

Entwicklung neuer Aufreinigungstechnologien

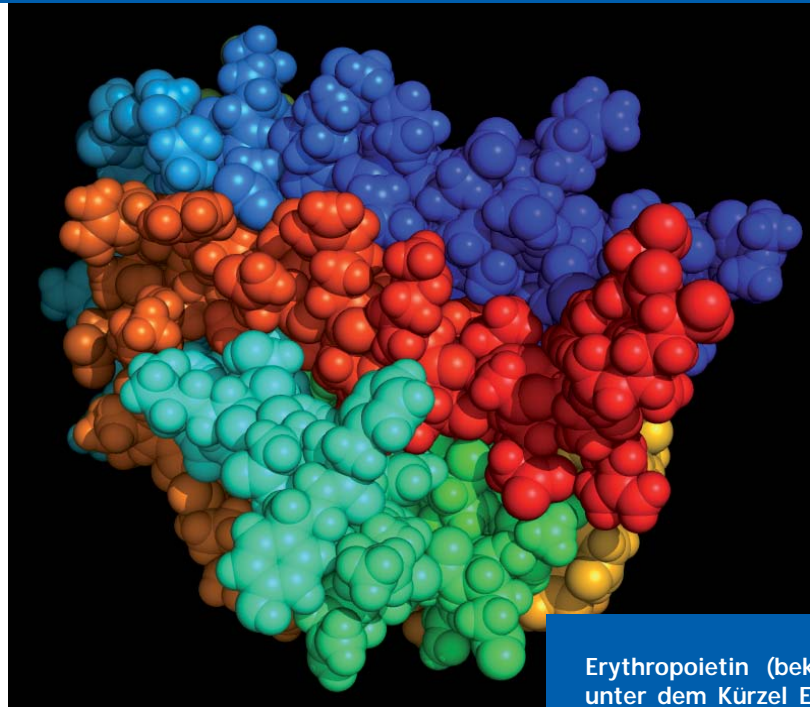
Forschung für effektivere Reinigung von biotechnischen Produkten

BMBF-Initiative unterstützt Entwicklung von Downstream-Prozessen für kostengünstige Wirkstoffe

Biotechnologische Produkte – allen voran wichtige pharmazeutisch wirksame Proteine, Nukleotide oder Peptide – haben in den vergangenen Jahren an Bedeutung gewonnen. Bekannte Beispiele sind das für Diabetiker unverzichtbare Insulin oder das Hormon Erythropoietin (EPO), das als Wachstumsfaktor für die Bildung von roten Blutkörperchen entscheidend ist.

Inzwischen wird etwa die Hälfte aller neu zugelassenen Wirkstoffe biotechnologisch hergestellt. Doch der Weg von der Fermentationslösung bis zum aufgereinigten Endprodukt ist lang: DNA-Bruchstücke, unerwünschte Peptide oder Proteine verunreinigen das Produkt, das in vielen aufeinanderfolgenden Schritten aufwändig gereinigt werden muss. Entsprechend kostspielig sind die meisten biotechnologisch hergestellten Produkte.

Zwar wurden die Herstellungsverfahren für biotechnologisch hergestellte Arzneimittelwirkstoffe in der Vergangenheit stetig verbessert. Dennoch sind die Ausbeuten, d.h. die Menge an aufgereinigtem und damit nutzbarem Produkt, vergleichsweise gering. Ursache dafür ist, dass die Entwicklung neuer Aufreinigungstechnologien (sog. Downstream-Prozesse) den Fortschritten in der Synthese weit hinterher hinkt. So werden bekannte Technologien häufig nicht optimal eingesetzt, weil es an innovativen wirtschaftlichen Aufbereitungsverfahren mangelt. Man konzentrierte sich bislang im Wesentlichen darauf, die vorhandenen Verfahren anzupassen und ihre Kapazität zu ver-



größern, statt neue Methoden zu erforschen.

