

11. Juli 2018

Unterschiedliche Herstellungsarten für therapeutisch wirksame Antikörper können zu Abweichungen in ihrer Struktur führen

Wiener Antikörper-Studie findet Erstaunliches

Unterschiedliche Herstellungsarten für therapeutisch wirksame Antikörper können zu Abweichungen in ihrer Struktur führen - je nachdem, welches rekombinante Produktionsverfahren gewählt wird. Die auf verschiedenen Glykosylierungen beruhenden Unterschiede beeinflussen dabei sogar die Stabilität der Antikörper. Dies ist das Ergebnis eines hochpräzisen Vergleichs struktureller Eigenschaften von Antikörper-Isotypen, die in Zellkulturen oder Pflanzen hergestellt wurden. An der EQ BOKU, einer Einrichtung der Universität für Bodenkultur in Wien (BOKU), wurden dabei modernste Massenspektrometer eingesetzt, um punktgenau Unterschiede in der Glykosylierung von Immunglobulinen zu identifizieren.

Antikörper sind eines der treffsichersten Therapeutika und werden unter anderem im Kampf gegen Krebs immer öfter erfolgreich eingesetzt. Hergestellt werden sie häufig rekombinant, wobei verschiedene Produktionssysteme verwendet werden. Während das Proteingerüst der Antikörper bei allen Herstellungsverfahren gleich bleibt, variiert die so genannte Glykosylierung – also die Modifikation durch das Anhängen spezifischer Kohlenhydrate. Wo genau diese Unterschiede auftreten und in welcher Form war bisher jedoch nur wenig bekannt. Tatsächlich ist die Identifizierung dieser feinen – aber potenziell therapeutisch wichtigen – Unterschiede analytisch extrem schwierig und nur mit modernen massenspektroskopischen Verfahren möglich. Diese standen nun einem Team der Universität für Bodenkultur Wien (BOKU) an der dortigen Einrichtung EQ BOKU zur Verfügung und förderten überraschende Erkenntnisse zu Tage.

Auf den Punkt gebracht

Tatsächlich gelang es einem Team um Prof. Richard Strasser erstmals, punktgenaue Unterschiede im Glykosylierungsmuster von Immunglobulinen A zu identifizieren, die wahlweise in menschlichen Zellkulturen (HEK293) oder pflanzlichen Systemen (*Nicotiana benthamiana*) produziert wurden. Dazu Prof. Strasser vom Department für Angewandte Genetik und Zellbiologie: "Wir waren selbst überrascht, wie groß die Unterschiede waren. Sowohl die Struktur der für die Glykosylierung verwendeten Kohlenhydrate als auch ihre Platzierung an den Proteinen variierte zwischen den beiden Systemen stark."

Tatsächlich konnte das Team modernste "Kapillar-Umgekehrphasen Chromatographie" sowie "Elektrospray Massenspektrometrie" der EQ nutzen, um die Glykosylierung der jeweiligen Systeme genau zu analysieren. Dabei zeigte sich, dass Immunglobulin A, das in der HEK293-Zellkultur produziert wurden, sehr viel mehr und komplexere N-Glykane besaß, also Kohlenhydratgruppen die an speziellen Stickstoff-Atomen gebunden waren, als jenes aus Säugetierzellen. Das in Pflanzen hergestellte Immunglobulin A zeigte hingegen deutlich weniger Strukturvielfalt. Dies war in erster Linie darauf zurückzuführen, dass die für die Herstellung der Säugetier-Glykosylierung notwendigen Stoffwechselwege in Pflanzen völlig fehlen. "Dafür stellten wir aber in den pflanzlich hergestellten Antikörpern Glykosylierungen fest, die nur in Pflanzen vorkommen können", erläutert Prof. Strasser

weiter.

Feste Bindung

Trotz dieser rein pflanzentypischen Glykosylierungen der in *N. benthamiana* hergestellten Antikörper wiesen diese die gleichen Bindungseigenschaften für Antigene auf wie die in menschlichen Zellen hergestellten. Von daher würde man vermuten, dass es für die therapeutische Anwendung keinen Unterschied macht, welches System verwendet wird. Weitere Analysen des Teams um Prof. Strasser zeigten jedoch, dass die Stabilität der Immunglobuline A je nach Herstellung unterschiedlich waren; eine Tatsache, die durchaus therapeutische Relevanz haben könnte. Untersucht wurde dabei die thermische Stabilität der Antikörper, die sich für pflanzlich produziertes Immunglobulin A als geringer herausstellte. "Inwieweit das von Bedeutung für den therapeutischen Einsatz dieser Antikörper ist, müssen nun weitere Untersuchungen zeigen", meint Prof. Strasser.

Dafür hat sein Team an der EQ BOKU die allerbesten Voraussetzungen. Denn modernste Massenspektrometer, Chromatographieverfahren oder Kalorimeter stehen hier den Teams der Universität zur Verfügung – und gemeinsam mit dem Know-how der dortigen ExpertInnen auch für Nutzer aus anderen akademischen Einrichtungen oder der Industrie.

Quelle: Presseinformation: EQ BOKU

Literatur:

Originalpublikation: Exploring Site-Specific N-Glycosylation of HEK293 and Plant-Produced Human IgA Isotypes. K. Görtzer, D. Maresch, F. Altmann, C. Obinger and R. Strasser. J. Proteome Res. 2017, 16, 2560–2570. DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00121