

Firmenportrait: Cilian (Münster)

# Per Wimpernschlag zur Grippeimpfung

■ Gestern noch im Tümpel hinterm Haus, heute auf großer wissenschaftlicher Bühne: Die Hauptdarsteller des Münsteraner Biotech-Unternehmens Cilian produzieren rekombinante Enzyme, Impfstoffe und Antikörper.

Grauer Himmel, Nieselregen, Studenten auf Fahrrädern. Keine Frage – das heutige Interview findet in der westfälischen Universitätsmetropole Münster statt. Die Cilian AG hat ihren Sitz im Technologiepark, natürlich in radelbarer Entfernung zu Hochschule, Unikliniken und Max-Planck-Institut. 80 Quadratmeter Labor- und Bürofläche wurden 2001 in nur vier Monaten aus dem Boden gestampft, um der jungen Universitäts-Ausgründung mit mittlerweile 14 Mitarbeitern Unterschlupf zu gewähren. So berichtet es Marcus Hartmann, Gründer und Leiter der Forschungs- und Entwicklungsabteilung.

Bereits als Doktorand am Institut für Allgemeine Zoologie und Genetik erforschte Hartmann die Kultivierung von Wimperntierchen in Fermentern. Nachdem er in der ehemaligen

Hoechst AG in Frankfurt Konzernluft geschnuppert hatte, bemühte er sich um Fördermittel für seine Idee der Produktion von Biopharmazeutika in Ciliaten. Während seiner Postdoc-Zeit in Münster trat er mit seinem Businessplan zur Unternehmensgründung an Risikokapitalgeber heran und konnte 2001 schließlich die Cilian AG aus der Taufe heben. Noch immer ist die Firma auf Investoren und staatliche Fördermittel angewiesen. Aber zahlreiche Publikationen, Patente und Auszeichnungen zeigen, dass das Unternehmen auf einem guten Weg ist.

## Tetrahymena: Mit 50 µm ein wahrer Riese

Namensgebend für die Ciliaten ist ihr feiner Pelz aus Wimpern (Cilien), welcher der Fortbewegung dient. Das natürliche Habitat von *Tetrahymena thermophila* sind Seen, Tümpel und seichte Bäche. Mit etwa 50 µm Länge sind sie wahre Riesen, verglichen mit Bakterien und so mancher Säugerzelle. Das Genom des für Mensch und Tier ungefährlichen Einzellers ist seit 2006 bekannt und kann im Labor beinahe beliebig manipuliert werden. Der Nutzen als heterologes Expressionssystem liegt daher nahe.

Praktischerweise fressen Wimperntierchen so ziemlich alles: komplexe und definierte Medien, mal rein pflanzlich und auf



Links der Chef, Marcus Hartmann, rechts das Gros seiner vierzehnköpfigen Mannschaft.

jeden Fall ohne undefinierbare Seren wie FCS (Fetales Kälberserum). In Fermentern produzieren sie dank ihrer Generationszeit von etwa drei Stunden flugs große Mengen gewünschter Biopharmazeutika. Die Kulturbedingungen in Kombination mit der Aufreinigung der Genprodukte mittels klassischer chromatographischer Methoden lassen auf hohe Reinheit und Reproduzierbarkeit hoffen – Voraussetzungen für den großtechnischen Maßstab in der pharmazeutischen Industrie.

Als Beispiel führt Hartmann ‚Cilase‘ an, das seine Firma in Kooperation mit den Unikliniken Münster und Bochum für Patienten mit einer Bauchspeicheldrüsenerkrankung (*exocrine pancreatic insufficiency*, EPI) entwickelt hat. Diese leiden unter Mangelernährung und Gewichtsverlust als Folge einer gestörten Verdauung von Lipiden und Proteinen. Bisher erhalten die Patienten Pankreatin, ein Gemisch aus Lipasen, Amylasen und Proteasen, welches aus Bauchspeicheldrüsen geschlachteter Hausschweine gewonnen wird. Aber Schlachtabfälle bergen Risiken: Neben einer schlechten Standardisierung (jedes Schwein ist anders) bringt die Aufreinigung des Enzymgemisches aus tierischem Gewebe die Gefahr der Verunreinigung mit pathogenen Erregern oder Antibiotikarückständen mit sich. Für den Wirkstoff Cilase hingegen werden saure Lipasen aus *Tetrahymena* unter standardisierten Bedingungen im Labor hergestellt.

#### 45-mal mehr Chromosomenpaare, 45-mal mehr Protein

Möglich wird dies mithilfe des hauseigenen Expressionssystems CIPEX (*ciliate performance expression system*). Je nach Kundenwunsch lassen sich die induzierbaren oder konstitutiven Vektoren dieses Systems durch homologe Rekombination stabil in das Ciliaten-Genom integrieren oder als High-Copy-Number-Plasmide autonom exprimieren. Bei der Integration kommt dem Forscher der Kerndimorphismus von *Tetrahymena* zu Hilfe. Denn während der Mikronukleus fünf Chromosomenpaare besitzt, wartet der Makronukleus mit der immerhin 45-fachen Menge auf. Die DNA mit dem codierenden Bereich für das Wunschprotein wird auf Goldpartikel geschichtet und mittels einer Gen-Kanone in immobilisierte *Tetrahymena*-Zellen geschossen. Nach der Integration der Expressionskassette beispielsweise in ein Stoffwechselgen kann das Fremd-Gen angereichert werden, bis es nach etlichen vegetativen Zellteilungen in dem nunmehr isozygoten Organismus 45-ploid vorliegt. Das bedeutet: 45-mal mehr rekombinantes Protein.

