

Eine Vision wird Wirklichkeit

Biomoleküle vom Band

Biomoleküle – Proteine und Enzyme – sind in unserer Gesellschaft allgegenwärtig: im lebensnotwendigen Insulin für Diabetiker oder in Impfstoffen, die vor Infektionen schützen, ebenso wie im Waschmittel, wo das Enzym dafür sorgt, dass unsere Wäsche »blütenweiß« wird. Biomoleküle werden industriell hergestellt und spielen eine wichtige Rolle in unserem Leben – funktional und ökonomisch. Ihre Gewinnung erfolgt in zellbasierten Systemen. Dieses meist auf gentechnisch manipulierten Zellkulturen basierende Produktionsverfahren verbraucht sehr viel Energie – den größten Teil, um die Zellen am Leben zu halten. Nur ein kleiner Teil wird für die Produktion der Zielproteine aufgewendet. Ein weiterer Nachteil: Die Zellen sterben schon nach sehr kleinen Herstellungsmengen, z. B. von Zytostatika, ab. Damit sind viele pharmakologisch interessante Proteinklassen nicht adressierbar. Gleichzeitig ist das weitere Entwicklungspotenzial dieser Produktionsverfahren zur Ertragssteigerung weitestgehend ausgeschöpft.

Automatisierbare zellfreie Bioproduktion

Neue Wege eröffnet die zellfreie Bioproduktion. Die Technologie rückt die Vision einer Herstellung pharmakologisch relevanter Proteine wie Membranproteine im industriellen Maßstab in greifbare Nähe. Komplexe Proteine, deren Synthese in zellbasierten Systemen nicht möglich ist, konnten mithilfe der zellfreien Bioproduktion bereits hergestellt werden. Zudem ist eine zellfreie Bioproduktion deutlich ressourcenschonender: Für die Aufrechterhaltung des Zellstoffwechsels wird weder Energie verschwendet noch werden für die zellfreien Produktionsprozesse lebende Zellen verbraucht. Lediglich die Zellmaschinerie, also die Werkzeuge der Zelle, kommen zum Einsatz. Mithilfe des Bauplans des gewünschten Proteins, der DNA, kann diese Zellmaschinerie das Protein synthetisieren. Der große Vorteil dieser Methode gegenüber zellbasierten Verfahren: Das offen zugängliche, kontrollierbare und manipulierbare System kann automatisiert werden.

Während des Syntheseprozesses können gezielt Substanzen zum Reaktionsansatz hinzu dosiert werden. Damit kann im Gegensatz zum zellbasierten System sichergestellt werden,

dass die Substanzen direkt den Ort der Synthese erreichen. Bisher wurden die Proteinausbeuten maßgeblich durch die verwendeten Zellen bestimmt und limitiert. Eines der Hauptziele der zellfreien Proteinsynthese liegt darin, die Ablaufsysteme in den Zellen ganzheitlich zu verstehen, zu charakterisieren und letztlich nachzubauen. Mit einer zellfreien Proteinproduktion erhoffen sich die Wissenschaftler, die Ausbeute um ein Vielfaches zu erhöhen. Außerdem sind so relevante Proteine wie z. B. Toxine herstellbar. Und zu guter Letzt besitzt das Endprodukt einen höheren Reinheitsgrad, weil es nicht durch Zellbestandteile kontaminiert ist.

