

# Proteine aus Hefen: hohe Qualität zu erschwinglichen Preisen



Dipl. Ing. FH Christian Meier,  
wissenschaftlicher Assistent,  
christian.meier@zhaw.ch

Mit genetisch veränderten Hefen können einfache bis sehr komplexe Proteine effizient produziert werden. Diese wurden bisher aus tierischem oder pflanzlichem Material isoliert oder sehr aufwendig mit Säugerzellen hergestellt. Die neuartigen Produktionsorganismen sind befähigt, Zuckerstrukturen am Zielmolekül anzulagern, die den menschlichen sehr ähnlich sind. Bei geeigneter Prozessführung wird ein zu mehr als 90% homogen glykosyliertes Protein in Mengen von mehreren Gramm pro Liter ausgeschieden.

Die Hefe *Pichia pastoris* wurde in den letzten Jahrzehnten aufgrund der verbesserten Wirksamkeit oder erhöhten Aktivität der Produkte, deren konsistente und gesundheitlich unbedenkliche Qualität sowie der stark reduzierten Entwicklungs- und Produktionskosten zu einer Plattform für die Herstellung innovativer Medikamente und Biokatalysatoren weiterentwickelt. Die vor kurzem im Stoffwechsel der Hefen erfolgreich modifizierte Glykosylierung ermöglicht erstmals die Herstellung von Therapeutika mit einer gewünschten Zuckerstruktur, welche die Funktionalität, Stabilität und Immunogenität eines rekombinanten Proteins bestimmt.

## Bioprozesstechnologie an der Schnittstelle zur Molekularbiologie

Aufbauend auf der ZHAW-Expertise in mikrobieller Physiologie, wurden in Zusammenarbeit mit renommierten Partnern im Gebiet der Molekularbiologie (Abb. 1) Strategien für biotechnologische Prozesse mit *Pichia* etabliert, die es ermöglichen:

- die molekulare Konstruktion des Stammes und die biotechnologische Prozessführung gegenseitig optimal den Eigenschaften des Produktmoleküls anzupassen und dessen Produktivität bei gleichzeitig unbeeinträchtigter Physiologie der Zellen zu steigern (Abb. 2);
- bei der Durchführung von Hochleistungsprozessen bisher unumgängliches, jedoch unerwünschtes Methanol durch den Einsatz synthetischer Promotoren zu ersetzen;
- Konstrukte, in denen mehrere fremde Gene gleichzeitig eingebaut wurden, auszubalancieren, um Proteine mit komplexen

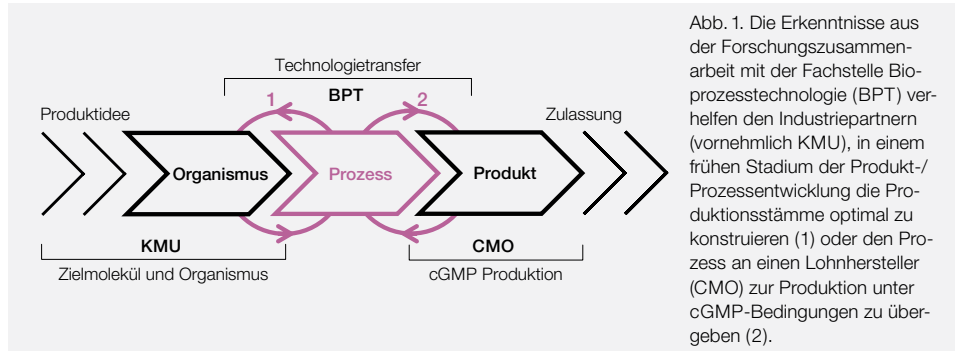


Abb. 1. Die Erkenntnisse aus der Forschungszusammenarbeit mit der Fachstelle Bioprozesstechnologie (BPT) verhalfen den Industriepartnern (vornehmlich KMU), in einem frühen Stadium der Produkt-/Prozessentwicklung die Produktionsstämme optimal zu konstruieren (1) oder den Prozess an einen Lohnhersteller (CMO) zur Produktion unter cGMP-Bedingungen zu übergeben (2).