Ein Grund: Bis ein Biomolekül als pharmazeutischer Wirkstoff zugelassen wird, vergehen viele Jahre der Entwicklung und klinischen Forschung. Ist die Zulassung einmal erteilt, darf in der Regel nichts mehr an der Herstellung oder Reinigung des Wirkstoffs verändert werden. Denn grundlegende Verände-

Fortsetzung auf S. 2

Erythropoietin (bekannter unter dem Kürzel EPO) ist ein von der Niere erzeugtes Hormon, das die Bildung der roten, Sauerstoff transportierenden Blutkörperchen im Knochenmark anregt. Es wird u. a. zur Behandlung von Dialysepatienten oder nach Chemotherapien eingesetzt. Da das natürlich gewonnene Hormon sehr teuer ist, wird EPO auch synthetisch hergestellt. Dabei kommt hier wie bei anderen medizinisch genutzten Substanzen der Reinheit eine große Bedeutung zu. (Das Bild zeigt ein Kalottenmodell von EPO.)

Fortsetzung von S. 1

rungen in den Downstream-Prozessen zögen erneute Prüfungen und Tests nach sich und würden die Zulassung eines Produkts gefährden.

Mit den Möglichkeiten der Synthese neuer Produkte besteht zugleich die Notwendigkeit, neue Methoden zu deren Aufreinigung voran zu bringen. Um die großen Defizite in der Entwicklung von Downstream-Prozessen auszugleichen, hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Jahr 2007 einen Wettbewerb initiiert: Die Fördermaßnahme „Entwicklung neuer Aufreinigungstechnologien“ unterstützt seither als Teil der Pharma-Initiative die Hightech-Strategie der Bundesregierung. Wissenschaftler sowie kleine und mittelständische Unternehmen sind darin aufgerufen, in interdisziplinären Verbänden neue Methoden zu entwickeln, mit denen Biomoleküle möglichst konzentriert, effektiv und hochrein gewonnen werden können.

Seit 2008 werden so bundesweit zwölf Verbundprojekte für drei Jahre mit insgesamt 15,3 Millionen Euro gefördert. Ingenieure, Verfahrenstechniker, Materialwissenschaftler, Chemiker und Biologen sowie Physiker und Informatiker arbeiten darin gemeinsam an neuen Downstream-Prozessen. Sie entwickeln neue Materialien für bestehende chromatographische Verfahren, verbessern die Bedingungen bestehender Aufreinigungsprozesse, suchen nach kostengünstigen Alternativen oder nach Liganden – speziellen chemischen Stoffen, mit denen die biologisch wirksamen Substanzen aus der Fermentationslösung gefischt werden können. Ihre Ergebnisse sollen letztlich dazu beitragen, dass die Produktion von Biopharmaka wirtschaftlicher und preiswerter wird, was letztlich auch den Patienten zugute käme. □

Rekombinante Glycoproteine sind Wirkstoffe zahlreicher Arzneimittel. Sie werden biotechnologisch hergestellt und müssen vor ihrem Einsatz in der Medizin gereinigt werden. Oft gehen dabei ausgerechnet solche Strukturen verloren, die sich entscheidend auf die Wirksamkeit und Stabilität der Biopharmaka auswirken: Sialinsäuren. Am Beispiel des Hormons Erythropoietin (EPO) und anderer rekombinanter Proteine wollen Forscher nun herausfinden, wie der Wirkstoff gereinigt werden kann und dabei möglichst viele Sialinsäurereste behält. Die Idee des Projekts „Einsatz synthetischer Liganden zur Aufreinigung sialinsäurehaltiger rekombinanter humaner Proteine und Impfstoff-Antigene“, an dem Wissenschaftler der Universitäten Magdeburg und Tübingen sowie der Unternehmen Merckle Biotec in Ulm, IDT Biologika in Dessau und EMC Microcollections in Tübingen beteiligt sind: Synthetische Liganden sollen im Verlauf einer Affinitätschromatographie die Proteine an ihren Sialinsäureresten aus der Lösung fischen.