Vom Labormaßstab in die industrielle Produktion

Die bisherige Forschungsstrategie in der zellfreien Biologie basierte meist auf der heuristischen Methode des »trial and error«. Inzwischen sind die biologischen Erkenntnisse in der zellfreien Biologie so weit vorangeschritten, dass innovative Ideen zur Umsetzung in die skalierte robuste Produktion gefragt sind. Dieser Schritt wirft aber neue Fragen auf, die bisher nur ansatzweise beantwortet sind. Die zellfreie Bioproduktion soll den Schritt vom Labormaßstab in die industrielle Produktion gehen. Das vom BMBF geförderte Fraunhofer-Leitprojekt »Zellfreie Bioproduktion« begegnet den damit verbundenen Herausforderungen mit einer einzigartigen Bündelung fachlicher Expertise aus den Fachbereichen Mikrosystemtechnik, Mikroelektronik, Automatisierung, Kybernetik, Zell- und Molekularbiologie. Aus der Zusammenarbeit dieser Disziplinen ergeben sich Potenziale und Synergien, die die zellfreie Bioproduktion entscheidend vorantreiben werden. Die wichtigsten Aufgaben für den Schritt aus dem Labormaßstab in die industrielle Produktion liegen vor allem im Upscaling, der Automatisierung der manuellen biologischen Prozesse, der Messtechnik und der damit verbundenen Regelung. Für all diese Aufgaben können nur adäquate Lösungen gefunden werden, wenn grundlegende biologische Fragestellungen geklärt werden können. So muss beim Upscaling beispielsweise beachtet werden, in welchen Volumina die Synthesen optimal verlaufen. Auf Basis dieser Erkenntnisse kann eine Hochskalierung durch Parallelisieren klein- bis mesoskaliger

Reaktoren oder durch die Entwicklung eines großskaligen Reaktors erfolgen. Die verwendete Messtechnik muss nicht nur auf die entsprechenden Skalen angepasst werden, sondern auch kompatibel zu den verwendeten Substanzen sein. Für eine Regelung des biologischen Systems ist dessen Charakterisierung notwendig. Nur wenn der Stoffwechsel des Systems bekannt ist, kann eine Regelung aufgesetzt werden. So werden multilateral die Optimierung der biologischen Prozesse und die Entwicklung benötigter und auf die Biologie angepasster Sensoren vorangetrieben. Zudem soll eine modulare Automatisierung die Robustheit und Vergleichbarkeit der Versuche weiter in Richtung standardisiertem Produktionsprozess vorantreiben. Die Hochskalierung vom Labormaßstab zum Industriemaßstab erfordert die Evaluierung verschiedener sowohl biologischer als auch technischer Parameter.

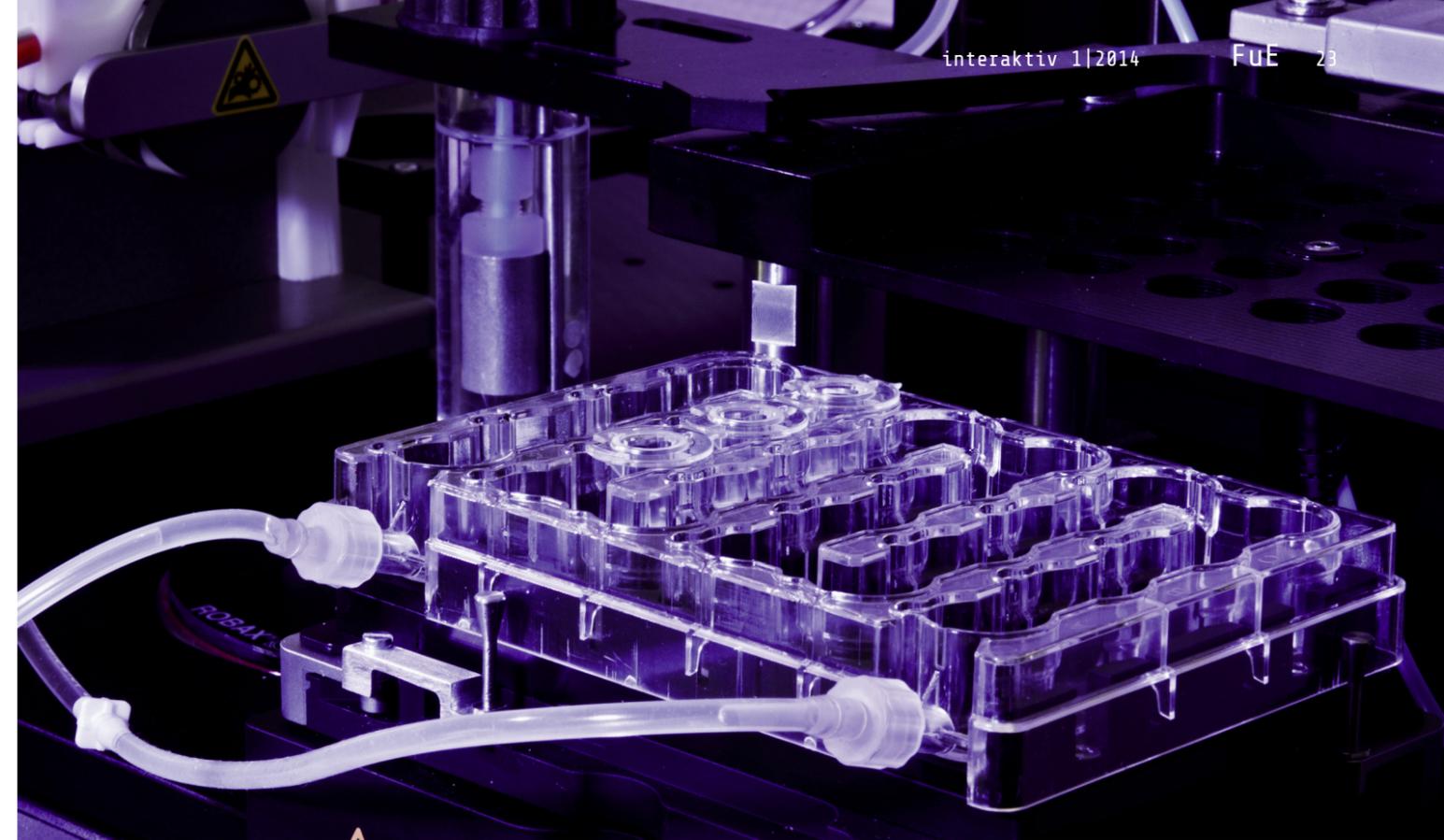
Biologische und technische Kenngrößen der Ablaufsysteme in den Zellen

