

# LUCULLUS®: VALIDIERTES DATEN-ARCHIV FÜR MRNA-IMPSTOFF-PRODUKTIONSPROZESSE

Geschrieben von: Andreas Riklin

## Abstrakt

Impfstoffe auf der Basis von Boten-RNA (mRNA) wurden während der COVID-19-Pandemie bekannt. Diese neuartige Alternative zu herkömmlichen Impfstoffen ist aus mehreren Gründen auf dem Vormarsch: Einerseits kodieren mRNA-Impfstoffe nur für ein spezifisches Antigen, haben eine kurze, kontrollierbare In-vivo-Halbwertszeit, sind nicht inserierbar und nicht infektiös und daher äußerst sicher in der Anwendung[1]. Andererseits ist die mRNA-Herstellung im Vergleich zur zellbasierten Herstellung von Biopharmazeutika schnell und leicht skalierbar und weist eine hohe Produktivität auf. Die Herstellung von mRNA-Impfstoffen besteht aus einer Reihe von Prozessschritten, von der Produktion im Bioreaktor über die anschließende Aufreinigung in mehreren Schritten bis hin zur Formulierung. Bei mRNA-Therapien handelt es sich jedoch um eine neue Technologie, die Plattform entwickelt sich weiter, und die Prozessparameter ändern sich rasch[2]. Die Lucullus® Process Information Management Software ist die ideale Lösung für die Überwachung von Prozessparametern, die Aufzeichnung von Prozessdaten in einer zentralen Datenbank sowie die Prozesskontrolle über alle Schritte im mRNA-Herstellungsprozess - sowohl im Upstream als auch im Downstream - vom Entwicklungslabor bis zur Produktion. Die geräteunabhängige und modulare Architektur von Lucullus® bietet die notwendige Flexibilität, um Geräte verschiedener Hersteller und mit unterschiedlichen Datenschnittstellen zu integrieren.

kundenindividuell mit einer einzigen Software realisiert werden.

## mRNA-Impfstoffe

Messenger-RNA-Impfstoffe beruhen auf einem ähnlichen Prinzip, doch statt inaktivierter Viren oder viraler Proteine werden mRNAs mit der Anweisung, virale Antigene zu produzieren, in den Körper eingebracht. Um mRNA-Moleküle effizient in das Zytosol zu bringen, werden mRNA-Trägersysteme verwendet, zu denen virale Trägersysteme, lipidbasierte Träger, (kationische) Polymere und Peptide gehören[3]. Die Verabreichung einer mRNA in das Zytosol einer Zelle löst potenziell die Produktion eines Zielproteins aus, das als Therapeutikum oder Prophylaktikum fungieren kann, als Antigen eine Immunantwort zu Impfpurcken auslöst, ein defektes Protein ersetzt oder eine Antitumorreaktion auslöst. Daher haben mRNA-Impfstoffe auch das Potenzial, vor anderen Infektionen zu schützen und eine Vielzahl von Krankheiten zu behandeln, darunter Krebs, HIV, Grippe und sogar genetische Störungen[4].

Abbildung 1: Die mRNA kodiert für das Spike-Protein des Virus

Im Vergleich zu anderen Verabreichungssystemen sind virale Verabreichungssysteme wie adeno-assoziierte Viren (AAV) gut etabliert und als Vektoren für Impfstoffe und Gentherapien zugelassen. Virale Verabreichungssysteme können zu Immunogenität und häufigeren systemischen Nebenwirkungen führen[5]. Außerdem ist der Herstellungsprozess wesentlich komplexer und für gentherapeutische Anwendungen sind hohe Titer erforderlich. Im Gegensatz dazu können für mRNA-Produktionsverfahren einfache und robuste Plattformen im Produktionsmaßstab geschaffen werden. Unternehmen können mRNA-Impfstoffe relativ schnell entwickeln, sobald sie die genetische Sequenz des Erregers kennen, und können sich so auf die Prozessentwicklung konzentrieren. COVID-19-Impfstoffe sind wahrscheinlich erst der Anfang der mRNA-Revolution. Die steigende Nachfrage nach mRNA-Impfstoffen erfordert eine Technologieplattform und ein kostengünstiges Herstellungsverfahren mit genau definierter Produktcharakterisierung.

## Der mRNA-Herstellungsprozess

Die großtechnische Herstellung von mRNA-Impfstoffen besteht aus einer ein- oder zweistufigen In-vitro-Reaktion, gefolgt von einer mehrstufigen Reinigung, die DNase-Verdau, Ausfällung, Chromatographie oder Tangentialflussfiltration umfassen kann.

