

**Antwort
der Bundesregierung**

**auf die Kleine Anfrage der Abgeordneten Dr. Manuel Kiper, Marina Steindor
und der Fraktion BÜNDNIS 90/DIE GRÜNEN**

– Drucksache 13/10507 –

Sicherheit von eukaryontischen Zellkultursystemen

In vielen Bereichen der modernen Biologie und Medizin stehen heutzutage zellbiologische Systeme im Mittelpunkt intensiver Forschungsansätze. Das bessere Verständnis der äußerst komplexen Vorgänge in der einzelnen Zelle gilt als Schlüssel zur Beantwortung einer Vielzahl von Fragestellungen, deren (human-) medizinische Bedeutung weit über eine rein grundlagenforschungsorientierte Relevanz hinausgeht. Die Herstellung monoklonaler Antikörper in Hybridomazelllinien, die anfangs eine rein grundlagenforschungsorientierte Bedeutung hatten, kann hier als Meilenstein der Entwicklung angesehen werden (G. Koehler & C. Milstein; 1975 *Nature* 256 [5517] 495–497). Mittlerweile finden die so gewonnenen Antikörper etwa in der HIV- und Hepatitis-Diagnostik, aber auch in speziellen Therapieansätzen Anwendung.

Die Erweiterung des methodischen Spektrums der Zellforschung durch die Molekularbiologie hat zu vielen Antworten aber auch zu einem ungleich größeren Spektrum neuer Fragestellungen geführt. In einigen Fällen ist es zudem möglich geworden, Tierexperimente durch den Einsatz von Zellkulturmodellen erheblich einzuschränken.

Doch auch in der Produktion verschiedener rekombinanter Polypeptide/Proteine finden eukaryontische Zellkultursysteme seit einiger Zeit vermehrt Anwendung. Diese zeichnen sich im Gegensatz zu Bakterien durch die Fähigkeit aus, eine Vielzahl von Makromolekülen auf verschiedenste Weise zu modifizieren. Die äußerst komplexen Prozessierungsschritte finden dabei in spezialisierten Organellen wie dem ER und dem Golgi-Apparat statt, die in Bakterien fehlen. Der Zelle dienen die Modifikationen als wichtige Signale, ohne die das rekombinante Molekül seine Wirkung nicht entfalten oder sogar toxisch wirken kann. Zu den besagten Modifikationen gehören beispielsweise die Phosphorylierung und verschiedene Formen der Glykolisierung von Polypeptiden. Hefen und Pilze beherrschen diese Modifikationen nur eingeschränkt, so daß hier in erster Linie rekombinante Zelllinien von Säugetieren die einzige Möglichkeit darstellen, komplexe Glykoproteine wie etwa die Humantherapeutika Faktor VIII oder Erythropoietin (EPO) in größerer Menge zu gewinnen. Als Alternative wird gegenwärtig das sog. Gengarming diskutiert: Hierbei sezernieren transgene Nutztiere aufgrund genetischer Modifikationen komplexe Proteine wie den humanen Blutgerinnungsfaktor VIII (R. K. Paleyanda et al. 1997; *Nature Biotechnology* 10 [15] 971–75) mit der Milch. Andere Versuche wiederum zielen auf transgene Pflanzen zur Produktion von Fremdproteinen. So wurden beispielsweise Tabakpflanzen dahin gehend verändert, daß sie funktionelle

Humanproteine (z. B. monoklonale Antikörper) in erstaunlicher Menge produzieren (A. Hiatt et al. 1989; *Nature* [342] 76–78).