Um Proteine und Enzyme im industriellen Maßstab zellfrei herstellen zu können, muss jedes neue Protein und jede neue Zellmaschinerie eine Evaluierung durchlaufen. Mit dieser Evaluierung sollen die biologischen Systeme so weit charakterisiert werden, dass eine entsprechende Regelung darauf angepasst werden kann. Diese Charakterisierung soll kostengünstig, parallelisiert und in kleinen Volumina ablaufen.

Die eigentliche Produktion findet nach der Charakterisierung im geregelten Reaktor statt. Eine derartige Online-Evaluations-Plattform wurde am Fraunhofer IPA entwickelt und aufgebaut. Die Plattform wurde in enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern so entwickelt, dass man wichtige Informationen für die Charakterisierung des prozessierten biologischen Systems als Ergebnis erhält. Die Prozessierung erfolgt weitestgehend ohne das Zutun eines Experimentators, wodurch manuelle Prozessfehler vermieden werden.

Des Weiteren wurde am Fraunhofer IPA ein erster Reaktor für die zellfreie Proteinproduktion entworfen und aufgebaut. Mit dem Reaktor finden Versuche zur Regelung zweier wichtiger Parameter, pH-Wert und Sauerstoffgehalt, statt. Das Reaktor-konzept basiert darauf, dass der eigentliche Synthesansatz durch eine Membran von der Lösung der Ausgangssubstanzen, die in der Reaktion verbraucht werden, getrennt ist. Dieser sogenannte Feeding-Buffer umströmt aktiv die Membran und versorgt den Synthesansatz über den durch die Membran stattfindenden Austausch mit notwendigen Stoffen. Die Messung und Regelung von pH-Wert und Sauerstoffgehalt erfolgt im Feeding-Buffer.

Karin Seyfert, Wissenschaftlerin am Fraunhofer IPA, etabliert eine automatisierte zellfreie Synthese mit der Evaluationsplattform.
(Quelle: Fraunhofer IPA)



Die passive Versorgung mit Nährstoffen im am Fraunhofer IPA entwickelten Continuous-Cross-Flow-Bioreaktor für die geregelte Proteinsynthese.
(Quelle: Fraunhofer IPA)

Aufgrund der gesellschaftlichen Bedeutung und ökonomischen Tragweite dieses Forschungsthemas wurde das Fraunhofer-Verbundprojekt zum Leitprojekt erhoben. Der Erfolg des Projekts in den ersten drei Jahren, aber auch seine weiterreichenden neuen Fragestellungen zeigten bereits Wirkung: So wecken die guten Ergebnisse zunehmend das Interesse der Industrie an der Technologie der zellfreien Bioproduktion. Dank der guten interdisziplinären Kooperation und des Engagements der beteiligten Wissenschaftler steht die zellfreie Bioproduktion vor dem Durchbruch. Die Vision von Biomolekülen vom Band ist in greifbare Nähe gerückt.

