

Tabelle 1: Herstellung monoklonaler Antikörper: Vergleich Aszites-Maus und Zellkultur-Methoden

	Aszites-Methode	Zellkultur/Bioreaktor	
Grundlagen	Hybridomzellen werden in den Bauchraum von Mäusen injiziert. Dort bilden sie Tumore, die Antikörper an die Aszitesflüssigkeit abgeben. Die Aszites wird mehrfach durch Punktion gewonnen.	Zellen (Hybridomzellen oder Produktionszellen) werden in Zellkulturgefäßen oder Bioreaktoren kultiviert und geben den Antikörper an das Zellkulturmedium ab.	
Tierverbrauch	Ja, die Anzahl der verwendeten Tiere steigt mit der Menge des benötigten Antikörpers.	Tierfrei möglich. Häufig werden jedoch dem Medium tierische Seren zugesetzt.	
Maßstab und Skalierbarkeit	Menge an Antikörper pro Maus begrenzt (bis ca. 50 mg/Maus).(1) Skalierbarkeit nur über Anzahl der eingesetzten Mäuse möglich.	Im Bioreaktor hohe Ausbeuten möglich (5 g/l). Menge durch Verwendung von Schüttelkolben und verschieden großen Bioreaktoren beliebig skalierbar.	
Prozesskontrolle	Keine Kontrolle.	Vollständig kontrollierbar.	
Prozessführung	Diskontinuierlich. Mäuse leben nur wenige Wochen nach der Hybridoma Injektion.	Kontinuierliche Produktion möglich (bspw. im Perfusionsbioreaktor).	
Kosten	Investitionskosten	Kosten je Maus gering. (BALB/c Maus im Bereich 20 €).(2)	Kosten für Schüttelkolben gering (ca. 13 €).(3) Kosten für Bioreaktoren hoch.
	Laufende Kosten	Haltungskosten pro Maus: ca. 3 €/Monat.(4)	Kosten für Medium: 33 \$/l (ca. 32 €/l).(5)
	Kostenabschätzungⁱ im kleinen Maßstab	Verbrauchsmaterialien pro Gramm Antikörper: ~ 460 €. ⁱⁱ	Verbrauchsmaterialien pro Gramm Antikörper im Schüttelkolben: ~ 162 €. ⁱⁱⁱ
	Kostenabschätzungⁱ im großen Maßstab	Großer Maßstab nicht möglich.	Im Bioreaktor je nach Maßstab und Prozessführung: ~ 24 € ^{iv} - 192 € ^v
Qualität	Affinität	Hoch.	Hoch.
	Spezifität	Mittel bis hoch.	Hoch.
	Mögliche Verunreinigungen	Antikörper anderer Spezifitäten, Zytokine, Fremdproteine, auch Viren möglich.	Fremdproteine und Viren möglich (insbesondere wenn das Zellkulturmedium Serum enthält).(6)

- i. Es handelt sich hier um eine Abschätzung, für die bei der Aszites-Methode die Kosten der Maus sowie Haltungskosten für einen Monat berücksichtigt wurden. Bei der Herstellung im Bioreaktor wurden die Herstellungskosten (Costs of Goods, CoG) der Produktionsphase („Upstream-Processing“) berücksichtigt. Kosten für die Aufreinigung („Downstream-Processing“) und Qualitätskontrolle fallen bei beiden Herstellungsverfahren an und wurden daher hier nicht berücksichtigt.
- ii. Berechnungsgrundlage: Eine Maus kostet ca. 20 €, ihre Haltung für einen Monat 3 €. Je Maus können bis zu 50 mg Antikörper gewonnen werden. Kosten pro Gramm Antikörper: $((20 \text{ €} + 3 \text{ €})/50 \text{ mg}) \times 1000 = 460 \text{ €/g}$
- iii. Berechnungsgrundlage: Ein Einwegschüttelkolben kostet ca. 13 €, ein Liter Medium ca. 32 €. Unter Annahme einer Befüllung des Kolbens mit 100 ml Medium und einem erreichbaren Titer von 1 g/l ergibt sich für die Kosten pro Gramm Antikörper: $(13 \text{ €} + 0,1 \text{ l} \times 32 \text{ €/l})/0,1 \text{ g} = 162 \text{ €/g}$
- iv. Im Einwegbioreaktor im Produktionsmaßstab von 3000 kg/Jahr; Kosten für das Upstream-Processing ca. 25 \$/kg (derzeit etwa 24 €/kg)(5)
- v. Im Edelstahlreaktor im Produktionsmaßstab von 100 kg/Jahr; Kosten für das Upstream-Processing ca. 200 \$/kg (derzeit etwa 192 €/kg)(5)