Der „klassische“, nicht-rekombinante Ansatz beruht hingegen auf der Isolierung des gewünschten Moleküls aus Blut oder Gewebe. Allerdings birgt dieses Verfahren das Risiko von (viroalen) Kontaminationen in den Präparaten, wie es zeitweilig bei einigen Blutgerinnungspräparaten durch HIV der Fall war (P. Aldhous 1993; *Science* [262] 1205). Doch auch bei der Verwendung eukaryontischer Zell-Linien besteht die Gefahr, daß Viren aus den Zellen in das Präparat gelangen können. So wurde Anfang der sechziger Jahre in einer Reihe von Chargen des Poliovirus-Impfstoffs auch das Affenvirus Simian Virus 40 (SV 40) entdeckt (R. Kurth 1997; *Spektrum der Wissenschaft*, Dossier: Seuchen [3] 22–27). Eine abschließende Beurteilung, ob SV 40 beim Menschen die Entstehung bestimmter Tumore verursachen/begünstigen kann, steht noch aus (persönliche Mitteilung Prof. Geißler, MDC vom 17. November 1997).

Eine andere Gefahrenquelle ergibt sich aus der Tatsache, daß etwa 1 % aller Säugetierzellen Retroviren in ihrem Genom tragen. Rein rechnerisch sind demnach auch 1 % aller zur Forschung und Produktion eingesetzten Zell-Linien Trägerinnen von Retroviren. Hier ist zumindest in einigen Anwendungsbereichen (z. B. der Herstellung attenuierter, viraler Lebendimpfstoffe) ein ähnliches Gefährdungspotential denkbar, wie es auch für den Bereich der retroviroalen Übertragung bei Xenotransplantationen ermittelt wurde.

Auch (nicht vollständig) inaktivierte Viren stellen eine Gefährdung bei Arbeiten mit Zellkulturen dar. Seit einiger Zeit ist bekannt, daß die experimentelle Einschleusung eines viralen Genoms – also der reinen DNA – in seine Wirtszellen unter idealen Bedingungen zu funktionellen Viren und der damit verbundenen Krankheit bei Primaten führen kann (C. Sureau et al. 1988; J. Virol. 62 [8] 3064–7). In seiner Konsequenz noch viel weitergehender ist ein Umstand, den man sich zunehmend in Form der Entwicklung von DNA-Vakzinen zunutze macht: Nach der Injektion geeigneter, reiner DNA in Muskelgewebe kommt es zur gewünschten Immunreaktion gegen die entsprechend codierten Proteine (J. A. Wolff et al. 1990; *Science* [247] 1465–68 und J. A. Wolff et al. 1992; *Hum. Mol. Genet.* [1] 363–9). Offenbar besitzen eukaryontische Zellen in gewissem Umfang die Fähigkeit, Fremd-DNA aufzunehmen und zu transkribieren/translatieren. Die genauen Mechanismen sind noch unbekannt.

Vorbemerkung

Nach § 13 des Arzneimittelgesetzes (AMG) ist für die gewerbs- oder berufsmäßige Herstellung gentechnisch hergestellter Wirkstoffe und Arzneimittel zum Zwecke der Abgabe eine Herstellungserlaubnis der zuständigen Landesbehörde notwendig. Der Landesbehörde obliegt daher auch die Überwachung der Herstellung. Insofern liegen den zuständigen Landesbehörden, weniger den Bundesoberbehörden, weitere diesbezügliche Informationen vor. Eine Befragung der Landesbehörden war aus zeitlichen Gründen nicht möglich.

Die über zugelassene rekombinante Arzneimittel dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM), dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI) und dem Robert Koch-Institut (RKI) vorliegenden Informationen zu der Anfrage sind im folgenden zusammengefaßt.

1. An wie vielen Produktionsstandorten werden nach Kenntnis der Bundesregierung heute bundesweit Zellkultursysteme von Säugetieren zur kommerziellen Herstellung rekombinanter Wirkstoffe eingesetzt?

Im Zuständigkeitsbereich des BfArM werden mittels Säugerkulturen derzeit in Deutschland an zwei Standorten rekombinante Wirkstoffe hergestellt.

In den Zuständigkeitsbereich des PEI fallen derzeit sechs rekombinante Gerinnungsfaktorpräparate und ein monoklonaler Antikörper, die mit Hilfe gentechnischer Verfahren in Säugерzellen hergestellt werden. Der Produktionsstandort des rekombinanten Antikörpers befindet sich in Deutschland, jedoch wird dieser Antikörper derzeit nicht mehr produziert. Die Produktionsstandorte für die anderen genannten Arzneimittel befinden sich im Ausland.