Kontakt

Dipl.-Phys. Karin Seyfert
Telefon +49 711 970-1065
karin.seyfert@ipa.fraunhofer.de

Dipl.-Phys. Mario Bott
Telefon +49 711 970-1029
mario.bott@ipa.fraunhofer.de

Dipl.-Ing. (FH) Tobias Brode MBE
Telefon +49 711 970-1257
tobias.brode@ipa.fraunhofer.de

Im Leitprojekt »Zellfreie Bioproduktion« entwickeln die 7 Fraunhofer-Institute IBMT, IGB, IME, IPA, IPK, ISI und ISIT gemeinsam mit der Zentrale der Fraunhofer-Gesellschaft eine alternative Technologie-Plattform zur konventionellen Herstellung von Proteinen in Zellkulturen.

Das Fraunhofer-Leitprojekt startete im Oktober 2010 und wird mit 6 Mio Euro aus eigenen Mitteln gefördert.

Seit März 2011 wird das Projekt vom Bundesministerium für Bildung und Forschung im Strategieprozess »Biotechnologie 2020+« mit weiteren 15 Mio Euro unterstützt.



Zelltherapie für jedermann

Ansätze zur personalisierten Produktion von Zelltherapien



Individuelle optische Qualitätskontrolle jeder Produktionscharge.

Therapien, individuell auf den jeweils Einzelnen abgestimmt, sind nicht nur wünschenswert, sie sind auch machbar. Das jedenfalls meinen die Wissenschaftler des interdisziplinär zusammengesetzten Teams der IPA-Abteilung Laborautomatisierung und Bioproduktionstechnik. Wünschenswert, weil Ärzte ihre Patienten gezielter, spezifischer und mit weniger Nebenwirkungen behandeln könnten, womit weitere unnötige Anwendungen hinfällig würden. Machbar – durch neue Automatisierungsstrategien und Schlüsseltechnologien für die Herstellung von Zelltherapeutika. Mit ihrer Behandlung würden erheblich weniger Kosten anfallen. Ein Effekt, der nicht zuletzt die Krankenkassen überzeugen dürfte.

»Die personalisierte Medizin wird in bestimmten Bereichen zunehmend die Standardbehandlung ersetzen«, erwartet Dr. Andrea Traube vom Fraunhofer IPA. Im Studienregister Amerikas, »clinicaltrials.gov«, in das klinische Studien aus aller Welt eingetragen werden, sind derzeit über 490 Studien unter »cell therapy« verzeichnet. Neuartige Arzneimittel auf Basis menschlicher Zellen haben ein großes Potenzial, die Gesundheitswirtschaft weltweit zu revolutionieren.

Bisher gibt es allerdings nur wenige Unternehmen, die eine Marktzulassung für Zelltherapeutika besitzen, darunter Dendreon UK Limited (GB), TiGenex NV (BE), oder Genzyme Europe B.V. (NL). Weitaus mehr Firmen unternehmen große Forschungsanstrengungen, manche stehen an der Schwelle der Kommerzialisierung wie Argos Therapeutics, Athersys und

KBI Biopharma aus den USA oder MolMed (Italien) und Apceth GmbH & Co. KG (D). Ein Teil dieser Zelltherapeutika wird individuell in zumeist kleinen Stückzahlen für seltene Krankheiten hergestellt. Die Herstellung dieser patientenspezifischen, so genannten autologen Zelltherapien erfolgt gegenwärtig größtenteils manuell.

