BI(U)SY Pichia

Kaskadenproduktion für bidirektionale Promotorsyteme in P. pastoris

Programm / Ausschreibung	Bridge, Bridge_NATS, Bridge_NATS 2019	**Status**	abgeschlossen
Projektstart	11.01.2021	**Projektende**	31.03.2024
Zeitraum	2021 - 2024	**Projektlaufzeit**	39 Monate
Keywords	Continuous Biomanufacturing, Pichia pastoris, PAT, bidirectional promotor systems		

Projektbeschreibung

Der Großteil der heutzutage produzierten technischen Enzyme und Biopharmazeutika werden in klassischen Batch oder Fed Batch Verfahren hergestellt. Das führt generell zu hohen Variationen in der Produktqualität zwischen verschiedenen Batches und oftmals auch zu Verlusten der gesamten Charge. Damit einhergehend sind hohe Anschaffungskosten für die Reaktorsysteme, welche im Regelfall bis zu 100 m3 groß sind. Oftmalige Reinigung mit Laugen und Sterilisation nach jedem Batch bringen hohe Energiekosten und eine nicht zu unterschätzende Umweltbelastung mit sich. Daher bedarf es eines Paradigmenwechsels in der biotechnologischen Industrie hin zu kontinuierlicher Produktion von Enzymen und Wirkstoffen, wie es z.B. in der petrochemischen Industrie schon seit langer Zeit praktiziert wird.
Kontinuierliche Systeme wurden bis dato nur bei tierischen Zellkulturen erfolgreich getestet, aber haben sich industriell noch nicht durchgesetzt. Mikrobielle Systeme, wie E. coli, leiden an einem irreversiblen Produktionseinbruch stammabhängig nach 3-4 Tagen Induktion und Wachstum in einem Reaktor. Zwei Reaktoren Systeme wurden im kleinen Maßstab für E. coli getestet und brachten durch die Entkopplung von Biomasseproduktion und Induktion erstmals die Möglichkeit mit E. coli im kontinuierlichen Betrieb langanhaltende Produktivität zu gewährleisten. Diese sogenannten Kaskadensysteme ermöglichen nicht nur die Entkopplung von Biomasseproduktion und Induktion, sondern machen Induktion von verschiedenen Genen im selben Host in reaktoraufgeköst/ ortsaufgelöst realisierbar. Im Projekt BI(U)SY Pichia wollen wir die Vorteile der Kaskadensysteme, welche an der TU Wien für E. coli etabliert wurden auf die methylotrophe Pichia pastoris anwenden und deren Vorteile nutzen. Die bidirektionale Expressionsysteme von BISY GmbH. liefern die perfekten Voraussetzungen, um kontinuierliche Kaskadensysteme auf Basis von P. pastoris mit mindestens zwei Reaktoren zu verwirklichen.

Abstract

Most biopharmaceutical and technical enzymes are manufactured in classical batch or fed batch-based cultivation systems. This results in high batch to batch variations and renders difficulties for the downstream. Furthermore, reactor setup is expensive and sterilization and sanitization with base is not only energy consuming but also harmful to the environment. While continuous cultivation is already established in many branches of chemistry, biotechnology is still far away from being industrially established. Based on that a paradigm change is required to introduce broad application of continuous culturing into biotechnology and biochemical engineering.

Up to date only a few systems exploit continuous culturing methods, most of them situated in mammalian cell culture. Microbial systems – especially E. coli – suffer from irreversible breakdown in productivity after 3-4 days of induction. Therefore, we established a cascaded working two reactor system, which can be operated in spatially separated biomass production and induction. With this strategy we were able to ensure constant productivity over a period of at least two weeks of induction with E. coli. The generated knowledge should be transferred to P. pastoris within the project BI(U)SY Pichia. We want to combine the benefits of the yeast host using bidirectional promotor systems supplied by BISY GmbH. with the benefits of the cascade culturing system. In using the bidirectional systems in the cascade, we will be able to spatially resolve the production of different genes of interest and enable a stable continuous production platform for P. pastoris.

Projektkoordinator

- Technische Universität Wien Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und technische Biowissenschaften

Projektpartner

- bisy GmbH