

**acib****Austrian Centre of Industrial Biotechnology****Programme: COMET – Competence Centers for Excellent Technologies****Programme line: K2-Centres****COMET subproject, duration and type of project:****Engineering of protein secretion in *Pichia pastoris*, [01/2010 – 12/2015], multi-firm****[Neu entdeckter Stoffwechsel bescheinigt Hefe evolutionären Vorteil]**

ForscherInnen des acib und der BOKU haben einen neuen Stoffwechselweg entdeckt, der die Zellbiologie rund um die Biotech-Hefe *P. pastoris* maßgeblich verändert. Doppelte Genkopien sichern demnach das Überleben in Umgebungen, wo nur Methanol als Nahrung vorhanden ist. Der nun aufgeklärte Stoffwechsel ähnelt jenem, den Pflanzen für das Verwerten von Kohlendioxid verwenden.

**Introduction**

Hefe ist der am längsten von Menschen genutzte Mikroorganismus der Welt. Brot, Bier, Wein – all das gäbe es ohne Hefearten wie *Saccharomyces cerevisiae* (unsere Bäckerhefe) nicht. Aus der Biotechnologie ist Hefe als Zellfabrik nicht mehr wegzudenken. Wertvolle Produkte vom Enzym bis zu pharmazeutischen Wirkstoffen werden industriell mit Hefe hergestellt. Die Biotechnologie setzt vor allem auf *Pichia pastoris*.

Wegen ihres langen und vielfältigen Einsatzes gehört Hefe zu den am besten untersuchten Organismen überhaupt. *Pichia pastoris* ist nebenbei ein wissenschaftlich gerne genutzter Modellorganismus zum Untersuchen von Zellstrukturen. Alles schien bekannt – bis heuer. Denn ForscherInnen des Austrian Centre of Industrial Biotechnology (acib) und der Universität für Bodenkultur Wien (BOKU) haben einen neuen Stoffwechselweg aufgeklärt, der die Hefe *Pichia pastoris* einzigartig macht. „Wir konnten zeigen, dass die Annahmen und Modelle, die in den letzten 30 Jahren verwendet wurden, nicht stimmen“, erklärt Prof. Diethard Mattanovich

(BOKU Wien und Leiter des Forschungsfeldes „Systembiologie & Mikrobielles Zellengineering“ beim acib).

**Methanol assimilation in *P. pastoris* by a yet unknown metabolic pathway**

Dabei geht es um Methanol als „Futter“. Hefen wie *Pichia pastoris* sind wie nur wenige Mikroorganismen in der Lage, diesen einfachen Alkohol als Nahrung zu verwerten. Mattanovich: „Zu Nutzen machen sich die Zellen das zum Beispiel, wenn sie in der Natur im Saft von Bäumen wachsen, wo Methanol zugegen ist.“

Die ForscherInnen rund um Projektleiterin Dr. Brigitte Gasser entdeckten erstaunliche Ähnlichkeiten mit Pflanzen. Diese verwenden Kohlendioxid (CO₂) als Nahrung und verwerten das Klimagas in Zellorganellen namens Chloroplasten. Letztendlich wird CO₂ zu Biomasse. *Pichia* arbeitet ähnlich: Die Hefe setzt Methanol, das so wie CO₂ aus einem Kohlenstoffatom besteht, in einer Zellorganelle namens Peroxisom um. Entscheidend bei beiden Prozessen sind die Knüpfung von Bindungen zwischen Kohlenstoffatomen und die Umlagerung in Zucker und andere Substanzen, die für den Aufbau der Biomasse notwendig sind. „Bisher wusste man nicht, wo in der Zelle und mittels welcher Gene

diese Umlagerungen ablaufen“, so Brigitte Gasser.