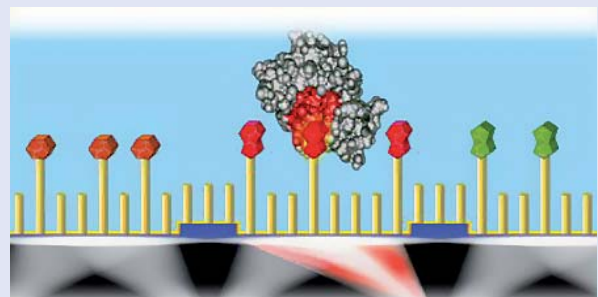
Sialinsäurefänger

Eine Methode, die die Wissenschaftler auch einsetzen wollen, um Influenzaviren ganz oder in Bruchteilen einzufangen. Das für das Grippe-Virus so wichtige Membranprotein Hämagglutinin ist ebenfalls ein Glycoprotein und eignet sich gut als Impfantigen. Denn über dieses Protein bindet das Virus an Sialinsäuren, die sich auf der Oberfläche von Wirtszellen befinden.

So werden auf der einen Seite Bindungen analysiert und Aufreinigungsverfahren etabliert, während auf der anderen Seite nach Peptiden gesucht wird, die an Sialinsäuren haften. Ziel ist es, eine Bibliothek mit rund zwei Millionen solcher Ligandenkandidaten zu screenen.

Weil sie zu einem Molekül passen wie der Schlüssel zum Schloss und selbst große Moleküle sicher aus einer Mischung herausholen, werden Affinitätsliganden gerne zur Aufreinigung wichtiger Biopharmaka genutzt. Nicht für alle Biopharmaka sind jedoch solche Liganden in der Natur bekannt.

Im Projekt „Entwicklung innovativer Liganden für die chromatographische Affinitätsreinigung sowie Affinitätspräzipitation“ suchen Wissenschaftler des Instituts für Bioprozesstechnik der Universität Bayreuth und Experten der Graffinity Pharmaceuti-



Auf der Suche nach neuen Liganden werden unterschiedliche Moleküle (orange, rot und grün) gleichzeitig getestet. Bindet eine Struktur das Zielmolekül (grau), kommt sie in die nähere Auswahl.



Chromatographische Aufreinigung von Erythropoietin (EPO) in der pharmazeutischen Industrie.

als GmbH in Heidelberg daher nach eben solchen Liganden. Sie sollen die Aufreinigung pharmazeutisch wirksamer Biomoleküle erleichtern und kostengünstiger machen. Die neuen Substanzen wären ohne größeren Aufwand synthetisch herzustellen.

Ligandensucher

Grundlage des Screenings ist eine Bibliothek von hunderttausend kleineren Molekülen, die von der Graffinity GmbH auf chemischen Mikroarrays fixiert sind. Das Zielmolekül ist ein rekombinanter menschlicher Antikörper. An ihm soll die Ligandensuche optimiert werden. Mehrere Kandidaten konnten bisher als potenzielle Liganden ermittelt werden. Ob sie auch im industriellen Maßstab eingesetzt werden können, müssen nun die Versuche im Labor der Bioprozesstechniker zeigen. Dort sucht das Team um Projektkoordinatorin Prof. Ruth Freitag nach den optimalen Materialien und Bedingungen für die anschließende Affinitätschromatographie.