## Herstellung einer pDNA-Vorlage

Die Linearisierung ist erforderlich, um Transkriptionseignisse zu vermeiden, die unerwünschte Formen von mRNAs erzeugen können. Dazu wird die Plasmid-DNA mit einem Restriktionsenzym in einem Reaktionspuffer gemischt[1]. Verunreinigungen wie das Restriktionsenzym, BSA, DNA-Fragmente, Endotoxine und andere werden dann durch Tangentialflussfiltration (TFF) oder Chromatographie entfernt.

## In vitro Transkription

Der nächste Schritt ist die In-vitro-Transkription, bei der linearisierte pDNA, die als DNA-Vorlage dient, in mRNA umgeschrieben wird. Bei dieser enzymatischen Reaktion werden Elemente des natürlichen Transkriptionsprozesses verwendet, darunter RNA-Polymerase und Nukleotidtriphosphate. Nach der Transkription benötigt die endgültige mRNA-Struktur eine 5'-Cap-Struktur, um stabil zu sein und in der Zelle effizient übersetzt zu werden[4].

## mRNA-Reinigung

Nach dem Schritt der In-vitro-Transkription wird die mRNA von Verunreinigungen und Materialien wie Endotoxinen, immunogener doppelsträngiger RNA (dsRNA), DNA-Templat-Resten, RNA-Polymerase und elementaren Verunreinigungen gereinigt. Für die mRNA-Reinigung stehen mehrere Optionen zur Verfügung, z. B. TFF oder Chromatographieschritte, einschließlich Umkehrphasen-Ionenpaar, Anionenaustausch und Affinitätschromatographie mit Poly(dT)-Trennung[5].

Nach der Reinigung erfolgt die endgültige Konzentration und Diafiltration, um die Produktreinheit zu maximieren und die mRNA in den entsprechenden Puffer für die Formulierung oder Lagerung zu überführen.

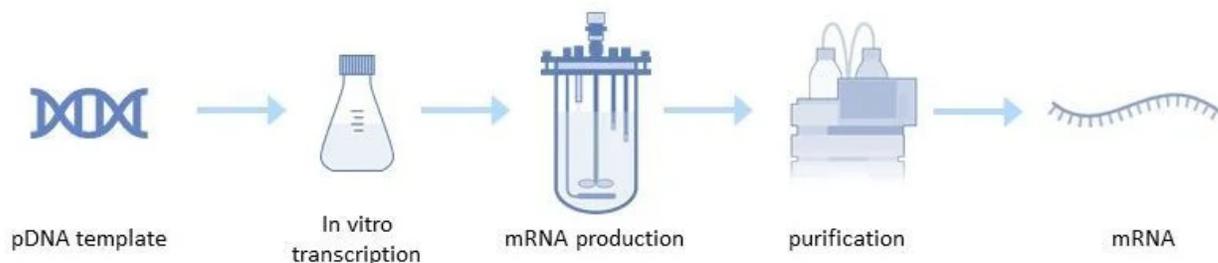


Abbildung 2: mRNA-Produktionsprozess

## Lipid-Nanopartikel (LNP)

Ebenso wichtig für die Wirksamkeit von mRNA-Impfstoffen und -Therapeutika sind die Transportmittel. Lipid-Nanopartikel (LNP) werden am häufigsten für die mRNA-Übertragung verwendet. Jeder Lipid-Nanopartikel besteht aus vier verschiedenen Lipiden, die den Transport der mRNA im Inneren ermöglichen und sie vor dem Abbau schützen. Diese Lipide sind auch für die effiziente Freisetzung der RNA in das Zytoplasma verantwortlich. Die Struktur der kationischen Lipide hat einen großen Einfluss auf die Aktivität der LNP, ihre Toxizität und Biodistribution, was wiederum die potenziellen toxischen Wirkungen im Körper beeinflusst[6]. Um mit der endgültigen

entsprechenden Materialeigenschaften des Lipids selbst abhängt.

