

ANALYTIK

Biotech-Eigentumsrechte – Schutz durch DNA-Forensik

Durch gefälschte Medikamente wird nicht nur die Gesundheit von Patienten gefährdet, sondern auch die Pharmaindustrie jährlich um Milliardenereinnahmen betrogen. Dabei gibt es Nachweisverfahren, die sich den genetischen Fingerabdruck rekombinanter Produkte zu Nutze machen.

Bei der Herstellung von pharmazeutischen Wirkstoffen, Chemikalien oder Lebensmitteln mit Hilfe von biotechnologischen Verfahren verbleiben kleinste Spuren von DNA im Endprodukt. Diese unerwünschten DNA-Spuren erweisen sich manchmal als verräterisch. Mit ihrer Hilfe können Patentverletzungen nachgewiesen werden.

DNA spielt eine zentrale Rolle bei der Definition und Optimierung von biotechnologischen Produkten. In der Folge steht auch bei biotechnologischen Patenten die DNA direkt im Fokus oder ist zumindest mit dem Patent assoziiert. Dabei sind biotechnologische Patente überdurchschnittlich komplex und umfangreich [1]. Deshalb sind sie schwierig aufzufinden und als relevant zu erkennen, was oft zu Patentverletzungen aus Nicht-Wissen führen dürfte. In der akademisch geprägten Biotechnologie gibt es zudem regen Informationsaustausch durch



Tagungen, Publikationen sowie wechselnde Kooperationen und Mitarbeiter. Gerade europäische Wissenschaftler scheinen den Schutz ihrer Erfindungen oft nicht ernstzunehmen [2]. Durch sensitive Analytik von originalen Produkten ist es Konkurrenten möglich, Rückschlüsse auf Fertigungsprozesse

zu ziehen und durch Nachahmung eigene Entwicklungskosten und -zeit einzusparen. Letztendlich stellen die Patentschriften selbst Anleitungen zur Nachahmung dar. Mit stark zunehmender wirtschaftlicher Bedeutung der Biotechnologie dürfte der Bedarf an Nachweisverfahren für Patentverletzungen im selben Maße steigen.

Die Autoren



Dr. Jens Wiehler ist seit 2006 bei Eurofins Medigenomix für Geschäftsentwicklung verantwortlich. Die Eurofins-Gruppe ist mit über 8.000 Mitarbeitern ein weltweit führender Dienstleister für chemische und biologische Laboranalytik. Der Diplom-Biologe mit Hintergrund Populationsgenetik promovierte 2001 an der LMU München bei Prof. Dr. Ernst-Ludwig Winnacker im Bereich Protein Engineering und war dann bei der Biomax Informatics AG im Bereich Vertrieb und Produktmanagement tätig. **Dr. Rainer Schubert** ist seit 1998 technischer Leiter des Labors für DNA-Forensik und angewandte DNA-Analytik der Eurofins Medigenomix GmbH. Er hat mehr als 15 Jahre Erfahrung in der DNA-Forensik und bei der Analyse von kleinsten DNA-Spuren in vielfältigen Materialien. Schubert ist langjähriger Gutachter in Gerichtsverfahren, auch in Patentverfahren. Er promovierte 1995 bei Prof. Dr. Walter Doerffler, Uni Köln, zum Thema Nachweis fremder DNA im Säugerorganismus.



DNA-Spuren selbst in Biopharmazeutika

In den vergangenen Jahren haben sich die analytischen Methoden zum Nachweis von DNA erheblich verbessert. Dadurch wird heute eine sehr hohe Sensitivität der Analysen erreicht. In kriminologischen DNA-Laboren werden täglich aus mikroskopisch kleinen Hautschüppchen oder winzigsten Blutanhaftungen DNA-Profile erstellt (DNA-Fingerabdruck), die zur Verbrechensaufklärung beitragen [3].

Produktionssysteme zur biotechnologischen Herstellung können tierischer, mikrobieller oder pflanzlicher Natur sein. Oft werden Bakterienkulturen oder Säuger-Zelllinien verwendet; zukünftig ist aber auch die verstärkte Nutzung transgener Tiere oder Pflanzen zu erwarten. Gerade bei der Herstellung von medizinischen Produkten wird darauf

geachtet, dass die eigentliche Wirksubstanz möglichst schonend und hochrein aus dem Ausgangsmaterial isoliert wird. Dennoch bleiben oft geringste Mengen DNA aus den Produktionszellen in den verwendeten Fraktionen enthalten, die regulatorisch beispielsweise auf unter 100 Pikogramm pro Dosis begrenzt sind, entsprechend der DNA von 17 diploiden Chinese Hamster Ovary (CHO)-Zellen [4]. Diese Residuen werden beispielsweise genutzt, um Heparin-haltige Arzneimittel darauf zu testen, ob wie vorgeschrieben ausschließlich Rohmaterialien von Schweinen verwendet wurden. Bei der Herstellung von Verbrauchsmaterialien für Zellkulturen oder medizinische Zwecke kann ein erfahrenes Labor in der routinemäßigen Qualitätskontrolle bereits wenige Genom-äquivalente DNA nachweisen.