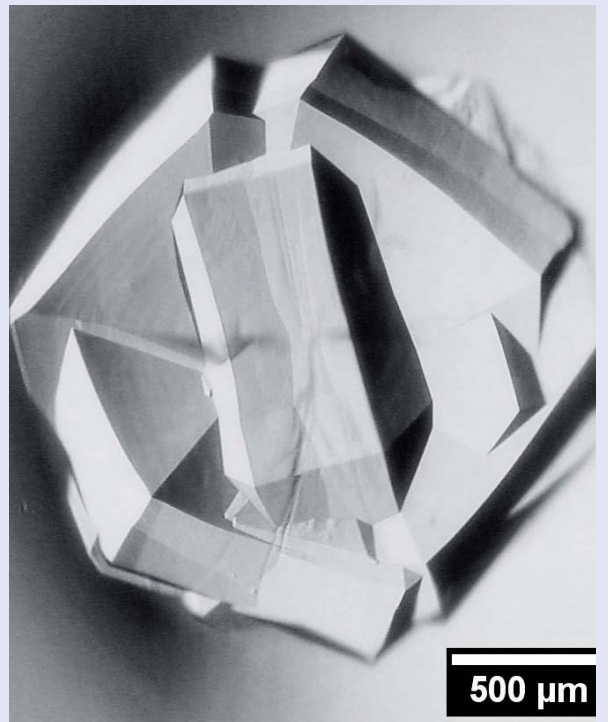
Langfristig wollen die Forscher Biopharmaka aber auch mithilfe der Affinitätspräzipitation aufreinigen. Dann sitzen die Liganden auf speziellen Polymeren, die unter kontrollierten Bedingungen – etwa eine kritische Temperatur oder ein niedriger pH-Wert – reversibel ausfallen. Die Wirkstoffe werden so in der Lösung gefangen und mit den Polymeren ausgefällt.

Hochrein, hochstabil und hochkonzentriert – das sind die Eigenschaften der Pharmaproteine der Zukunft. Im Rahmen des Projektes „Neue Herstellungsverfahren für hochkonzentrierte stabile Pharmaproteine zur Endformulierung unter Einsatz von wasserlöslichen ionischen Flüssigkeiten“ wollen Wissenschaftler der Merck KGaA in Darmstadt, der Crelux GmbH in Martinsried und der Technischen Universität München diesem Ziel mithilfe wasserlöslicher sogenannter ionischer Flüssigkeiten näher kommen. „Die ionischen Flüssigkeiten enthalten geladene organische Salze, die durch ihre differenzierte Struktur die Kristallisation von Proteinen in Gang setzen können“, erklärt Projektkoordinator und Merck-Forscher Dr. Bernd Stanislawski die Idee.

Kristallbauer

Dabei kommt es darauf an, die Proteinkristalle möglichst gleichmäßig und ohne Faltungsfehler zu erhalten. Denn wie ein Protein gefaltet ist, beeinflusst entscheidend die biologische Aktivität und damit die pharmazeutische Wirksamkeit dieser großen organischen Moleküle. Die meisten Chromatographieverfahren, mit denen Proteine aufgetrennt werden, scheitern genau daran: Sie unterscheiden kaum zwischen korrekt und nicht korrekt gefalteten Molekülen. Eine langsame kontrollierte Kristallisation könnte das leisten.

In den kommenden drei Jahren wollen die Forscher aber nicht nur optimale Bedingungen und geeignete Reagenzien finden, die die Kristallisation unterschiedlicher Proteine bewirken. Weil alle Pharmaproteine den Patienten letztlich gelöst verabreicht werden, wollen die Forscher auch Methoden entwickeln, wie die Faltung der erneut gelösten Proteine untersucht werden kann.



Hochrein, gleichmäßig und ohne Faltungsfehler ist dieser Lipasekristall, den die Wissenschaftler der Technischen Universität München züchteten.

Innovative Ideen fördern und Wissen verbreiten

Wissenschaft und Industrie zusammen bringen, den neuesten Stand der Forschung diskutieren – das sind die Ziele vieler Summer Schools. Wissenschaftler aus dem Biotechnologie-Cluster CLIB²⁰²¹ gehen im Rahmen von „Innovative Aufreinigungstechnologien“ nun einen Schritt weiter: Während der „Downstream Days“ (D² Summer School) sollen ab 2010 junge Forscher nicht nur Gelegenheit haben, Erfahrungen auszutauschen und Kontakte mit der Industrie zu knüpfen. Die Organisatoren aus Dortmund, Karlsruhe, Bielefeld und Gießen wollen auch originelle Ideen fördern.

