



DIE PRODUKTION

VON ANTIKÖRPERN





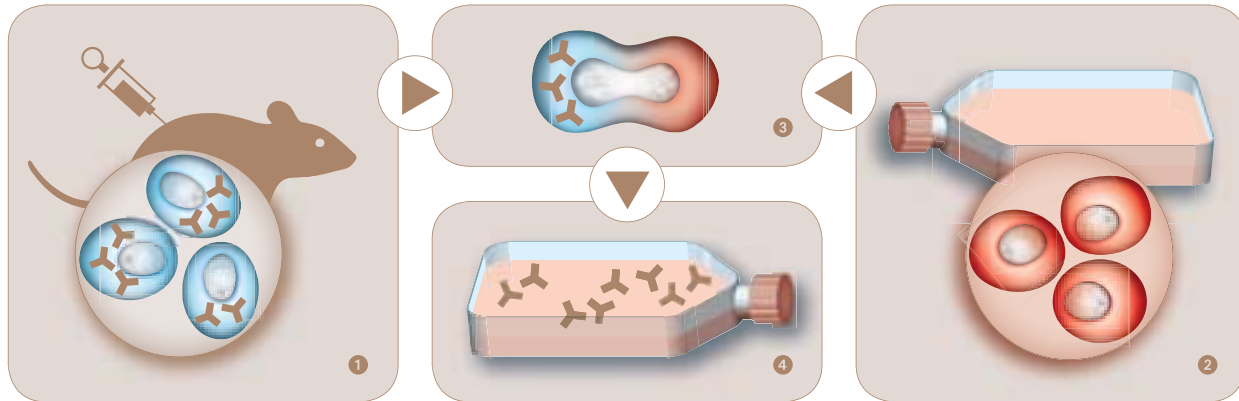
MorphoSys' Antikörperbibliothek ermöglicht es, geeignete Antikörper für unterschiedliche Anwendungen in der Forschung, Diagnostik oder Therapie bereitzustellen. Um die gewählten Antikörper für sich, seine Partner und Kunden in größeren Mengen herzustellen, stehen MorphoSys je nach Zielsetzung unterschiedliche Methoden zur Verfügung. Insbesondere die Produktion von therapeutischen Antikörpern ist dabei mit erheblichem technologischen Aufwand und folglich mit Kosten verbunden. Nicht zuletzt aus diesem Grund arbeitet MorphoSys kontinuierlich an Verbesserungsmöglichkeiten der bestehenden Systeme und identifiziert innovative Ansätze in diesem Sektor.

Die Gewinnung und Anwendung von Antikörpern wurden seit ihren Ursprüngen bis heute deutlich weiterentwickelt. Die zunächst aus Tieren gewonnenen Antikörper eigneten sich nur begrenzt für vereinzelte Anwendungen in Forschung und Medizin und konnten nur in geringen Mengen bereitgestellt werden. Erst die Forschungsergebnisse der Nobelpreisträger Georges J.F. Köhler und César Milstein im Jahr 1975 ebneten den Weg für wesentlich spezifischere Anwendungen und führten zu einer enormen Ausweitung der Nutzung von Antikörpern in Wissenschaft und Medizin. Die durch Köhler und Milstein etablierte so genannte Hybridoma-Technik, bei der Blutkrebszellen mit Antikörper-produzierenden B-Zellen vorwiegend aus Mäusen oder Ratten verschmolzen werden, ermöglichte die Produktion spezifischer Antikörper in großen

Mengen. Diese Entwicklung ermöglichte erstmals die kontinuierliche Herstellung eines definierten monoklonalen Antikörpers, der genau ein charakterisiertes Zielmolekül erkennt. Bis zu diesem Zeitpunkt war nur die Herstellung eines polyklonalen Gemischs verschiedener Antikörper möglich gewesen.

Das Aufkommen gentechnologischer Methoden, bei denen die für die Herstellung eines Proteins benötigte Bauanleitung gezielt in Form von Genen in einen Wirtsorganismus eingebracht wird, verbesserte die Produktionsmethoden weiter. Ende der 70er Jahre gelang es mit dieser Methode erstmals, menschliches Insulin in Bakterien herzustellen. Die im Jahr 1982 erfolgte Markteinführung dieses Arzneimittels gilt bis heute als ein Meilenstein bei der Behandlung der Diabetes.