Kostentreiber Reinraum und Personal

Zelltherapeutika werden unter den Richtlinien des Arzneimittelgesetzes (AMG) und des »Good Manufacturing Practice« (GMP) produziert. In der Klinik wird dem Patienten eine Gewebeprobe, z. B. Blut, entnommen. Die Probe wird dann entweder direkt in der Klinik als einfacher Aufreinigungsprozess oder nach dem Transport in einem Unternehmen, welches für die Herstellung des spezifischen Zelltherapeutikums zertifiziert ist, aufbereitet (Herstellungserlaubnis nach §13 des AMG). Die meisten Produktionsschritte erfolgen in Reinräumen. Dabei wird der Herstellprozess von umfangreichen Qualitätskontrollen begleitet, um ein Arzneimittel von höchster pharmazeutischer Qualität zu erhalten. Das geprüfte individuelle Arzneimittel wird schließlich demselben Patienten wieder verabreicht.

Die Herausforderung bei der Verwendung autologer Zellen besteht darin, dass während des Herstellprozesses eine separate Handhabung jeder Produktionscharge erfolgen muss, um eine Kreuzkontamination zwischen Zellchargen verschiedener Patienten zu verhindern. Aus diesem Grund können mehrere

Prozessschritte schwerlich parallel umgesetzt werden. Hochqualifiziertes Personal führt die meisten Arbeitsschritte sowohl in der Herstellung als auch in der Qualitätskontrolle manuell durch. Zu diesem arbeitsintensiven Prozess kommt noch ein hoher Dokumentationsaufwand dazu (s. S. 18–19).

Durch die hohen Kosten der aufwändigen manuellen Produktion ist die Wahrscheinlichkeit groß, dass diese Therapien vorerst einer kleinen Gruppe finanzstarker Patienten vorbehalten bleiben. Die breite Bevölkerung wird erst dann Zugang zu personalisierten Therapien bekommen, wenn Kostenübernahme und Rückerstattung durch die Krankenkassen gesichert sind. Die Voraussetzung dafür ist, dass wirtschaftlich und mit für das Gesundheitssystem akzeptablen Kosten produziert wird. Unternehmen stehen vor dem Dilemma, effizient große Mengen an zugleich individualisierten Therapeutika herstellen zu müssen.

Automatisierte und personalisierte Produktionstechnologien

»Der Einsatz automatisierter Lösungen in der Produktion kann die Kosten erheblich verringern. Erforderlich sind allerdings neuartige innovative Geräte, die den Produktionstransfer für Zelltherapeutika von der Zulassungsphase mit kleinen Stückzahlen zu einer Produktion für den klinischen Einsatz mit großen Stückzahlen leisten«, so die Naturwissenschaftlerin Traube. Dabei müssen durch die Integration von Einzeltechnologien (s. S. 26–27) völlig neuartige, automatisierte Produktionsver-

fahren für personalisierte Zelltherapeutika entwickelt werden. Ansätze sehen die Fraunhofer Wissenschaftler in der Produkthandhabung in definierten Umgebungsbedingungen. Wo in geschlossenen Behältern oder in einem Sterilbereich prozessiert wird, bedarf es keines großen, komplexen Reinraumsystems (z. B. ARS System, Aastrom Biosciences). Durch den Einsatz von intelligenten Geräten und Automationslösungen (z. B. Elutra® Cell Separation System, Terumo BCT) soll zudem der Bedarf an hochqualifiziertem Personal reduziert werden – ein weiterer entscheidender Beitrag zur Kostensenkung. Außerdem kann damit eine erhöhte Reproduzierbarkeit und damit hohe Produktqualität sichergestellt werden.

Die auf dieser Basis entwickelten neuen personalisierten Produktionstechnologien sollen dann der Herstellung von Zelltherapeutika dienen, die Krankheiten wie Krebs, Herzinfarkt, chronische Bein-Ulcera und Hautverbrennungen, Diabetes, Knorpeldefekte, Bandscheibendegeneration oder altersbedingte Knochenschäden und Harninkontinenz heilen helfen. Für diese Anwendungsgebiete gibt es bis heute keine zufriedenstellenden Behandlungsmöglichkeiten.

Kontakt

Dr. rer. nat. Andrea Traube
Telefon +49 711 970-1241
andrea.traube@ipa.fraunhofer.de