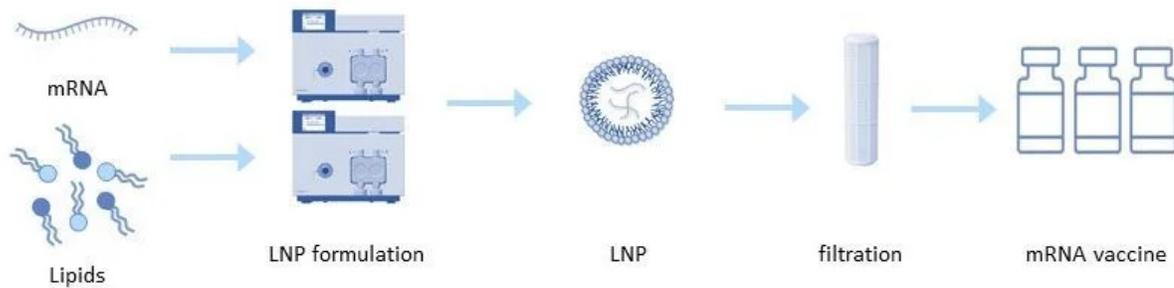


Abbildung 3: Formulierung von Lipid-Nanopartikeln

Die gereinigte mRNA kann mit verschiedenen Techniken in das Verabreichungspartikel formuliert werden. Bei der üblichen Lösungsmittelinjektionstechnik werden die Lipide in einem Lösungsmittel wie Ethanol gelöst und schnell in einen wässrigen Puffer mit niedrigem pH-Wert, der die mRNA enthält, gemischt. Der Puffer mit niedrigem pH-Wert wird dann in einen neutralen Puffer diafiltriert, wobei die Partikel durch Ultrafiltration konzentriert werden[5].

## Prozessüberwachung und -steuerung mit Lucullus®

Für die einzelnen oben beschriebenen Prozessschritte werden unterschiedliche Geräte eingesetzt. Diese reichen von einfachen Sensoren, Waagen und Pumpen bis hin zu Bioreaktorkontroll- und Chromatographiesystemen. Diese Geräte stammen in der Regel von verschiedenen Herstellern. Unterschiedliche Modelle von Geräten erhöhen die Komplexität einer Anlage. Das Ziel vieler Hersteller ist es, Daten von allen Geräten in jedem Prozessschritt zu sammeln und sie in einer einzigen Datenbank zur Überwachung und Überprüfung zu speichern. Bei bestimmten Betriebseinheiten (z. B. USP-Bioreaktor, LNP-Formulierung) wollen die Hersteller die Prozesse auch automatisieren und fernsteuern. Da die Software in einer GMP-Umgebung betrieben wird, muss sie validiert werden. Der Hersteller muss also die erforderlichen IQ/OQ-Tests durchführen und die erforderliche Dokumentation vorlegen. Das Lucullus® Process Information Management System (Securecell AG, Schweiz), dessen erste Version 1995 auf den Markt kam, ist eine hochentwickelte und umfassende zentrale Datendrehscheibe für die Verwaltung und Kontrolle von Bioprozessen. Lucullus® bietet eine übergreifende, flexible und wissenschaftlerfreundliche SCADA-Funktionalität. Es ist als zentralisierte Datenerfassungs-, Überwachungs- und Steuerungsplattform für die vor- und nachgelagerte Entwicklung konzipiert, um Aktivitäten auf einer Interaktions- und Steuerungsebene zu harmonisieren, die über die der einzelnen Geräte hinausgeht.