MAUS-HYBRIDOM-TECHNOLOGIE NACH KÖHLER UND MILSTEIN



1 Bei der Herstellung monoklonaler Antikörper nach Köhler und Milstein kommen Antikörper-produzierende B-Zellen aus der Milz oder den Lymphknoten von Tieren zum Einsatz, deren Immunsystem zuvor mehrfach mit dem Antigen in Kontakt gekommen ist. 2 Diese B-Zellen werden anschließend mit Krebszellen eines B-Zelltumors verschmolzen. Diese Krebszellen haben zwar die Fähigkeit verloren, Antikörper herzustellen, lassen sich aber in einer Kultur leicht vermehren. 3 Durch das Verschmelzen mit der Krebszelle kann sich auch die resultierende Hybrid-Zelle schnell und unbegrenzt oft teilen. 4 Auf diese Weise können große Mengen des gesuchten Antikörpers produziert werden.

Heute herrschen derartige rekombinante Produktionsmethoden auch im Antikörperbereich vor. Dabei bestimmt vor allem der spätere Verwendungszweck und die benötigte Menge eines Antikörpers die Wahl der geeigneten Produktionsmittel. MorphoSys hat im Laufe der letzten Jahre hocheffiziente Produktionsplattformen entwickelt, die sich alle im Folgenden beschriebenen Systeme zunutze machen.

