

Vergleichende Analyse potentieller Anwendungsgebiete von Mikroorganismen als Expressionssystem für die Produktion von Biopharmazeutika

SUMMER 2018

Bertram Srugies

[.-ING] BiochemPE, Idstein / Ts. (Germany)

1 GENERAL INTRODUCTION

Zukünftige Herausforderungen der Vision „Pharma 4.0“

Im Zuge der Realisierung der Vision „Pharma 4.0“, die für die Etablierung eines technischen Niveaus steht, das die immer weiter in den Fokus rückende personalisierte Behandlung von Patienten ermöglichen soll, befinden sich die allgemeinen Strukturen der Pharmaindustrie im Wandel. Die Abdeckung eines möglichst weiten Produktspektrums durch zeitlich flexible und skalierbare Prozesse soll die Konkurrenzfähigkeit im Rahmen der Marktentwicklung sichern

Das Potential mikrobieller Expressionssysteme

Trotz jahrelanger Erfahrungen im Bereich der Produktion von Biopharmazeutika mit tierischen Zellen handelt es sich um hoch anspruchsvolle und kostenaufwändige Verfahren mit begrenztem Skalierungspotential. Mikrobielle Expressionssysteme werden aktuell im Rahmen der industriellen Produktion übergreifend für die Biosynthese von Pharmazeutika geringerer Komplexität eingesetzt. Zahlreiche Publikationen bezüglich der Weiterentwicklung bestehender und der Etablierung neuartiger, wissenschaftlicher Methoden sowie pharmazeutische Industrieprojekte, weisen jedoch auf die Entwicklung von transgenen Mikroorganismen als kompetitiv fähige Alternative für die Produktion hochmolekularer Proteine hin.

2 OVERALL OBJECTIVE AND PURPOSE

Gegenstand der Arbeit ist die Erfassung des aktuellen Stands von Wissenschaft und Technik auf dem Gebiet des Expressionssystems Mikroorganismen für die Herstellung von Biopharmazeutika und Biosimilars.

Der Zweck dieser Arbeit ist:

- Die Identifikation wichtiger Eigenschaften für die Bewertung von Mikroorganismen im Bezug auf ihre Flexibilität hinsichtlich der Herstellung von Biopharmazeutika
- Die Bewertung der Expressionssysteme bezüglich des potentiellen Produktspektrums
- Identifikation von immanenten Risiken und Chancen der verschiedenen Verfahren eines Produktionsprozesses

3 SCIENTIFIC PRINCIPLES AND METHODS

Folgende wissenschaftlichen Prinzipien und Methoden wurden angewandt:

- Methoden und Werkzeuge des Total Quality Managements als Teil des Quality-by-Design (QbD), die Phasen Define, Measure und Analyse des Lean Management / Six Sigma Kernprozesses;
- Literaturrecherche zur Identifikation industriell relevanter Expressionssystemen, derer Eigenschaften und Sortimentsflexibilität;
- Prozessentwicklung und Methoden des Prozessdesigns;
- Ausarbeiten eines Bewertungssystems zur Identifikation optimaler mikrobieller Expressionssysteme.

Mikroorganismus	Ranking	Full-length Ab.	Ab-Fragmente	Hormone	Zytokine	Impfstoffe	Wachstumsfaktoren	Blutfaktoren	Therapeutische Enzyme	Fusionsproteine	Antikoagulantien	Sortimentsflexibilität
<i>P. pastoris</i>	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
Hansenula Polymorpha	2	-	x	x	x	x	x	-	-	-	x	5
<i>S. cerevisiae</i>	3	x	x	x	x	x	x	x	x	-	x	9
<i>E. coli</i>	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	5	-	x	-	x	-	-	x	-	-	-	3
<i>B. choshinensis</i>	6	-	x	-	x	-	x	-	-	-	-	3
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	6	-	x	x	x	x	x	-	-	-	-	5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6	-	x	x	x	x	x	-	x	-	-	6
<i>Yarrowia lipolytica</i>	6	-	x	x	x	x	x	x	x	-	-	7
<i>Aspergillus nidulans</i>	7	-	x	-	x	-	-	-	-	-	-	2
<i>B. subtilis</i>	7	-	x	x	x	x	x	-	-	-	-	5
<i>B. megaterium</i>	8	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	9	-	-	-	x	x	x	-	x	x	x	6
<i>Streptomyces lividans</i>	10	-	-	x	x	-	-	-	x	x	x	6
<i>Pseudoaeromonas haloplanktis</i>	11	-	x	-	-	-	x	-	-	-	-	2

Abbildung 1: Produktspezifisches Ranking der Expressionssysteme auf Basis der berechneten Empfehlungszahlen