2. Welcher Produktionsmaßstab wird dabei maximal verwendet (bitte nach Fermentergröße in Litern und nach Ertrag der gewünschten Reinsubstanz pro Tag spezifiziert)?

Die maximale Fermentergröße für die kommerzielle Produktion von Wirkstoffen jener Arzneimittel, für welche das BfArM zuständig ist, beträgt 12 000 Liter.

Wie in der Antwort zu Frage 1 bereits erwähnt, werden rekombinante Arzneimittel, für welche das PEI zuständig ist, derzeit in Deutschland nicht produziert. Um jedoch allgemeine Angaben zu dem Produktionsmaßstab rekombinanter Arzneimittel anzu führen, sei erwähnt, daß die Fermentergröße für die Produktion rekombinanter Antikörper bis zu 750 Liter betragen kann, während die Fermentergröße für die Produktion der rekombinanten Gerinnungsfaktoren bis zu 6 000 Liter betragen kann.

Der Ertrag der gewünschten Wirkstoffe pro Tag ist abhängig von den Fermentations- und Reinigungsverfahren. Genaue Mengenangaben hinsichtlich der Erträge liegen den Zulassungsbehörden vor. Diese Daten sind Firmengeheimnis und können deshalb nicht weitergegeben werden. Beispielsweise können jedoch 0,02 bis 0,1 g rekombinanter Antikörper pro Tag produziert werden, während bei Gerinnungsfaktoren bis zu 5 g pro Tag hergestellt werden können.

3. Werden dabei die rekombinanten Proteine von den verwendeten Zellkulturen ins Medium sezerniert und daraus isoliert oder müssen die Zellen zuvor aufgeschlossen werden?

Bei den für die Produktion gentechnischer Wirkstoffe und Arzneimittel verwendeten Zellkultursystemen, für welche das BfArM zuständig ist, werden die gewünschten rekombinanten Proteine ins Kulturmedium sezerniert und daraus isoliert. Die Zellen werden nicht aufgeschlossen. Rekombinante Gerinnungsfaktoren werden in Hamsterzellen (BHK und CHO) produziert und in das Zellmedium sezerniert, aus welchem sie gewonnen werden können. Rekombinante Antikörper werden aus Hybridoma-Zellen gewonnen und ebenfalls in das Medium abgegeben. Hybridoma-Zellen sind aus der Fusion von B-Zellen des Menschen oder der Maus mit Maus-Myelomzelllinien entstanden.

4. Sind der Bundesregierung Fälle bekannt, bei denen es durch Komponenten im Nährmedium zu Verunreinigungen oder viralen bzw. bakteriellen Kontaminationen der Zellkulturen und/oder des gewonnenen (rekombinanten) Wirkstoffs kam?

Fälle von viralen und bakteriellen Kontaminationen von Zellkulturen sind bekannt. Im Normalfall wird bei solchen Vorkommnissen der Fermentationslauf abgebrochen. In einigen Fällen war die Kontamination bei der Testung der Zellernte oder durch Verlust des Zellwachstums bei der Kultivierung aufgefallen. In Fällen, in denen die Kontamination erst während oder nach der Reinigungsprozedur bekannt wird, wird der Wirkstoff verworfen oder unter Quarantäne gestellt. Nähere Informationen können den im Anschluß aufgeführten Publikationen entnommen werden.

- Garnick, R. (1996), Develop. Biol. Standard. 88, 49–56.
 - Kappeler, A. et al. (1996), Biologicals 24, 131–135.
 - Harasawa, R. et al. (1995), Biologicals 23, 263–269.
 - Harasawa R. (1995), Vaccine 13, 100–103.
 - Wilbur, L.A. et al. (1994), JAMA 267, 1762–1765.
 - Rabenau, H. et al. (1993) Biologicals 21, 207–214.
 - Kreeft, H. A. et al. (1990), Dtsch. tierärztl. Wschr. 97, 63–5.
5. Gibt es für die obligatorische Medium-Komponente „fötales Rinderserum“ (FCS) international gültige Qualitätskontrollen und -standards und ist für fötales Rinderserum eine Herkunft aus BSE-kranken Viehbeständen auszuschließen?