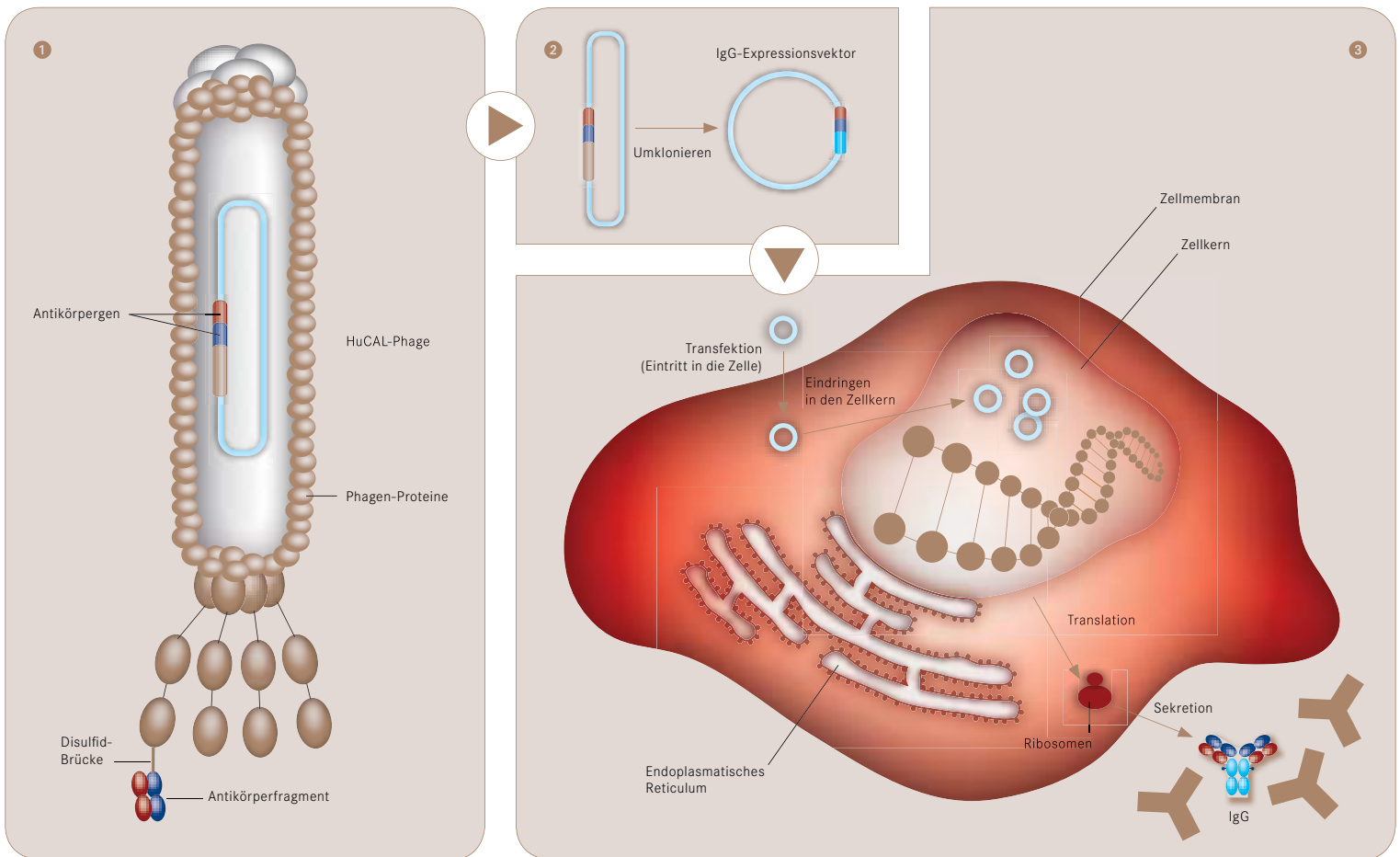
PRODUKTION IN BAKTERIEN

Die Vorteile der Herstellung von Antikörpern in Bakterien wie *Escherichia* oder kurz *E. coli* liegen hauptsächlich in der vergleichsweise einfachen und sicheren Handhabung der Bakterienzellen und in den schnellen Produktionszyklen der Mikroorganismen. Bakterien stellen insgesamt deutlich geringere Ansprüche als andere Wirtszellen, werden allerdings in der Regel lediglich für die Herstellung kleinerer Teilstücke von Antikörpern eingesetzt. Den Bakterien fehlen die notwendigen zellulären Mechanismen, um die komplexe Struktur eines vollständigen Antikörpers zu modifizieren und auszubilden. Im Bakterium wird die bereitgestellte Bauanleitung des Antikörperfragments abgelesen und in ein Protein übersetzt. Mit einer entsprechenden Signalsequenz ausgestattet, reichern sich die so produzierten Antikörperfragmente in einem

speziellen Abschnitt des Bakteriums an, dem periplasmatischen Raum. Zur Gewinnung des reinen Antikörperprodukts muss dieser zunächst durch Aufbrechen der Bakterienzellen freigesetzt werden. Anschließend erfolgt die vollständige Abtrennung aller Verunreinigungen durch Bakterien- und Kulturmedienbestandteile, die bei der Anwendung der Antikörper im pharmazeutischen Bereich toxisch wirken könnten. Eine abschließende Qualitätskontrolle stellt sicher, dass die Antikörper für ihren jeweiligen Einsatzbereich geeignet sind.

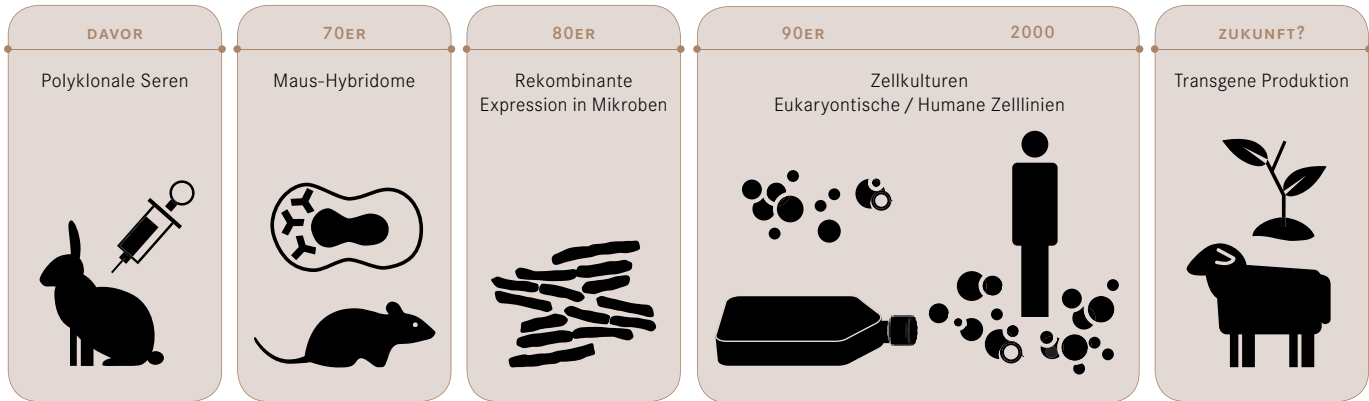
Gemeinsam mit der Firma Wacker führte MorphoSys im Jahr 2005 eine Machbarkeitsstudie durch, bei der ein auf *E. coli* basierendes Sekretionssystem zum Einsatz kam. Es unterscheidet sich von den bislang verwendeten bakteriellen Produktionsmethoden dadurch, dass die Bakterien das Protein noch während des Herstellungsprozesses in das umgebende Nährmedium abgeben. Bislang nutzte Wacker das System zur Produktion von einfach aufgebauten Proteinen für den Einsatz im technischen Bereich. Die im Auftrag von MorphoSys durchgeführte Studie belegte erstmals, dass auch die Produktion komplexer Antikörperfragmente für den Einsatz in der Medizin und Forschung mit diesem System generell möglich ist.