Der Markt scheint reif für Biopharmazeutika aus Ciliaten. Das zeigt die Liste der Kooperationspartner und Kunden der Cilian AG: Impfstoffe, Antikörper und Enzyme – bereits 14 biopharmazeutische Proteine hat das Unternehmen im Repertoire. Auch andere Forschungsgruppen exprimieren Proteine in Ciliaten. Dennoch ist sich Hartmann sicher, dass er mit seinen Biopharmazeutika ziemlich einzigartig ist.

Was alles möglich ist, zeigt der Blick auf die Antikörper, beispielsweise gegen maligne Lymphome. Das betreffende Immunglobulin wird komplett in Ciliaten synthetisiert; eine erstaunliche Leistung bei einem immerhin 150 kDa großen Brocken. Die Wimperntierchen meistern die komplexe Tertiärstruktur samt Disulfidbrücken und sekretieren anschließend ein korrekt gefaltetes, funktionelles IgG. Das ist nicht selbstverständlich. Denn „immerhin ist *Tetrahymena* stammesgeschichtlich so alt, dass er keine Antikörper kennt“, berichtet Hartmann.

Zunutze macht sich die Firma eine weitere Besonderheit der Ciliaten: Im Gegensatz zu Säugerzellen, die ihre Genprodukte komplex glykosylieren, begnügen sich Wimperntierchen mit recht simplen Oligomannose-Strukturen. „Zusätzliche Zuckerstruk-

turen haben den Nachteil, dass sie stark immunogen sind“, erklärt Hartmann. Und das sei bei Pharmazeutika unerwünscht. Zudem fehle bei Proteinen aus Ciliaten das Monosaccharid Fukose, welches die Effektorfunktion eines Antikörpers reduziere. Die antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität lasse sich durch das Fehlen von Fukose um den Faktor 10 bis 100 erhöhen; für die Immuntherapie bei Krebs ein immenser Vorteil. Es sei nur ein Bruchteil bisher eingesetzter Antikörper-Mengen nötig, was einerseits die Nebenwirkungen und andererseits die Kosten reduziere.

Kurzum: „Wir fügen den therapeutischen Proteinen Eigenschaften hinzu – nur dadurch, dass wir Ciliaten verwenden.“

#### Die besonderen Eigenschaften der Ciliaten-Proteine

Der Schritt vom Antikörper zum Impfstoff ist naheliegend, und so entwickelt die Firma auch rekombinante Human- und Tier-Vakzine. Der Grippeimpfstoff „CiFlu“ ist das am weitesten fortgeschrittene Projekt. Zusammen mit der Proinnovera GmbH, einem Münsteraner Auftragsforschungsunternehmen für klinische Forschung und Entwicklung, strebt Cilian nach erfolgreichen Tests im Mausmodell in den kommenden 20 Monaten den Schritt in die Präklinik und die klinischen Phasen an.

Die konventionelle Herstellung eines Grippevakzins in Hühnereiern oder Zellkulturen benötigt bis zu 28 Wochen. Da die angereicherten Viren humanpathogen sind, unterliegt die Produktion strengen Sicherheitsvorkehrungen und ist nur in speziellen Anlagen möglich. Das treibt die Produktionskosten in die Höhe. Auch produktionsbedingte Rückstände, etwa Antibiotika und Hühnereiweißbestandteile, sind ein Problem. Ein Risiko, dass man laut Hartmann nicht eingehen muss, wenn man rekombinant herstellt.

Für CiFlu wird nicht das komplette Virus hergestellt, sondern lediglich das immunogene Oberflächenantigen Hämagglutinin. In einem *Tetrahymena*-Transformanten kann so ein tri- oder gar quadrovalenter Impfstoff entstehen: ein Impfstoff gegen drei beziehungsweise vier unterschiedliche Grippe-Erregerstämme. Die Produktionszeit verringere sich auf 18 Wochen, die Kosten seien deutlich geringer, die Reinheit höher.

Hartmann sagt, er habe sich bewusst gegen eine Universitätskarriere entschieden, um nicht später als Hochschulprofessor „nur nebenbei ein bisschen Biotechnik zu machen“. Rückhalt aus seinem persönlichen Umfeld und die richtige Zeit seien unverzichtbare Faktoren beim erfolgreichen Start seiner Biotechfirma gewesen – und eine gesunde Portion Selbstvertrauen. Denn: „Wenn’s einfach wäre, könnt’s ja jeder.“ SIGRID MÄRZ

## Mit uns schaffen Sie es...

### ISO 9001 - ISO 13485 GMP & GLP

OrgaConnect GmbH Maieräckerstr. 25 72108 Rottenburg  
+49 (0)7472 95 17 6-10 [www.OrgaConnect.de](http://www.OrgaConnect.de)