

Plantibodies aus dem Bag



Johanna Brändli,
wissenschaftliche
Mitarbeiterin,
johanna.braendli@zhaw.ch



Dr. Nicole Raven,
Post-Doc Molekulare
Pflanzenbiotechnologie,
nicole.raven@ime.
fraunhofer.de



Prof. Dr. Regine Eibl,
Dozentin für
Zellkulturtechnik,
regine.eibl@zhaw.ch

In enger Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie in Aachen (D) wird an der ZHAW die Produktion sogenannter Plantibodies untersucht. Die Arbeiten sind integraler Bestandteil der COST-Initiative FA0804, in welcher sich 21 europäische Länder mit alternativen Verfahren zur Herstellung von Proteinen und Impfstoffen mit genetisch veränderten Pflanzen und deren Zellen beschäftigen. Ein potentieller Antikörper zur Tumorthherapie konnte bei der Kultivierung nikotinfreier Tabakuspensionszellen des Kultivars Bright Yellow-2 (BY-2) in Bagbioreaktoren erfolgreich exprimiert werden.

Die Produktionszelllinie

Die Tabakuspensionszellen BY-2 eignen sich aufgrund der leichten genetischen Manipulation und ihrer hohen Verdopplungszeiten hervorragend als pflanzliches Produktionssystem. Die kodierenden Sequenzen des Antikörpers wurden über Agrobacteriumvermittelte Transformation stabil in die Pflanzenzellen integriert und die korrekte Bildung des Zielproteins mittels proteinchemischer Nachweismethoden bestätigt. *In-vitro*-Funktionalitätsstudien belegen die spezifische Bindung des in den Pflanzenzellen gebildeten Antikörpers an Tumorzellen.

Kultivierung in Bagbioreaktoren

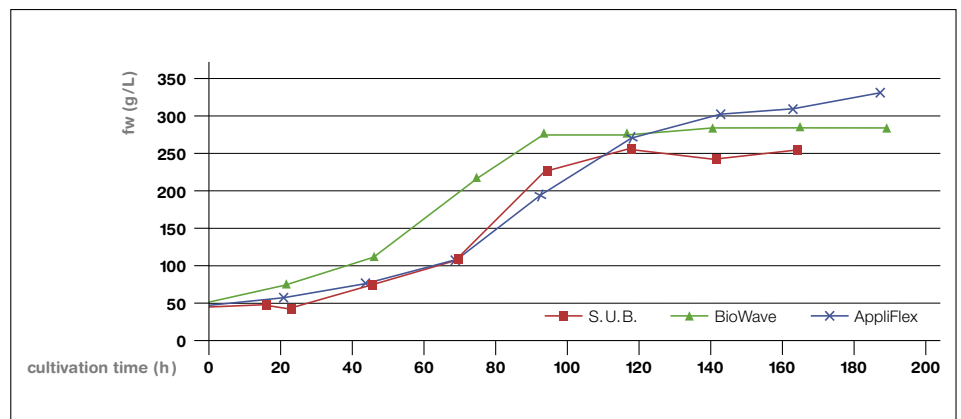
Um Prozesse zur Herstellung solcher Antikörper schnell und kosteneffizient zu entwickeln, setzt die Pharmaindustrie heute immer häufiger

Einwegbioreaktoren ein. Diese besitzen als Herzstück einen Plastebeutel (Bag) anstatt des traditionellen Kessels aus Glas oder Edelstahl. Gegenwärtig wird vor allem mit gerührten und wellendurchmischten Bags gearbeitet. Während bei den gerührten Systemen ein Supportcontainer den Bag mit integriertem Rührer und Sparger aufnimmt, wird er im Falle der wellendurchmischten Systeme auf einer Rocker- bzw. sich auf und ab bewegenden Plattform fixiert.

Resultate und Ausblick

Unsere ersten Wachstums- und Expressionsstudien wurden in zwei wellendurchmischten Systemen (dem BioWave 20 SPS und dem AppliFlex Lab Scale) sowie dem gerührten 50 L S.U.B. (Single Use Bioreactor) realisiert. Um Stofftransferlimitationen infolge der zunehmenden

Viskosität der Kulturbrühe entgegenzuwirken, wurden der Rockingwinkel und die Rockingraten bzw. die Rührgeschwindigkeit während der Kultivierung erhöht. Aus dieser Vorgehensweise resultierten in beiden wellendurchmischten Bioreaktoren ausgezeichnete durchschnittliche Zellverdopplungen von 15,7 Stunden und maximale Frischbiomassekonzentrationen zwischen 250 und 330 Gramm pro Liter. Die im S.U.B. nachgewiesenen Verdopplungszeiten (29 Stunden) lagen nur leicht über denen, die in einem 3-Liter-Rührreaktor aus Glas ermittelt wurden (26 Stunden). Der gewünschte Antikörper wurde unabhängig vom Bioreaktortyp in vergleichbarer Quantität und Qualität nachgewiesen. In weiterführenden Versuchen steht nun die Optimierung der Antikörperproduktion im Vordergrund.



Frischbiomassebildung in den drei eingesetzten Einwegbioreaktoren.

Forschungsprojekt

Plants as production platform for high value proteins

Gesamtprojektleitung: Dr. Kirsi-Marja Oksman-Caldentey, VTT Espoo, Finnland

Projektleitung: Prof. Dr. Regine Eibl

Projektdauer: 3 Jahre (September 2008 bis September 2011)

Förderung: COST-Initiative FA0804

Teilnehmende Länder: Österreich, Belgien, Bulgarien, Tschechien, Dänemark, Estland, Finnland, Frankreich, Deutschland, Griechenland, Island, Italien, Lettland, Niederlande, Norwegen, Rumänien, Slowenien, Spanien, Schweiz, Grossbritannien

Schweizer Teilnehmer: ETH Zürich, Universität Neuchâtel, Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Philip Morris



Tabakuspensionszellen