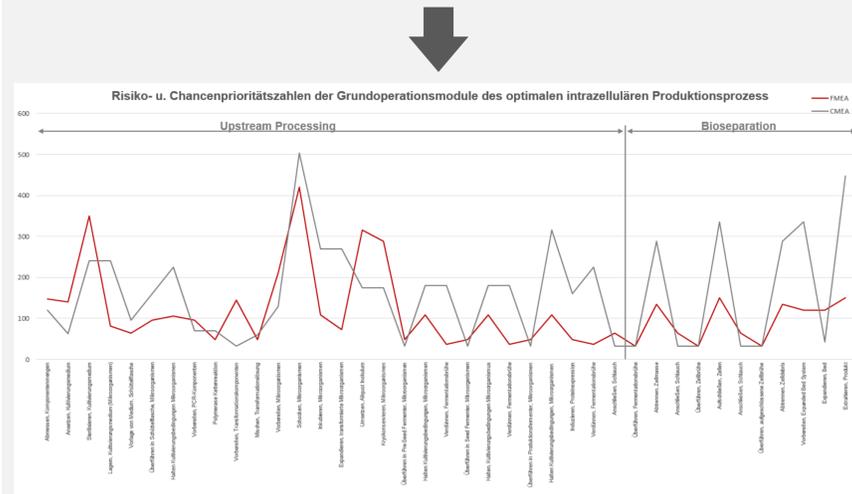
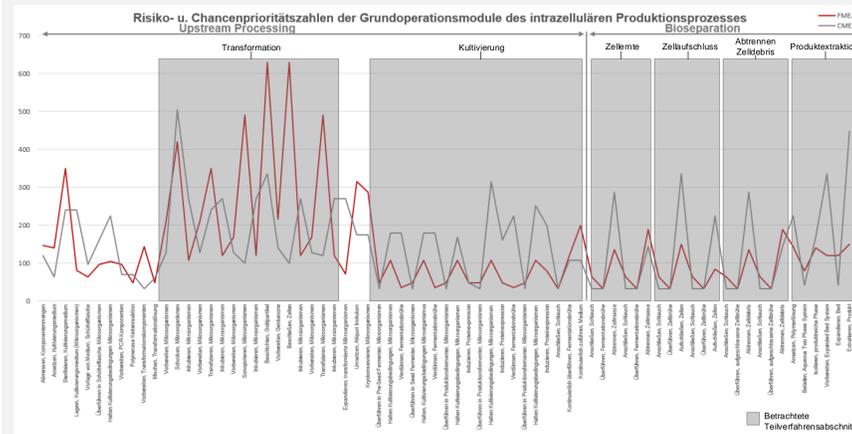


Abbildung 2: Kombination der optimalen Verfahren zu einem optimalen Produktionsprozess auf Basis relationaler Betrachtung der Ergebnisse der Risiko- und Chancenanalyse

4 APPROACH

Ergebnisse

Angelehnt an das DMADV-Schema des Design for Six Sigma, wurden zunächst wichtige Eigenschaften als Grundlage zur Top-Down-Analyse der Expressionssysteme hinsichtlich ihrer Flexibilität identifiziert. Weiterhin wurde ein Prozessstrukturmodell erarbeitet, um die Identifikation immanenter Risiken und Chancen verschiedener Verfahren zu ermöglichen.

Insgesamt wurden im Zuge der Literaturrecherche 10 industrierelevante Kriterien für die Vergleichbarkeit mikrobieller Expressionssysteme identifiziert. Diese wurden für jeden Mikroorganismus individuell recherchiert, dokumentiert und für die weitere Analyse verwendet. Zusätzlich wurde auf Basis verschiedener Verfahren ein Upstream-Prozess, inklusive Bioseparation, mit Hilfe eines Prozessstrukturmodells auf Ebene von Grundoperationsmodulen entworfen und in verschiedene modulare Abschnitte mit den entsprechenden Elementen unterteilt.



Abbildung 3: Identifizierte Kriterien und Gliederung des Prozessstrukturmodells

Nach der Identifikation der für die Mikroorganismen relevanten Kriterien wurde ein Bewertungssystem ausgearbeitet. In diesem wurden den Kriterien verschiedene Gewichtungen zugewiesen, um ihren Einfluss hinsichtlich ihrer Relevanz steuern zu können. Zudem wurden Bewertungsgrenzen gesetzt, innerhalb derer die recherchierten Eigenschaften aller betrachteten Mikroorganismen individuell bewertet wurden. Dieses Vorgehen ermöglichte die Berechnung einer expressionssystemspezifischen Empfehlungszahl, auf deren Basis mit Hilfe der recherchierten Sortimentsflexibilität ein Ranking, sowie eine produktspezifische Empfehlung erstellt werden konnte (siehe Abb. 1).

Um die entsprechenden Verfahren für einen optimalen Produktionsprozess zu identifizieren, wurde eine Risiko- und Chancenanalyse durchgeführt. Die Analyse basierte auf Kriterienkatalogen, mit denen unter anderem Konzepte der Adaptivität, Flexibilität und regulatorische Voraussetzungen berücksichtigt wurden. Die Risiko- und Chancenanalyse wurde auf Ebene der Grundoperationsmodule des erarbeiteten Prozessstrukturmodells durchgeführt. Mittels einer relationalen Betrachtung der jeweiligen Optionen innerhalb der einzelnen Teilverfahrensabchnitte wurden die optimalen Verfahrensschritte identifiziert und zu einem optimalen Produktionsprozess kombiniert (siehe Abb. 2).

Fazit

Die berechneten Empfehlungszahlen und die Prozessstrukturen sollen als Grundlage für die Realisierung einer Handlungsempfehlung zur Wahl eines Mikroorganismus und eines Prozesses für die Produktion von Biopharmazeutika hinsichtlich Effektivität und Effizienz dienen. Dazu zählt die zukünftige Ausarbeitung des Prozessstrukturmodells sowie das Zeichnen von Grundfließbildern und weitere Planungsaktivitäten.