Auch beim Schutz geistigen Eigentums in innovativen, Biotechnologie-getriebenen Märkten können die Methoden der DNA-Forensik helfen. Wenn Wettbewerber ohne hohen Entwicklungsaufwand oder Lizenzmodelle Produkte anbieten, stellt sich schnell die Frage, ob geschützte Verfahren oder Komponenten illegal verwendet wurden. Streitet der Wettbewerber jedoch eine missbräuchliche Verwendung von Intellectual Property (IP) ab, ist das mutmaßlich geprellte Unternehmen für rechtliche Schritte auf eine lückenlose Beweisführung angewiesen.

Patentverletzungen

Beispiel Biopharmazeutika: Bei der Entwicklung neuer biopharmazeutischer Wirkstoffe zur Krebsbekämpfung müssen die Kandidaten in Zellkulturen, Tiermodellen und im menschlichen Organismus getestet werden. Dazu ist es notwendig, die für die Substanz, beispielsweise einen Antikörper, kodierenden Gene in Säugerzellen oder Bakterien einzubringen und zu exprimieren. Zur Expression werden dann bestimmte Promotoren benötigt, deren Verwendung für diesen Zweck unter Umständen patentgeschützt ist. Der Patentschutz wird besonders dann relevant, wenn aus der getesteten Wirksubstanz ein Produkt geworden ist, das sich in der klinischen Erprobung befindet oder sogar schon die Marktzulassung erreicht hat. Wenn jetzt der Patentinhaber den Verdacht hat, dass sein Patent verletzt ist, kann eine Analyse des auf dem Markt befindlichen Medikaments für Klarheit sorgen. Erzielt eine PCR mit Primern, die genau die patentrechtlich geschützten Sequenzen amplifizieren, ein positives Ergebnis, muss der Promotor für die Produktion verwendet worden sein.

Beispiel Nahrungsmittel: Für die Herstellung von Aminosäuren oder Enzymen, die



Nahrungs- oder Futtermitteln zugesetzt werden, sowie für andere Fermentationsprozesse werden unter hohem F&E-Aufwand spezielle Bakterien- oder Hefestämme hergestellt. Die Zellen besitzen einzigartige Eigenschaften, die für den genau definierten Zweck eine schnelle, kostengünstige und effiziente Produktion erlauben. Für andere Hersteller ist die Versuchung groß, sich ebenfalls in den Besitz dieser Stämme zu bringen. Zum Nachweis des Missbrauchs taugen nun diejenigen einzigartigen Genschnitte, die gerade die Einmaligkeit der Zelleigenschaften bedingen. DNA Extraktion und Sequenzanalyse des in der Apotheke, im Chemikalienhandel oder im Einzelhandel gekauften Originalproduktes durch ein neutrales Labor kann Gewissheit bringen.

Hohe analytische Anforderungen

Biotechnologische Produktion beinhaltet typischerweise mehrere Aufreinigungs- und Prozessierungsschritte, die sowohl die Menge als auch die Qualität der ursprünglich enthaltenen DNA enorm verringern. Neben der Degradation (Zerstückelung) und chemischen Modifikation der DNA stören oft auch im finalen Produkt enthaltene weitere Substanzen die empfindliche DNA-Analytik. Die Methoden für die DNA-Extraktion, die DNA-Zielregionen sowie die Assays für Amplifikation und Detektion müssen individuell auf den jeweiligen Fall angepasst werden. Darüber hinaus sind die Anforderungen an das Labor letztendlich dieselben wie in der hochsensitiven kriminologischen DNA-Spurenanalytik: ISO 17025 Akkreditierung, lückenlose Dokumentation, durchgängige Kontrollen, redundante Analytik und diverse strikte Maßnahmen zur Kontamina-

tionsvermeidung. Nur wenige spezialisierte Experten sind in der Anwendung und damit auch der Beurteilung der Aussagekraft derartiger Verfahren kompetent. Vor Gericht ist dann von den Gutachtern nicht nur eine hohe Qualifikation und eine langjährige Erfahrung gefragt, sondern auch die Fähigkeit, Kreuzverhören und raffinierten anwaltlichen Attacken standzuhalten.

Gibt es über die Nukleinsäureanalytik hinaus, beispielsweise bei klassischen „Small Molecule Drugs“, analytische Verfahren zum Nachweis von Patentverletzungen? Analog zur forensischen Genetik beschäftigt sich die forensische Toxikologie schon lange mit dem gerichtsfesten Nachweis kleinster Spuren von Stoffen beziehungsweise ihren Modifikationen als Methode zur direkten oder indirekten Beweisführung. Hochsensitive Chromatografie und Massenspektroskopie wie etwa LC-MS/MS, GC/MS und HPLC-ESI-MS sowie moderne Isotopenanalyse bieten diverse Möglichkeiten.

Quellen

- [1] OECD Policy Brief 2005, Intellectual property and competition policy in the biotechnology industry und Europäisches Patentamt, Jahresbericht 2009
- [2] Harry Thangaraj, Craig J van Dolleweerd, Edward G McGowan & Julian K-C Ma. Dynamics of global disclosure through patent and journal publications for biopharmaceutical products. *Nature Biotechnology* 27, 614 - 618 (2009)
- [3] www.bka.de/profil/faq/dna02.html
- [4] Wolter T and A Richter. Assays for controlling host-cell impurities in biopharmaceuticals. *Bioprocess Intl* 2005 3 (2) 40-46.