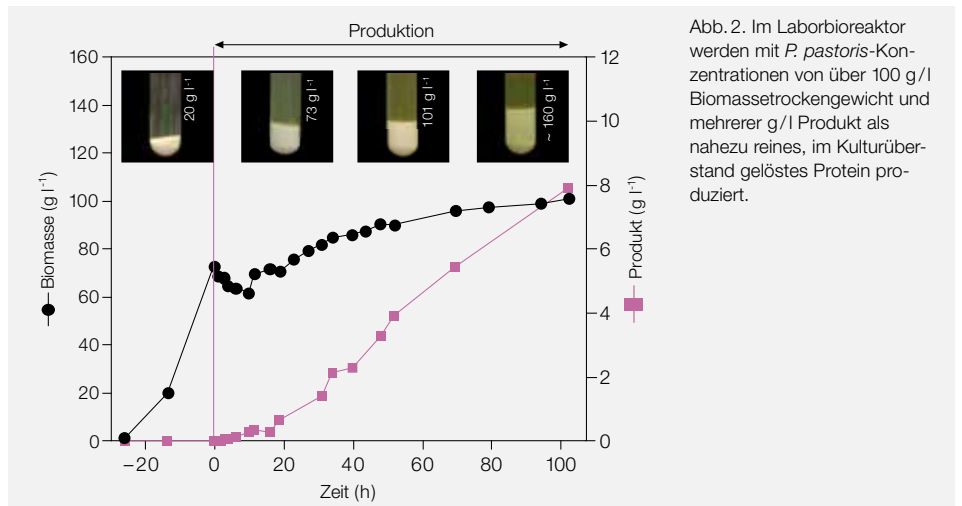


Abb. 2. Im Laborbioreaktor werden mit *P. pastoris*-Konzentrationen von über 100 g/l Biomassetrockengewicht und mehrerer g/l Produkt als nahezu reines, im Kulturüberstand gelöstes Protein produziert.

Modifikationen reproduzierbar in erwünschter Qualität herzustellen (Abb. 3).

## Ausblick: neue bezahlbare Therapien

*Pichia* ist mittlerweile das meistverwendete System zur Herstellung funktionaler Proteine für Forschungszwecke. Aus der rasanten Entwicklung in der Glykobiologie von *Pichia*- sowie *Yarrowia*-Hefen entsteht das Potenzial, die Herstellungspraxis von Therapeutika zu verändern sowie deren astronomischen Preisen entgegenzuwirken.

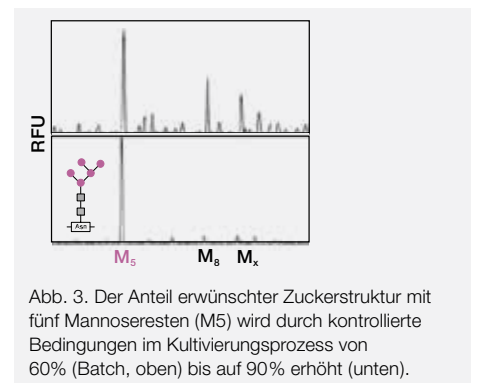


Abb. 3. Der Anteil erwünschter Zuckerstruktur mit fünf Mannoseresiden (M<sub>5</sub>) wird durch kontrollierte Bedingungen im Kultivierungsprozess von 60% (Batch, oben) bis auf 90% erhöht (unten).

## Forschungsprojekt

### Advances in Industrial Biotechnology of Yeasts (AIBY)

Leitung:	Prof. Dr. Karin Kovar und MSc Verena Looser
Projektdauer:	seit 2002
Förderung:	KTI LSPP-LS 7403.3, 8599.1 und 9647.1 sowie Eureka E! 3415