Ebenso wenig wusste man um die genetische Codierung dieses Stoffwechsels. Die meisten Zellen verfügen über ein Gen pro Protein und Schritt im Stoffwechsel. *Pichia* liegt evolutionär auf der sicheren Seite. Alle Gene für den Methanol-Umsatz sind doppelt vorhanden, haben die 13 ForscherInnen um Mattanovich und Gasser herausgefunden, die am Forschungsprojekt beteiligt waren. Die Gene verfügen nicht nur über eine genetische Zusatzinformation, damit die entsprechenden Reaktionen im Peroxisom ablaufen. Sie werden erst aktiv, wenn Methanol als Nahrungsquelle vorhanden ist. (Abb. 1)

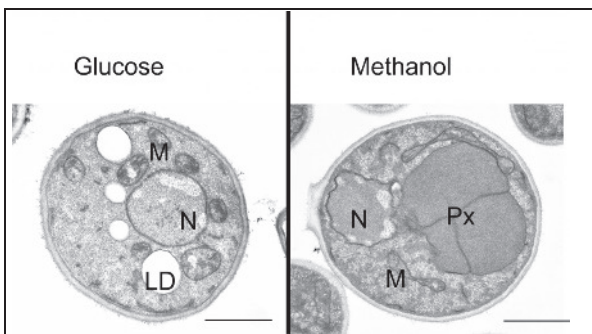


Fig. 1: Elektronenmikroskopie von *P. pastoris* auf Glucose und Methanol. N, Nucleus; M, Mitochondrien; LD, Lipidtropfen; Px, Peroxisom. Maßstab: 1 µm

Impact and effects

Für diese Entdeckungen haben die ForscherInnen auf den gesamten Datenfundus zurückgegriffen, der bei biotechnologischer Verbesserungen von *Pichia pastoris* am acib und an der BOKU in den letzten Jahren entstanden ist. Die Arbeit zeigt also, wie das Interpretieren großer

Datenmengen neue Erkenntnisse zulässt. „Die Interpretation unserer systembiologischen Daten revolutioniert das Verständnis der Zellbiologie rund um *Pichia pastoris*“, freut sich Brigitte Gasser über das neue Wissen um Lebensvorgänge auf unserer Erde.

Die neuen Erkenntnisse werden sich längerfristig auf die industrielle Produktion auswirken. Die Industrie benötigt für die gezielte Genexpression und Biotech-Produktion steuerbare Promotoren. Der nun aufgeklärte Stoffwechsel eröffnet neue Möglichkeit in der gezielten Steuerung der Bioproduktion mit Hilfe von *P. pastoris*.

Die Arbeit wurde kürzlich im renommierten Journal *BMC Biology* veröffentlicht. Die Ergebnisse belegen die Vorreiterrolle der Wiener ForscherInnen, wenn es um die Biotech-Hefe *Pichia pastoris* geht.

Systems-level organisation of yeast methylotrophic lifestyle, Rußmayer et al. 2015. *BMC Biology* 13:80

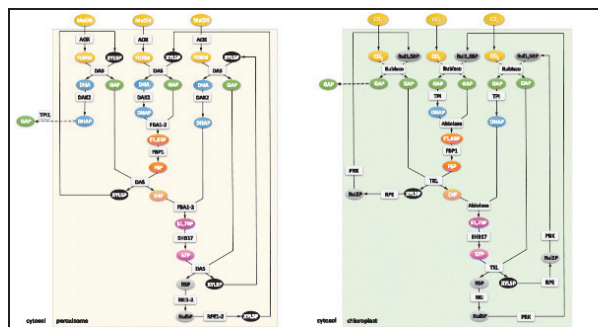


Fig. 2: Regeneration von Pentosephosphatasen. Links: Methanolabbau im Xylulose-Monophosphat-Zyklus, Rechts: Neuordnung entsprechend dem Calvin-Zyklus

Kontakt and Information

K2-Centre acib, Muthgasse 11, 1190 Wien, www.acib.at
 Department of Biotechnology, BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences Vienna
Project coordinator: Diethard Mattanovich, diethard.mattanovich@boku.ac.at

Project partners

| Organisation | Country |
|----------------------------|-------------|
| Biocrates Life Sciences AG | Austria |
| Biomin Holding GmbH | Austria |
| Boehringer Ingelheim RCV | Austria |
| Lonza AG | Switzerland |
| Sandoz GmbH | Austria |
| VTU GmbH | Austria |
| TU Graz | Austria |

Further information on COMET – Competence Centers for Excellent Technologies: www.ffg.at/comet

This success story was provided by the consortium leader/centre management for the purpose of being published on the FFG website. FFG does not take responsibility for the accuracy, completeness and the currentness of the information stated.