

BIOMANUFACTURING

Glykooptimierte Proteine

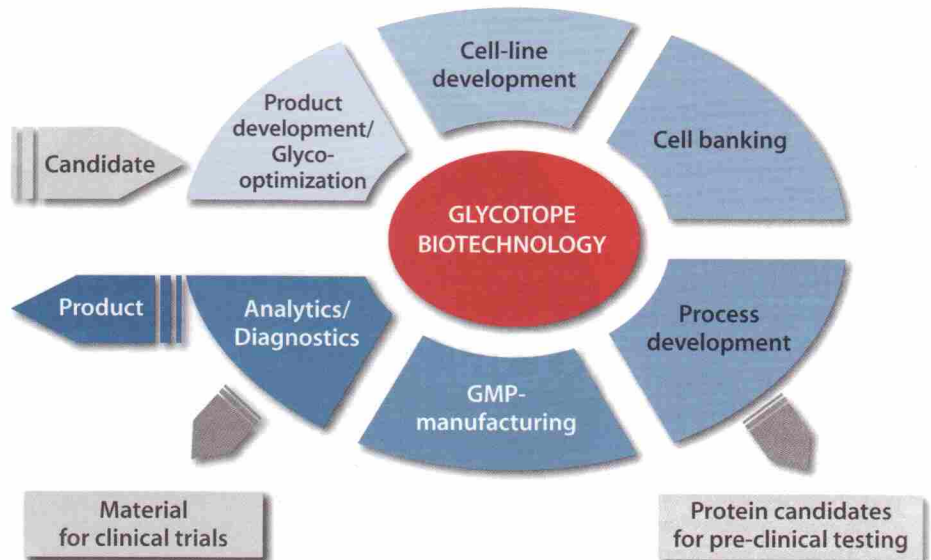
Dr. Hans Baumeister und Dr. Franzpeter Bracht, Berlin, www.glycotope.com

Die Berliner Glycotope GmbH hat mit der in Heidelberg ansässigen Tochterfirma Glycotope Biotechnology einen One-Stop-Shop für die Produktion von Biotherapeutika etabliert. Dies zeigt nicht nur der Kauf und Ausbau der ehemaligen Orpegen GmbH in Heidelberg, sondern auch der Kauf nahezu unbenutzter GMP-Anlagen der insolventen Avesta GmbH (vgl. S. 21). Schwerpunkt des Servicegeschäfts ist die Entwicklung therapeutischer Glykoproteine, etwa Antikörper, inklusive deren Glykooptimierung auf Basis der GlycoExpress™-Technologie. Daneben gibt es immer mehr Anfragen von Entwicklern biogenerischer Produkte, bei denen die mit dem Originator-Produkt identische Glykosylierung die Herausforderung darstellt.

200-fach verbesserte Aktivität

Die Kontrolle der Glykosylierung biotherapeutischer Produkte kristallisiert sich immer mehr als Angelpunkt bei der Entwicklung von Proteintherapeutika heraus. Mit GlycoExpress™ und der Glykooptimierung hat Glycotope eine Plattformtechnologie entwickelt, mit der Proteine kontrolliert nach humanem Muster glykosyliert und verbessert werden können, zum Beispiel in ihrer Bioaktivität, Bioverfügbarkeit, Stabilität und Immunogenität. Dies ist ein Vorteil gegenüber der PEGylierung und anderer Glykooptimierungstechnologien, die jeweils nur einen Aspekt verbessern können. Im Fall von therapeutischen Antikörpern kann sogar die Zahl der Patienten, die erfolgversprechend behandelt werden können, dramatisch erweitert werden. Entscheidend ist die Kombination mit der bei der Glycotope Biotechnology implementierten Perfusions-Produktionstechnologie, die reproduzierbar genau gleiche Glykosylierungsmuster liefert.

Die GlycoExpress™-Technologie beruht auf einem Satz (Toolbox) humaner, glykoengineerter Zelllinien, die sich lediglich in ihrem Glykosylierungsprofil unterscheiden und eine Herstellung des gewünschten Proteins in verschiedenen Glykoformen erlaubt. In Bioassays wird die optimale Glykoform identifiziert. Durch Verwendung der humanen Zelllinien ist das Produkt immer voll human glykosyliert, so dass eine in der Literatur immer häufiger beschriebene Immunogenität auf Grund nicht-



humaner Glykosylierungen in Maus- und Hamsterzelllinien wegfällt. Glycotope entwickelt zurzeit vier Antikörper, deren therapeutischen Aktivitäten durch die Produktion in der GlycoExpress™-Zelllinie FucoFlex um das bis zu 200fache verbessert und die Bioverfügbarkeit deutlich verlängert wird. Der Lead-Antikörper steht kurz vor der klinischen Testung (Q3 2009). Ein anderes Beispiel für eine Glykooptimierung ist die Verbesserung von Art und Grad der Sialylierung eines therapeutischen Glykoproteins. Durch Expression in den GlycoExpress™-Zelllinien SialoFlex und SialoMax konnte – verglichen mit kommerziellen Standards – die Bioaktivität bestimmter Wachstumsfaktoren um ein Mehrfaches erhöht und die Halbwertszeit verlängert werden. Das ermöglicht oft einen neuen Patentschutz.

7.000 Liter-Produktionsprozess

Für die Produktion von Biotherapeutika ist die Entwicklung von Hochexpressionszelllinien von großer Bedeutung. Glycotope kann diesbezüglich auf eine lange Liste erfolgreicher Projekte zurückblicken. Zur Verwendung kommen die GlycoExpress-Zelllinien für die Produktion glykooptimierter Proteine aber auch die in der Produktion üblichen Säugerzelllinien, zum Beispiel für biogenerische Prozesse. Seit einigen Jahren hat Glycotope das ClonePixFL-System von Genetix für verschie-

denen Zelllinien und Produkte etabliert, um Hochexpressionsklone effizienter zu identifizieren und zu klonieren sowie deren Glykosylierungsprofil auf Zellklon-Niveau zu bestimmen. Bei allen Zelllinienentwicklungen wird die gesamte Historie gemäß der geltenden europäischen Richtlinien dokumentiert. Für die Entwicklung eines Upstream-Produktionsprozesses (USP) werden Spinnerflaschen, das DASGIP Bioreaktorsystem, Wave-Bioreaktoren sowie 2L- und 10L-Glas-Bioreaktor eingesetzt und in Fed Batch- und verschiedenen Perfusionsverfahren getestet. Für glykosylierte Biotherapeutika hat sich klar ein Perfusionsprozess mit hoher Produktivität und herausragender Konstanz der Qualität der Produkte durchgesetzt. Die Biotherapeutika werden in vier unabhängigen Produktionsbereichen in drei Bioreaktorlinien von bis zu 250L Volumen mit bis zu 7.000L Rückhaltevolumen produziert. Für die Entwicklung eines Downstreamprozesses (DSP) und die Überprüfung der Qualität und Charakterisierungen stehen State-of-the-Art Techniken zur Verfügung (z. B. komplette GlykoAnalytik, Bioassays (z.B. AD-CC, rHCP), Analyse der Aggregatbildungen). Seit Anfang 2009 kann Glycotope Biotechnology als eine von wenigen CMOs dieser Größe das finale Produkt für die klinische Prüfung aseptisch abfüllen und freigeben, so dass die gesamte präklinische Entwicklung und Produktion eines therapeutischen Proteins aus einer Hand angeboten werden können. ■