Foetales Rinderserum (FCS; „Fetal Calf Serum“) kann heute nicht mehr als obligatorische Mediumkomponente angesehen werden. Vielfach und mit zunehmender Häufigkeit wird serumfreies Medium zur Fermentation verwendet. In den Fällen, in denen jedoch foetales Kälberserum verwendet wird, ist entsprechend einer derzeit in der Überarbeitung befindlichen europäischen Leitlinie („Note for Guidance: Guidelines for Minimising the Risk of Transmission of Agents Causing Spongiform Encephalopathies via Medicinal Products“, III/3298/91 FINAL) dessen Herkunft aus BSE-freien Ländern nachzuweisen. Die neue Fassung der genannten europäischen Leitlinie („Note for Guidance on Minimising the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents via Medicinal Products“, CPMP/BWP/877/96) legt darüber hinaus fest, daß der Nachweis der BSE-Freiheit auch mit geeigneten Methoden (Meldepflicht, verbindliche klinische und Labor-Überprüfung von Verdachtsfällen) kontrolliert wird. Darüber ist ein Zertifikat vorzuweisen, ausgestellt von der zuständigen Behörde des jeweiligen Landes. Entsprechende Anforderungen erfüllen beispielsweise die Herkunftsänder Neuseeland, Australien oder die USA. Routinemäßig sind Kontrollen hinsichtlich möglicher Kontaminationen mit bovinen Viren, Bakterien oder Mycoplasmen durchzuführen.

6. Sind der Bundesregierung Fälle bekanntgeworden, bei denen in Forschungs- oder Produktionsstätten Zoonosen von Zellkulturen auf den Menschen (z. B. Laborpersonal) übertragen worden sind?

Als Folge eines einzelnen Ausbruchs nach der Einfuhr von Affen aus Afrika gab es in den 70er Jahren in Deutschland Fälle der Übertragung von Zoonosen auf das Laborpersonal, die in Zusam-

menhang mit Arbeiten an Säugerzellen standen. Dabei wurde das Marburg-Virus übertragen, das zu den Filoviren gehört. Vergleichbare Fälle sind seitdem nicht aufgetreten.

7. Wenn der unter Frage 6 beschriebene Fall für Produktionsstätten zutrifft: Welche Konsequenzen hatte dieser Umstand für die Herstellung sowie den Verkauf/Vertrieb der erzeugten Wirkstoffe?

Bei der Herstellung rekombinanter Wirkstoffe oder Arzneimittel werden keine humanpathogenen Organismen eingesetzt. Arzneimittel sind gemäß „Guter Herstellungspraxis“ (GMP; „Good Manufacturing Practice“) herzustellen, welche den Schutz des Präparates vor einer Kontamination gewährleistet. Falls durch das Einschleppen von Viren oder Bakterien von außen, z. B. durch Mediumkomponenten oder erkrankte Mitarbeiter, Kontaminationen von Wirkstoffen oder Arzneimitteln eintreten, ist von einer rechtzeitigen Detektion solcher Kontaminationen auszugehen, da die für die Arzneimittelherstellung verwendeten Zellbänke kontinuierlich vom Hersteller kontrolliert werden. In einem solchen Fall ist es vorgesehen, die zuständigen Landesbehörden hinzuziehen und die Anlage gegebenenfalls stillzulegen. Der hergestellte Wirkstoff, bei dem eine mikrobielle oder virale Kontamination festgestellt worden war, darf nicht freigegeben und somit nicht in Verkehr gebracht werden (siehe auch Antwort zu Frage 17).

8. Hat die prinzipielle Fähigkeit von eukaryontischen Zellkulturen zur Aufnahme „nackter“ (Plasmid-)DNA nach Kenntnis der Bundesregierung über die akademische Fragestellung hinaus Relevanz für die Arbeiten mit diesen Systemen?