EUKARYONTISCHE ZELLEN ALS FABRIKEN FÜR DIE ANTIKÖRPERHERSTELLUNG



1 Die genetische Information für die Herstellung eines Antikörpers stammt aus der HuCAL-Antikörperbibliothek von MorphoSys. 2 Sie wird in Form einer speziellen Genfohre, eines IgG-Expressionsvektors, in eukaryontische Zellen eingeschleust. Dieser Prozess wird auch Transfektion genannt. 3 Die Zellen sind anschließend in der Lage die genetische Bauanleitung für den Antikörper zu lesen und in ein Protein zu übersetzen. Je nach Art der Wirtszelle wird das resultierende Antikörper-Protein weiter modifiziert und erhält eine entsprechende Glykosylierung. Zum Schluss wird der IgG-Antikörper von den Zellen in das umgebende Kulturmedium abgegeben.

ANTIKÖRPERPRODUKTION IM WANDEL DER ZEIT



Die Entwicklung neuer Methoden zur Antikörperproduktion hat im Laufe der Jahrzehnte unterschiedlichste Systeme hervorgebracht. Alle finden heute noch Verwendung und wurden seit ihrer Entdeckung kontinuierlich weiterentwickelt. Als zukünftige Methoden werden derzeit beispielsweise die Produktion in transgenen Organismen wie Pflanzen oder Nutztieren diskutiert. Die möglichen Vorteile dieser Methoden liegen in der kostengünstigen Produktion großer Mengen an Antikörpermaterial.

PRODUKTION IN SÄUGERZELLEN

Während die Produktion in Bakterienzellen eine kostengünstige Variante der Antikörpergewinnung darstellt, sind ihr gleichzeitig Grenzen gesetzt. Zum einen liefert sie in der Regel nur Antikörperfragmente, während für therapeutische Anwendungen der vollständige Antikörper in so genannten IgG-Format immer noch die häufigste Form ist. Zum anderen fehlen allen in Bakterien hergestellten Proteinen einige für Säugerzellen typische Modifizierungen.

Aus diesem Grund kommen parallel zur Produktion in Bakterien aus Säugetieren gewonnene Zelllinien zum Einsatz. Ein Beispiel ist die aus Hamstern gewonnene, im Laborbetrieb stark verbreitete CHO-Zelllinie, mit deren Hilfe Proteine in größeren Mengen produziert werden können. Ein Nachteil dieser Zellen: Die Produktion eines Antikörpers dauert länger als bei Bakterien, weil sich Tierzellen nur rund einmal in 24 Stunden teilen, Bakterien aber alle 20 Minuten. Während CHO-Zellen noch vergleichsweise robust sind, sind andere Säugetier-Zellkulturen darüber hinaus sehr empfindlich und brauchen strengstens kontrollierte Bedingungen, um optimal zu wachsen. Ein weiterer Nachteil der CHO-Zelllinie ist, dass die resultierenden Antikörper ein tierisches Glykolisierungsmuster erhalten – die natürliche Modifizierung der Oberfläche eines Proteins mit Zuckermolekülen –, welches sich von dem des Menschen unterscheidet.

PRODUKTION IN VOLLSTÄNDIG MENSCHLICHEN ZELLINIEN

MorphoSys' HuCAL-Antikörper sind in ihrer strukturellen Zusammensetzung, ihrer Aminosäuresequenz, 100% menschlichen Ursprungs. Die Produktion in vollständig menschlichen Zelllinien verleiht Antikörpern darüber hinaus auch ein menschliches Glykolisierungsmuster. Damit nähern sich die produzierten HuCAL-Antikörper ihren Vertretern aus dem menschlichen Körper strukturell größtmöglich an und das Risiko von Nebenwirkungen beim Einsatz als Medikament sinkt auf ein Minimum. Dieser Zusammenhang bildet die Hauptmotivation für MorphoSys, insbesondere therapeutische Antikörper in vollständig menschlichen Zelllinien herzustellen.