Tabelle 2: Entwicklung von monoklonalen Antikörpern: Vergleich Hybridoma Technik und Phage-Display

	Hybridoma	Phage-Display	
Grundlagen	Ein tierisches (oder gentechnisch teilweise humanisiertes) Immunsystem wird in vivo ausgenutzt, um Antikörper gegen ein gewünschtes Antigen zu erzeugen. B-Lymphozyten werden aus dem Tier isoliert und mit Krebszellen zu Hybridomzellen fusioniert, die Antikörper erzeugen.	Ein menschliches (oder tierisches) Immunsystem wird in vitro verwendet, um Antikörper gegen ein gewünschtes Antigen zu erzeugen. Dazu wird aus dem Blut von Spendern DNA isoliert und in Phagen eingebaut. Die DNA zur Erzeugung des passenden Antikörpers wird in Produktionszellen eingebracht.	
Tierverbrauch	Zur Immunisierung werden Tiere (überwiegend Mäuse) eingesetzt und getötet. Teilweise werden Mäuse auch zur Antikörperproduktion verwendet (siehe Ascites-Methode).	Bei Verwendung synthetischer oder humaner Bibliotheken kein Tierverbrauch. Zum Teil werden aber auch Bibliotheken aus immunisierten Tieren verwendet.	
Prozesskontrolle	Gering. Einflussnahme kann nur indirekt erfolgen (durch Auswahl des zur Immunisierung verwendeten Antigens, oder im Anschluss durch aufwendige Screenings von sehr vielen Zellen).	Hoch. Bereits während des Prozesses können Gegenselektionen durchgeführt werden, um die Spezifität der Antikörper zu lenken.	
Einsetzbarkeit	Für nicht-immunogene oder toxische Substanzen schwer umsetzbar.	Auch für nicht-immunogene und toxische Substanzen einsetzbar.	
Qualität	Affinität	Hohe Affinität.	Hohe Affinität möglich.
	Spezifität	Hohe Spezifität möglich, aber nicht steuerbar.	Hohe Spezifität gezielt erreichbar.
	Human?	Bei Einsatz gentechnisch veränderter Mäuse teilweise humane Antikörper. Sonst spätere Humanisierung nötig.	Vollständig humane Antikörper durch Verwendung humaner Bibliotheken.

Literaturangaben

- (1) Peterson, N. C. Behavioral, clinical, and physiologic analysis of mice used for ascites monoclonal antibody production. *Comp. Med.* 2000, 50 (5), 516–526
- (2) Charles River 2019 Catalog,
<https://Larc.Ucsf.Edu/Sites/Larc.Ucsf.Edu/Files/Wysiwyg/RM-Catalog-2019-US-Full-Version.Pdf>
- (3) <https://www.Fishersci.de/Shop/Products/Fisherbrand-Shaker-Flasks-16/11715253>
- (4) DFG: Information für die Wissenschaft Nr. 106, 21. Dezember 2020, Anpassung der Tierhaltungspauschale für Mäuse und Ratten.
- (5) Mahal, H. et al. End-to-end continuous bioprocessing: impact on facility design, cost of goods, and cost of development for monoclonal antibodies. *Biotechnol. Bioeng.* 2021, 118 (9), 3468–3485
- (6) Marx, U. et al. Monoclonal antibody production: the report and recommendations of ECVAM workshop 23. *Altern. Lab. Anim.* 1997, 25 (2), 121–135