Frage 8 ist mit nein zu beantworten. Bei der Transfektion wird unter Zuhilfenahme unterschiedlicher Reagenzien DNA in Säugerzellen eingeschleust. Dies geschieht jedoch nur im Rahmen gezielter Versuche unter optimierten Bedingungen und unter Verwendung hoher Konzentrationen von Nukleinsäure. Im Unterschied dazu ist die spontane DNA-Aufnahme von Zellen äußerst ineffizient, so daß daraus resultierende grundsätzliche Gefahren für den Umgang mit Zellkulturen nicht ersichtlich sind.

9. Wie beurteilt die Bundesregierung in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß für verschiedene Viren der Nachweis der „infektiösen DNA“ erbracht wurde, und liegen hierin grundsätzliche Gefahren für den Umgang mit Zellkulturen?

Es ist richtig, daß für bestimmte Viren nachgewiesen wurde, daß die Transfektion mit gereinigter DNA ausreicht, in den transfizierten Zellen die Produktion infektiöser Viren auszulösen. Wie in der Antwort zu Frage 8 dargelegt, sind dafür geeignete experimentelle Bedingungen und große Mengen von DNA notwendig. Nur die zufällige und nicht beabsichtigte Aufnahme vollständiger Virusgenome in Säugerzellen, gefolgt von der Bildung infektiöser Viren, kann als sicherheitsrelevant betrachtet werden. Es ist nicht ersichtlich, aus welcher Quelle die notwendigen großen Mengen entsprechender DNA unbeabsichtigt, z. B. bei der

Arzneimittel- oder Wirkstoffproduktion, eingeschleppt werden können, da für die Produktion von Wirkstoffen humanpathogene Viren nicht eingesetzt werden (siehe auch Antwort zu Frage 8).

Die Eigenschaft von Nukleinsäuren, unter bestimmten Bedingungen als Matrize für die Proteinproduktion zu dienen, soll bei der Impfung mit Nukleinsäuren (DNA-Vakzinen) ausgenutzt werden. In diesem Fall wird bei Primaten eine sehr große Menge DNA pro Dosis (mg-Maßstab) in den Muskel inokuliert, um eine Immunantwort des Organismus gegen bestimmte Erregerproteine zu induzieren. Eine vergleichbare Übertragung von DNA z. B. auf den Menschen ist bei dem üblichen Umgang wenig wahrscheinlich und bei Einhaltung der Grundregeln der Guten Mikrobiologischen Technik und bei Beachtung der Arbeitsschutzzvorschriften weitgehend auszuschließen.

10. Liegen der Bundesregierung Hinweise vor, nach denen auch der DNA-Transfer von Zellkulturen in Richtung Mensch (z. B. auf das Laborpersonal) unter bestimmten Voraussetzungen (Eindringen in offene Wunden etc.) denkbar ist?

Der unbeabsichtigte DNA-Transfer von Säugerzellkulturen auf den Menschen ist – wie in der Antwort zu Frage 9 ausgeführt – wenig wahrscheinlich.

Auch bei der Anwendung von auf Zellkulturen hergestellten Arzneimitteln am Menschen stellt sich die Frage nach der Übertragung von kontaminierender zellulärer DNA. Hier galt bisher die im Jahr 1986 von einem Beratungskomitee der WHO aufgestellte sogenannte 100 pg-Regel. Diese besagt, daß ein Arzneimittel pro Dosis nicht mehr als 100 pg zelluläre DNA enthalten darf. Der wissenschaftliche Hintergrund für die Aufstellung dieser Regel war die vor Jahrzehnten gewonnene Erkenntnis, daß Zelllinien Gene enthalten, die mit Onkogenen in humanen Tumorzellen verwandt sind. Nachdem die in Frage 9 angesprochene DNA-Vakzinierung in den letzten fünf Jahren steigendes wissenschaftliches Interesse gefunden hat, ist aufgrund der hier gewonnenen Erkenntnisse anzunehmen, daß nach intramuskulärer Inokulation großer Mengen konzentrierter DNA bei Primaten eine Übertragung der DNA in die Muskelzellen ohne weitere Hilfsmittel möglich, wenngleich ineffizient ist. Auch ausgehend von diesen Erkenntnissen wurde jüngst der oben angesprochene Grenzwert für Zell-DNA von der WHO auf 10 ng oder weniger per Dosis festgelegt (Weekly Epidemiological Record 72 (No. 20), 141–148, 1997).