Im Jahr 2004 erwarb MorphoSys die Rechte an menschlichen Zelllinien der Firmen Bayer und Crucell. Beide Zelllinien wurden für unterschiedliche Einsatzbereiche zur Herstellung von Antikörpern eingehend getestet. Im August des vergangenen Jahres wurde dann die Crucell-Zelllinie Per.C6® auch für die Produktion von klinischem Antikörpermaterial im Rahmen des firmeneigenen Programms MOR103 ausgewählt. Die Produktion des HuCAL-Antikörpers wird in den geprüften Produktionsanlagen des Auftragsproduzenten DSM Biologics im niederländischen Groningen realisiert.



PRODUKTION ALS KOSTENFAKTOR

Die Antikörperproduktion stellt insbesondere im Bereich der Medikamentenentwicklung, sei es zur Herstellung von Antikörpermaterial für klinische Tests oder zur industriellen Herstellung des Produkts, aus vielfältigen Gründen einen nennenswerten Kostenfaktor dar. Die Entwicklung von biologischen Wirkstoffen in lebenden Systemen ist ein mehrstufiger Prozess, bei dem die einzelnen Schritte optimal ineinander greifen müssen. Ausgehend von der Anzucht einer produktionsfähigen Kultur der Zellen über den eigentlichen Herstellungsschritt, der Fermentation, bis hin zur Aufreinigung und Überführung in eine geeignete Darreichungsform bewegt sich jeder Schritt innerhalb sehr enger Parameter. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Verpflichtung, bei jedem Produktionsschritt die Auflagen der internationalen Arzneimittelbehörden einzuhalten, um die größtmögliche Qualität eines späteren Wirkstoffs und die Sicherheit für die Patienten zu gewährleisten. Ein Aufbau und Betrieb solcher Anlagen ist deshalb teuer und Firmen, die Antikörperproduktion als Dienstleistung anbieten, müssen ihre Preise dementsprechend gestalten.

EINSATZ IN FORSCHUNG ODER THERAPIE – WEGWEISEND FÜR DIE PRODUKTIONSMETHODE

Während die Hauptbeweggründe für die Verbesserungen der Produktionsmethoden bei therapeutischen Antikörpern eher vielfältig sind, sind entsprechende Überlegungen im Forschungsantikörperbereich vergleichsweise einfach. Sie zielen überwiegend auf eine Erhöhung des Durchsatzes bei der

Antikörperentwicklung und auf Kostenreduktion. Als *in-vitro*-Technologie bietet MorphoSys' HuCAL-Ansatz *per se* bereits deutliche Vorteile bei beiden Aspekten. Die Technologieplattform ist im höchsten Maße automatisierbar und skalierbar. Sie ermöglicht es MorphoSys nicht nur, eine hohe Anzahl an Projekten parallel zu bearbeiten, sondern realisiert hierbei auch zusätzliche positive Skaleneffekte. Ein Anstieg der Zahl bearbeiteter Antikörperprojekte führt gleichzeitig zu einem Sinken der Kosten für einen einzelnen Antikörper.

BLICK IN DIE ZUKUNFT

Die Produktion von Antikörpern bleibt weiterhin ein sehr aktives Feld mit wesentlichen Innovationen. An mehreren ist MorphoSys direkt beteiligt. Eine Optimierung der Produktionsmethoden erhöht die Attraktivität von MorphoSys für pharmazeutische Kunden im Geschäftssegment für therapeutische Antikörper. Im Segment für Forschungsantikörper verspricht sie eine Reduzierung der Herstellungskosten und damit eine Erhöhung der Gewinnmargen.

In erster Linie zielen Verbesserungen auf eine graduelle Optimierung der bestehenden Systeme ab, aber auch weitergehende Änderungen werden in der Wissenschaftswelt diskutiert. Ideen, Antikörper beispielsweise in Pflanzen, wie etwa dem Tabak, oder auch in verschiedenen Nutztieren zu produzieren, existieren bereits seit einigen Jahren. Derzeit haben diese Methoden zwar noch nicht den Durchbruch geschafft, ihre Möglichkeiten insbesondere zur Kosteneinsparung sind jedoch für Antikörperfirmen von großem Interesse.