



## Lipidpartikel der Zelle – nur Speicherkompartimente?

### *Lipid Particles of the Cell – only Storage Compartments?*

In allen eukaryotischen Zellen werden Neutrallipide -hauptsächlich Triglyceride und Sterylester- in so genannten Lipidpartikeln (LP) gespeichert. Die Neutrallipide bilden dabei einen hydrophoben Kern, der von einer Phospholipidmonoschicht umgeben ist, in welche wenige Proteine eingebettet sind (Abb. 1). Die in LP gespeicherten Neutrallipide dienen der Zelle als Energiereserven und/oder als „Lager“ für Moleküle, die für den Aufbau von Membranlipiden benötigt werden. Ursprünglich nahm man an, dass LP ausschließlich der Lipidspeicherung dienen. Dieses Bild musste jedoch korrigiert werden, da inzwischen eine Vielzahl der LP-Proteine als aktive Teilnehmer am Lipidstoffwechsel identifiziert werden konnten.

Schon während meiner Dissertation beschäftigte ich mich mit der Charakterisierung der LP der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*, einem beliebten Modellorganismus in der Grundlagenforschung. Bei der Analyse des LP-Proteoms der Hefe wurden die Hauptproteine dieses Kompartiments identifiziert<sup>1</sup>. Unter diesen Proteinen befanden sich eine Reihe bereits charakterisierter Enzyme aber auch solche mit unbekannter Funktion. Da alle bereits charakterisierten LP-Proteine am Lipidstoffwechsel beteiligt waren, legte dies nahe, dass auch die uncharakterisierten Proteine dieses Kompartiments eine Rolle im Lipidmetabolismus spielen. Eines dieser uncharakterisierten Proteine konnte ich als 1-Acyldihydroxyacetonphosphate Reduktase identifizieren<sup>2</sup>. Dieses Enzym ist an der Biosynthese von Phosphatidsäure beteiligt, einem Schlüsselmolekül für die Synthese aller Glycerophospholipide (Membranlipide). Die Deletion eines anderen uncharakterisierten LP-Proteins führte zu einem stark erhöhten Triglyceridgehalt in der Mutante verglichen mit einem Wildtypstamm. Biochemische Analysen zeigten, dass dieses Polypeptid, genannt Tgl3p, eine Triglyceridlipase ist<sup>3</sup>, d.h. ein Enzym, das Triglyceride abbaut. Tgl3p war das erste Enzym dieser Art, welches in Hefe identifiziert werden konnte. Inzwischen habe ich noch zwei weitere LP-Proteine, Tgl4p und Tgl5p, als Triglyceridlipasen identifiziert<sup>4</sup>. Die drei Triglyceridlipasen unterscheiden sich zum Teil in ihren Fettsäurespezifitäten und decken gemeinsam ein breites Substratspektrum ab. Diese Hefe-Lipasen sind zueinander homolog und bilden eine Lipase-Familie, welche inzwischen mit Triglyceridlipasen aus Säugetierzellen, der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* und der Pflanze *Arabidopsis thaliana* ergänzt wurde. Einen weiteren Schwerpunkt meiner Forschung stellt die Charakterisierung der LP der Hefe *Yarrowia lipolytica* dar. Diese Hefe wird auf Grund ihrer Fähigkeit große Mengen an Triglyceriden zu speichern in industriellen Prozessen zur Einzeller-Öl-Produktion

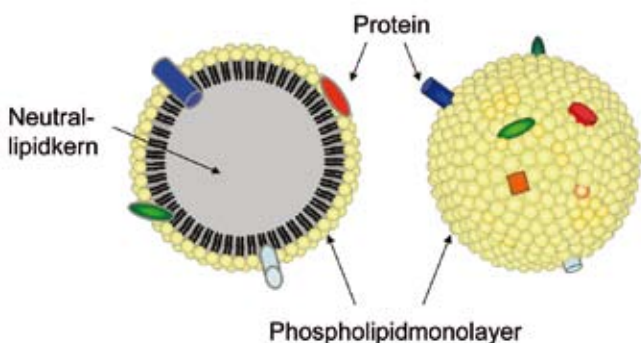


Abb. 1: Strukturmodell der Lipidpartikel. Der hydrophobe Neutrallipidkern ist von einer Phospholipidmonoschicht umgeben, in welche wenige Proteine eingelagert sind.