11. Ist in gleicher Weise die Übertragung von Viren auf den Menschen denkbar?

Eine Übertragung von Viren durch „infektöse Nukleinsäure“ ist wenig wahrscheinlich; siehe auch Antwort zu Frage 9.

12. Sind der Bundesregierung bezüglich der Fragen 10 und 11 entsprechende Fälle in Forschungs- oder Produktionsstätten auf nationaler und internationaler Ebene bekanntgeworden?

Dem RKI wurden seit Inkrafttreten des Gentechnikgesetzes von den zuständigen Landesbehörden vier Fälle gemeldet, bei denen es in gentechnischen Anlagen bei Laborarbeiten mit experimentell infizierten Zellen zu kleinen Verletzungen z. B. durch Kanülen gekommen ist. Eine Übertragung von gentechnisch veränderten Organismen auf den Menschen konnte nicht nachgewiesen werden.

13. Welche verbindlichen Richtlinien und Vorschriften gibt es für den Umgang mit onkogener DNA bei Arbeiten an Zellkultursystemen, und haben sich diese als ausreichend erwiesen?

Für alle onkogenen Arbeitsstoffe gelten die allgemeinen und besonderen Vorschriften der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV) beim Umgang mit kancerogenen oder mutagenen Materialien. Darüber hinaus hat die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) eine Stellungnahme erarbeitet, in der Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Nukleinsäuren mit onkogenem Potential empfohlen werden.

14. Sind der Bundesregierung Fälle bekanntgeworden, bei denen die (versehentliche) Inkorporation intakter rekombinanter Zellen zu Erkrankungen der betroffenen Person(en) geführt hat?

Der Bundesregierung sind keine Fälle versehentlicher Inkorporation rekombinanter Zellen bekanntgeworden. Zu Verletzungen siehe auch die Antworten zu den Fragen 11 und 12.

15. Gibt es in der Bundesrepublik Deutschland verbindliche Richtlinien für die Entsorgung von (rekombinanten) Zellkulturen, und wenn ja, welche?
Sind die entsprechenden Forschungs- oder Produktionsanlagen zum Nachweis der Unbedenklichkeit der Zellkulturabfälle bzw. deren vollständiger Inaktivierung verpflichtet (bitte näher ausführen)?

In der Bundesrepublik Deutschland regelt das Gentechnikrecht die Entsorgung rekombinanter Zellkulturen (§ 13 Gentechnik-Sicherheitsverordnung, GenTSV), die als gentechnisch veränderte Organismen gelten. Die Entsorgung von gentechnisch veränderten Organismen ist gemäß § 3 GenTG eine gentechnische Arbeit, deren Durchführung die zuständigen Landesbehörden überwachen.

16. Wie beurteilt die Bundesregierung die genetische Stabilität der in Forschung und Produktion verwendeten Zellkulturlinien?

Die Evaluation von experimentellen Untersuchungen zur genetischen Stabilität der zur Produktion rekombinanter Wirkstoffe eingesetzten Zellen ist Bestandteil der Arzneimittelzulassung. Die genetische Stabilität muß für die maximale Dauer des Fermentationsprozesses und in den meisten Fällen darüber hinaus gewährleistet und hinreichend belegt sein. Entsprechende internationale Leitlinien werden herangezogen („Note for Guidance: Production

and Quality Control of Medicinal Products derived by Recombinant DNA Technology", CPMP III/3477/92; „Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterization of Cell Substrates used for Production of Biotechnological/Biological Products", CPMP/ICH/294, 95).

17. Zu welchem Anteil sind die in der Produktion von rekombinanten Wirk- und Impfstoffen verwendeten Zell-Linien Trägerinnen von kompletten Retroviren (Proviren) oder retroviralen Genfragmenten?

