hervorbringen soll.

Mit dem Projektvorhaben „SPArC“ soll eine Plattform zur rekombinanten Herstellung von β und κ Casein in mikrobiellen Systemen entwickelt werden. Hierfür sollen molekulare Schalter, sog. RNA-Thermometer (RNAT), zur temperaturabhängigen Feinjustage der Translationsrate und damit Faltungs- sowie Aggregationsverhalten von β - und κ -Casein zum Einsatz kommen. Im Hinblick auf Skalierbarkeit könnten RNAT weiterhin von Vorteil sein, da sie Produkt und Biomassebildung entkoppeln können und im Falle einer zukünftigen Skalierung in der Industrie zur automatischen Induktion des Systems aufgrund von metabolischer Abwärme genutzt werden könnten. Weiterhin sollen Caseine mit posttranslationalen Modifikationen (Phosphorylierung – β Casein und Glykosylierung – κ Casein) mikrobiell hergestellt, untersucht und bewertet werden. Nachfolgend soll auf Basis dieser Erkenntnisse eine Prozessoptimierung im Bioreaktor durchgeführt werden. Ziel ist es, die Nutzung von RNA-Thermometern für die Caseinproduktion zu untersuchen, einen Prozess zur rekombinanten Herstellung für β/κ Casein zu entwickeln und zu optimieren und erstmalig belastbare Daten zu Titern und Ausbeuten zu veröffentlichen.

Weiterhin sollen für eine optimale Nutzbarkeit in unterschiedlichen Lebensmittelanwendungen auf diesem Weg erzeugbare Caseinfraktionen hinsichtlich kolloidaler Eigenschaften und Wechselwirkungen in typischen Verarbeitungsschritten sowie hinsichtlich des Einflusses von Phosphorylierung und Glykosylierung charakterisiert und mit natürlichen bovinen Caseinen verglichen werden. Maßgeschneiderte rekombinante Caseinfraktionen, die eine optimierte Zusammensetzung sowie eng definierte kolloidale Eigenschaften aufweisen, könnten den Aufwand für komplexe Verarbeitungsprozesse erheblich reduzieren. Zudem könnten durch die Mischung aus rekombinanten und/oder isolierten Caseinen (v.a. β und κ), durch Einstellung kolloidaler Eigenschaften, optimierte Funktionalitäten erzielt werden. Für eine industrielle Anwendbarkeit in bestehenden Prozessanlagen sollen die Wechselwirkungen rekombinanter Caseine im Rahmen klassischer Verarbeitung sowohl in Reinform als auch in Mischsystemen mit Caseinen aus Kuhmilch charakterisiert werden.

Ein weiteres Kernziel des Forschungsvorhabens ist die Entwicklung einer allgemein zugänglichen Datenbasis für rekombinante Caseine (molekularbiologische Konzepte und Daten, bioprozesstechnische Aspekte und

Messdaten sowie Experimentaldaten zur Proteincharakterisierung und Funktionseigenschaften), vornehmlich über Publikationen in Fachzeitschriften, aber auch über Datenbanken (bspw. RIsources, re3data oder auch internationale Anbieter). Hierdurch sollen für die Zukunft weitere Forschungsarbeiten katalysiert und somit ein Transfer der Forschungsarbeiten in die Anwendung begünstigt sowie durch die gezielte Publikation die Patentsituation und eine evtl. Monopolentstehung für die Zukunft im Sinne von KMUs positiv beeinflusst werden.

Wirtschaftliche Bedeutung

Im Umfeld eines wachsenden Milchmarktes wird hohes Wachstum für verschiedene aus Milch gewonnene caseinreiche Zwischenprodukte prognostiziert. Für mittels Membrantrennverfahren isoliertes mizellares Casein bildet Europa den größten Markt, welcher von Deutschland dominiert wird. Mizellares Casein findet zunehmend Anwendung zur Anreicherung von Milchprodukten, Proteinanreicherung verschiedener Lebensmittel, sowie in Nahrungsergänzungsmitteln, Säuglingsnahrung und klinischer Ernährung. Beim Einsatz in Milchprodukten ergeben sich Vorteile gegenüber anderen Proteinquellen, da Casein keinen produktfremden Zusatz darstellt.

Die hohe Variabilität der Zusammensetzung von Milch als Ausgangsmaterial stellt eine der größten technischen Herausforderungen bei der Verarbeitung der enthaltenen Caseinfraction in komplexen Verarbeitungsprozessen wie der Käseherstellung dar. So erfordert eine adäquate Prozessanpassung bei industrieller Produktion Expertenwissen oder die Flexibilität von Handwerksbetrieben, was den Markteintritt von KMUs mit konkurrenzfähigen Prozessabläufen erschwert. Maßgeschneiderte Caseinfractionen aus rekombinanter Erzeugung könnten branchenübergreifend den Aufwand komplexer Verarbeitungsabläufe reduzieren. 35% der produzierten Milch (entspricht 261 Mio. t jährlich) werden letztendlich als (funktionaler) Zusatzstoff in anderen Produkten verwendet. Es wird erwartet, dass Caseine aus der Precision Fermentation insbesondere in diesen Anwendungsfeldern Caseinmizellen aus Milch graduell substituieren könnten. Die Preise für Casein betragen derzeit ca. 10 €/kg, was mit industriell, rekombinant hergestellten Proteinen wie Cellulasen aus Trichoderma vergleichbar ist. Eine Machbarkeitsstudie berichtet bereits, dass die rekombinante Herstellung von bovinem α -Lactalbumin in E. coli für die verwendeten Rohstoffe wirtschaftlich sinnvoll sein kann.

Um Abhängigkeiten und Nachteile für kleine und mittelständische Unternehmen zu vermeiden, sollte die Forschung und Anwendung dieser Caseine öffentlich zugänglich sein. Bisher fehlen jedoch effiziente mikrobielle Produktionssysteme und etablierte Verfahren für die rekombinante Herstellung von Caseinen. Ein wichtiges Teilziel ist, durch gezielte Publikation die Patentsituation und eine evtl. Monopolentstehung in der Zukunft für KMUs positiv zu beeinflussen. Hierzu soll eine grundlegende Wissensbasis von sowohl der rekombinanten Herstellung und Aufreinigung als auch der für eine Lebensmittelanwendung relevanten Charakterisierung von isolierten rekombinanten Caseinen generiert werden. Die Ermittlung kolloidaler Eigenschaften und Wechselwirkungen daraus ableitbarer Caseinfractionen unterschiedlicher Zusammensetzung ermöglicht es, neue Produkt- und Produktionszweige belastbar bewerten zu können. Weiterhin soll hierdurch die Hürde reduziert werden, eine eigene Produktentwicklung auf Basis rekombinanter Inhaltsstoffe durchzuführen und frühzeitig, auch bereits vor einer Zulassung in der EU, Planbarkeit ermöglicht werden.

Weiteres Informationsmaterial

Technische Universität München - School of Life Sciences
Professur für Cellular Agriculture
Gregor-Mendel-Straße 4, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-5130
E-Mail: marius.henkel@tum.de

Technische Universität München - School of Life Sciences
Forschungsdepartment Life Science Engineering
Professur Food Process Engineering
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71-4205
Fax: +49 8161 71-4384
E-Mail: petra.foerst@tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 125, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Förderhinweis

... ein Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages



Das o. g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird/wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Bildnachweis - Seite 1: © Toh Kheng Guan - stock.adobe.com #8412359

Stand: 3. November 2025