eingesetzt. Obwohl Triglyceride in LP gespeichert werden, war nur wenig über dieses Kompartiment in *Yarrowia lipolytica* bekannt. Die Analyse der LP dieser Hefe umfasste die Bestimmung der Größe, der Lipidzusammensetzung und des Proteoms unter verschiedenen Wachstumsbedingungen<sup>5</sup>. Es zeigte sich, dass ein Großteil der Proteine der LP von *Yarrowia lipolytica* homolog zu jenen des LP-Proteoms von *Saccharomyces cerevisiae* ist, und weiters, dass die Zusammensetzung der LP durch das Nährmedium beeinflusst werden kann. Dieses Wissen kann in Zukunft einer besseren Nutzung dieser Hefe in industriellen Prozessen dienen.

#### Zu meinem Werdegang

Ich begann an der TU Graz mit dem Studium der Technischen Chemie und wählte für den 2. Studienabschnitt den Studienzweig Biotechnologie, Biochemie und Lebensmittelchemie. Meine Diplomarbeit sowie meine Dissertation verfasste ich am Institut für Biochemie. Im Jahr 2001 erhielt ich ein Hertha-Firnberg Stelle des österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF) und führte die Arbeiten zu meinem Projekt am Institut für Biochemie durch. 2003 erhielt ich ein Stipendium für einen Forschungsaufenthalt in Frankreich, wo ich mich mit der Charakterisierung der Lipidpartikel der Hefe *Yarrowia lipolytica* zu beschäftigen begann. Im November 2006 wurde meine Forschungsarbeit mit dem HP Kaufmann Preis der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaften ausgezeichnet.

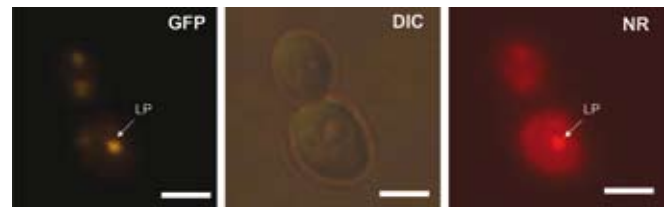


Abb. 2: Die Triglyceridlipase Tgl4p lokalisiert auf Lipidpartikeln. Ein Fusionsprotein von Tgl4p mit einem grün fluoreszierenden Protein (GFP) befindet sich auf Lipidpartikeln (LP) wie durch gleichzeitige Färbung mit dem lipophilen Farbstoff Nile Red (NR), der spezifisch Lipidpartikel anfärbt, gezeigt ist. In der Mitte ist die entsprechende Hefezelle im Durchlicht abgebildet (DIC). Balkengröße: 5 µm.

### *Lipid Particles of the Cell – only Storage Compartments?*

*During the last decade, the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris*, has become a major eukaryotic host for recombinant protein production in both academic and industrial research. Up to now the expression of more than 500 proteins has been reported. One major reason for the success of this yeast as an expression system is the inducible promoter of its alcohol oxidase I (AOX1) gene. Its key features include an exceptional expression strength as well as a very strong glucose repression.*

*By computational sequence analysis I identified several putative cis-acting elements within the AOX1 promoter sequence. Based on this sequence analyses, we performed deletion studies and identified both, positively and negatively acting promoter elements. Consequently, these elements were tested by adding them to basal promoter elements and finally they were rearranged to generate synthetic and hybrid promoter libraries with different expression levels and regulation patterns.*

*This particular promoter library can be used to adapt promoter regulation and strength for recombinant protein production and moreover represents a novel toolbox for fine-tuning genetic control of genes used for metabolic engineering.*

<sup>1</sup> Athenstaedt K, Zwegli D, Jandrositz A, Kohlwein SD, Daum G. (1999) J. Bacteriol. 181: 6441-6448

<sup>2</sup> Athenstaedt K, Daum G. (2000) J. Biol. Chem. 275: 235-240

<sup>3</sup> Athenstaedt K, Daum G. (2003) J. Biol. Chem. 278: 23317-23323

<sup>4</sup> Athenstaedt K, Daum G. (2005) J. Biol. Chem. 280: 37301-37309

<sup>5</sup> Athenstaedt K, Jolivet P, Boulard C, Zivy M, Negróni L, Nicaud J-M, Chardot T. (2006) Proteomics 6: 1450-1459