Für die Produktion rekombinanter Wirkstoffe wird beispielsweise eine Dihydrofolatreductase (DHFR) defiziente Mutante der Ovarialzellen des Chinesischen Hamsters (CHO), die CHOK1-DUKX-Zelllinie verwendet. Hybridisierungsexperimente (In-situ-Fluoreszenz-Hybridisierung, Southern- und Northern-Blot-Analyse) haben zu dem Ergebnis geführt, daß das Genom einer CHO-Zelle etwa 100 bis 300 Kopien retroviralen Ursprungs enthält. Die von diesen DNA-Sequenzen exprimierten viralen Strukturen repräsentieren defekte retrovirusähnliche Partikel (intracytoplasmatische Typ A Partikel und „budding“ Typ C-retrovirusähnliche Partikel), die nicht in der Lage sind, Zellen produktiv zu infizieren (Anderson et al., Virology 181, 305 (1991); Lie et al., J. Virol. 68, 7840 [1994]). Es ist davon auszugehen, daß Säugerzellen, die in der Produktion von Wirkstoffen verwendet werden, ebenso wie die Körper- und Keimzellen des Menschen grundsätzlich endogene retrovirale Nukleinsäureabschnitte enthalten. Es liegen jedoch keine Hinweise auf die Bildung infektiöser Retroviren durch entsprechende Zellen vor (Löwer et al., Proc. Natl. Sci. USA 93, 5177 [1996]). Letzteres ist nach dem Stand der Wissenschaft nicht zu erwarten.

Voraussetzung der Anwendung von Zellkulturen für die Herstellung von Arzneimitteln ist die Etablierung eines Zellbanksystem, das aus einer Stamm-Zellbank („Master Cell Bank“) und einer daraus abgeleiteten Arbeits-Zellbank („Working Cell Bank“) besteht. Herkunft der Zellen, die Entwicklung der Master-Zellbank und die Kontrolle der Zellbank ist zu dokumentieren und in den Unterlagen für die Zulassung eines Arzneimittels offenzulegen. Anforderungen an die Prüfung der Zellen sowie Kriterien, die an die Verwendbarkeit zu stellen sind, sind in entsprechenden Leitfäden niedergelegt (CPMP/ICH/295/95 und CPMP/ICH/294/95; siehe auch Antwort zu Frage 20). Nur Zellen, die nachgewiesenermaßen frei von viralen Kontaminationen sind, werden für die Produktion von Arzneimitteln zugelassen. Andere Zellen wurden bisher nicht für die Herstellung von Arzneimitteln eingesetzt.

18. Existieren nach Kenntnis der Bundesregierung garantiert Retroviren-freie Produktionszell-Linien und werden diese in der Bundesrepublik Deutschland auch verwendet?

Diese Frage ist Gegenstand wissenschaftlicher Forschung. Nach dem jetzigen Kenntnisstand gibt es keine Vogel- oder Säugerzelllinie (einschließlich menschlicher Zellen), die frei von retroviralen

Elementen oder endogenen retroviralen Genomen (endogene Retroviren) ist. Endogene retrovirale Elemente sind Bestandteil des Erbgutes und werden über die Keimbahn weitergegeben.

19. Ist die Sicherheit dieser Zell-Linien durch experimentelle Überprüfung (z. B. durch „patch repair assays“) hinreichend dokumentiert?
Falls dies der Fall ist, sind diese Überprüfungen öffentlich dokumentiert?

Werden rekombinante Arzneimittel oder Wirkstoffe unter Verwendung von Säugerzellen hergestellt, so ist durch experimentelle Prüfung zu zeigen, daß eventuell vorhandene Viruspartikel effektiv durch die für die Isolierung und Reinigung des Wirkstoffes angewendeten Verfahren entfernt werden. Mit einem infektiösen Retrovirus, das in Zellkultur vermehrt und nachgewiesen werden kann und das dem Ausgangsmaterial in einem experimentellen Ansatz zugesetzt wird, ist nachzuweisen, daß das Verfahren Retroviren wirksam inaktivieren oder eliminieren kann. Diese Unterlagen sind Teil der Dokumentation, die mit dem Antrag auf Zulassung vorzulegen ist. Grundsätze für die Durchführung der experimentellen Prüfungen und Anforderungen an Umfang und Aussagefähigkeit dieser Untersuchungen sind im Leitfaden CPMP/ICH/295/95 niedergelegt („Note for Guidance on Quality of Biotechnological Products: Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin“).