Dazu soll der Nachwuchs seine Projekte vorstellen. „Werden diese von den anderen D²-Teilnehmern sowie Fördervertretern als hoch innovativ und ambitioniert eingestuft, stehen die Chancen gut, dass sie für eine zeitlich befristete Finanzierung vorgeschlagen werden“, erklärt Prof. Gerhard Schembecker vom Lehrstuhl für Anlagen- und Prozesstechnik der TU Dortmund. Mit durchschnittlich 50 000 Euro je Projekt erhalten die Forscher dann kurzfristig die Chance, den Proof-of-Concept für ihre Idee zu erbringen.

Die D² Summer School ist Teil der vom BMBF-geförderten anwendungsorientierten Arbeitsgruppe „Innovative Downstream-Prozesse“ an der TU Dortmund. Und die organisiert nicht nur eine Summer School. Die Arbeitsgruppe um Gerhard Schembecker will vielmehr zum Kompetenzzentrum für die Entwicklung effizienter Aufreinigungstechnologien avancieren. Sie forscht selbst an Technologien wie Zerschäumung, Chromatographie und Begasungs-Kristallisation.

Langfristiges Ziel ist der Aufbau einer Plattform, die das Wissen zur Aufreinigung chemischer Substanzen in Deutschland unter einem – wenn auch virtuellen – Dach vereint. Die Plattform soll das Know-how deutscher Wissenschaftler bündeln und gezielt nutzbar machen. „Wir wollen eines Tages eine Art intelligentes Wikipedia-System zur Verfügung stellen, das die Kollegen aus Wissenschaft und Industrie darin berät, welchen Weg sie in der Aufreinigung bestimmter Substanzen einschlagen können.“ Sackgassen und damit hohe Kosten auf der Suche nach neuen Technologien sollen so vermieden und eine bessere Ausbeute erreicht werden.

KONTAKTADRESSEN

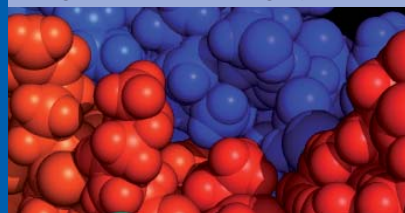
Forschungszentrum Jülich GmbH
Projektträger Jülich (PtJ)
52425 Jülich

Dr. Claudia Junge
Tel: 030 / 20199 466
c.junge@fz-juelich.de

Dr. Eva Graf
Tel: 030 / 20199 3122
e.graf@fz-juelich.de

Internet:
www.fz-juelich.de/ptj/aufreinigungstechnologien

Rahmenprogramm Biotechnologie
– Chancen nutzen und gestalten:
www.bmbf.de/pub/rahmenprogramm_biotechnologie.pdf



IMPRESSUM

Herausgeber im Auftrag des BMBF:
Forschungszentrum Jülich GmbH
Projektträger Jülich (PtJ)
PtJ-Außenstelle Berlin
Zimmerstr. 26/27 • 10969 Berlin

Redaktion:
Dr. Michael Ochel (PtJ)
Telefon: 0 30/2 01 99 4 57
E-Mail: m.ochel@fz-juelich.de
Info: www.fz-juelich.de/ptj

Texte / Recherche:
Julia Thureau. Texte für Kinder und Wissenschaft

Fotos:
Archiv (S.1); Graffinity Pharmaceuticals GmbH Heidelberg (S.2); Merckle Biotec GmbH (S.3 li.); Dr.-Ing Dariusch Hekmat, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, Technische Universität München (S.3 re.)

Lithografie und Druck:
Forschungszentrum Jülich GmbH
Graphische Medien

Stand: Januar 2010

Gedruckt auf Recyclingpapier
Dieses Infoblatt wird kostenlos abgegeben
und ist nicht zum Verkauf bestimmt.