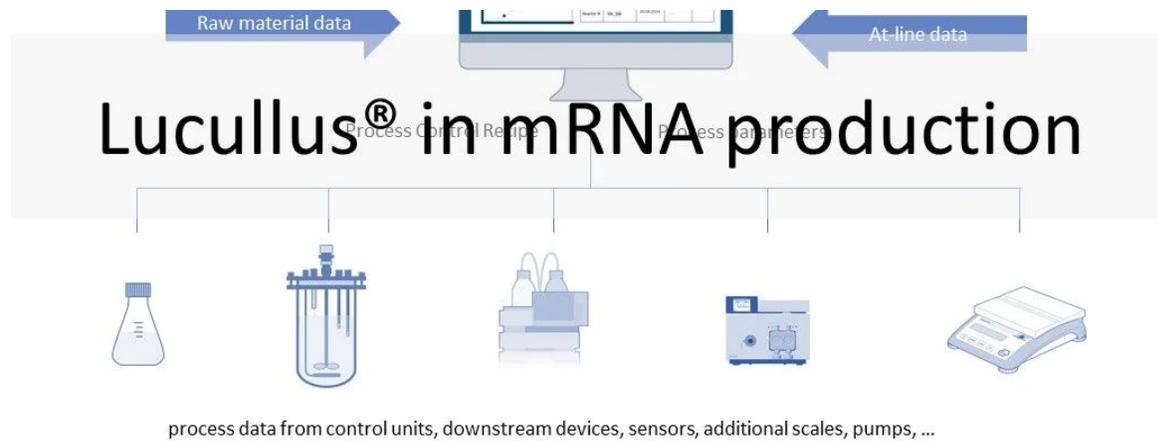


Abbildung 4: Lucullus® Prozess-Informations-Management-Software

Die geräteunabhängige und modulare Architektur von Lucullus bietet die Flexibilität, Geräte verschiedener Hersteller und mit unterschiedlichen Datenschnittstellen zu integrieren und alle Aufgaben der Prozessautomatisierung zu übernehmen. Online-Gerätedaten (von den Prozesseinheiten) werden mit probenbasierten Ergebnissen aus der At- oder Offline-Analytik zusammengeführt und können auch zur Prozesssteuerung verwendet werden. Die integrierte Medienverwaltung ermöglicht die Digitalisierung von Aktivitäten in der Medienküche (Puffer, Zuführung, Bulk-Medien) und bietet gleichzeitig einen sauberen Arbeitsablauf für die Verknüpfung von Mediovorbereitungsaufzeichnungen mit Prozesseinheiten, um die Rückverfolgbarkeit von Rohmaterial und Prozessergebnissen zu gewährleisten. In Kombination mit Securecells PAT-System Numera® deckt Lucullus® die gesamte Probenplanung, das Triggern von Proben und die Verarbeitung von Online- und Offline-Daten von allen analytischen Instrumenten ab. Securecell bietet mit Lucullus® eine leistungsstarke und vielseitige Lösung, um Kunden im Bereich der mRNA-Produktentwicklung und -produktion mit den neuesten Technologien der Digitalisierung des Bioprozesses zu unterstützen.

## Referenzen

1. Pardi, N., Hogan, M., Porter, F. et al. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 17, 261–279 (2018). <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.243>
2. Sartorius AG. The Next Generation of Vaccines Therapies – mRNA Vaccines. [www.sartorius.com](http://www.sartorius.com), 2022. [Internet]
3. Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, Marques MPC. mRNA vaccines manufacturing: Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021 Apr 15; 39(16):2190–2200. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.03.038.
4. Sara Sousa Rosa, Duarte M.F. Prazeres, Ana M. Azevedo, and Marco P.C. Marques. mRNA vaccines manufacturing: Challenges and bottlenecks. *Vaccine*. 2021 Apr 15; 39(16): 2190–2200
5. Laurens Vergauwen, Dr. Nargisse El Hajjami, Mag. Manuel Brantner, Dr. Shiksha Mantri and Bahar Cebi. Manufacturing Strategies for mRNA Vaccines and Therapeutics. *BioProcess Online*. [Internet]
6. Bancel S, Issa J, Aunins J. Ribonucleic acid purification (Patent No. WO2014152031A1). [Internet]

## Andreas Riklin

---



Andreas hat seinen Bachelor-Abschluss in Biotechnologie an der Fachhochschule in Wädenswil, Schweiz, gemacht. Seit der Gründung der Securecell AG ist er ein fester Bestandteil des Unternehmens und bringt aus seiner vorherigen Tätigkeit eine Fülle von Erfahrungen und Fachkenntnissen im Bereich der Bioprozessautomatisierung und des Projektmanagements mit. Bei Securecell spielte Andreas eine entscheidende Rolle bei der Weiterentwicklung des Numera®-Probenahmesystems. Er war an jeder Phase der Produktentwicklung beteiligt, von der ersten Idee bis zur erfolgreichen Markteinführung. Er entwickelte und implementierte einen umfassenden Geschäftsplan und überwachte alle notwendigen Maßnahmen für eine erfolgreiche Geschäftsentwicklung. Im Jahr 2019 hat Andreas die Leitung der Marketingabteilung übernommen und führt seitdem das Team mit großem Sachverstand.

### Stichworte

---

LUCULLUS

### In Verbindung stehende Artikel

---



## FORTSCHRITTLICHE ECHTZEITÜBERWACHUNG IN EINEM KONTINUIERLICHEN BIOPROZESS

März 24, 2023

## DIGITALISIERUNG UND ROUTINEMÄSSIGE ÜBERWACHUNG UND STEUERUNG VON BIOPROZESSEN

März 24, 2023

[Download as PDF](#)

[Share](#)



[Über Uns](#)

[Kontakt](#)

[Karriere](#)

[Investorseiten](#)

[Haftungsausschluss](#)

[Impressum](#)

[Geschäftsbedingungen](#)

[Datenschutzrichtlinie](#)



© SECURECELL AG 2023. All rights reserved