20. Liegen verbindliche Empfehlungen, Richtlinien, Vorschriften etc. seitens der Bundesregierung vor, die den Gebrauch sicherer Zell-Linien im Sinne von Frage 18 regeln?

Das GenTG ordnet Zelllinien als Empfängerorganismen bei gentechnischen Arbeiten oder bereits gentechnisch veränderte Zelllinien aufgrund ihres Gefährdungspotentials einer von vier Risikogruppen zu. Diese Zuordnung erfolgt auf der Basis zahlreicher Eigenschaften, die im einzelnen im Anhang 1 der Genetik-Sicherheitsverordnung (GenTSV) aufgeführt sind. Entsprechend dieser Einstufung sind in den Laboren bzw. Produktionsanlagen bestimmte Sicherheitsmaßnahmen zu beachten, die wiederum im einzelnen im Anhang III der GenTSV aufgeführt sind. Die im folgenden genannten Leitlinien über den Gebrauch von Zelllinien bei der Herstellung rekombinanter Wirkstoffe werden angewandt:

- „Note for Guidance on the Quality of Biotechnical Products: Viral Safety. Evaluation of Biotechnical Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin“ (CPMP/ICH/295/95).
- „Quality of Biotechnological/Biological Products: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products“ (CPMP/ICH/294/95).

Diese Leitlinien wurden im Rahmen der ICH („International Conference on Harmonisation“) zwischen der EU, den USA und Japan vereinbart und abgestimmt.

Im Hinblick auf die Belange des Arbeitsschutzes gilt z. Z. für biologisches Material, soweit es sich um Krankheitserreger handelt, die GefStoffV sowie künftig die im Entwurf vorliegende BioStoffV, die der Umsetzung der EG-Arbeitsschutzrichtlinie 90/679/EWG dient.

Soweit es sich um onkogene Arbeitsstoffe handelt, gelten die Vorschriften der GefStoffV für krebserzeugende Arbeitsstoffe.

21. In welchem Umfang unterstützt die Bundesregierung Projekte zur Sicherheitsforschung bezüglich eukaryontischer Expressionssysteme?

Die Bundesregierung unterstützt im Rahmen der BMBF-Förderung seit 1993 bzw. 1995 im Rahmen der Ausschreibungen „Freisetzung gentechnisch veränderter Pflanzen und Mikroorganismen im Zusammenhang mit einer biologischen Begleitforschung“ und „Forschung zur Sicherheit gentechnischer Erzeugnisse“ Projekte zur Sicherheit eukaryontischer Expressionssysteme. Im erstgenannten Förderschwerpunkt stehen wissenschaftliche Untersuchungen zum Verhalten gentechnisch veränderter Organismen im Freiland im Vordergrund. Insbesondere werden transgene Pflanzen und ihre Auswirkungen im Freiland untersucht. Im Rahmen der zweitgenannten Fördermaßnahme wird im Themenschwerpunkt Vektoren für die somatische Gentherapie auf sicherheitsrelevante Aspekte bei der Konstruktion von eukaryontischen Expressionssystemen und deren Transfersystem fokussiert. Gegenwärtig werden in diesen beiden Themenschwerpunkten 30 Forschungsprojekte mit einem Gesamtvolumen von ca. 14,6 Mio. DM gefördert.

Beide Fördermaßnahmen sind Teil des zu Beginn des Jahres 1998 eröffneten Förderkonzeptes BioMonitor. Hier sollen im Themenschwerpunkt „Okologie und Monitoring transgener Pflanzen im Freiland“ wissenschaftliche Untersuchungen zu langfristigen Auswirkungen des großflächigen Anbaus transgener Pflanzen auf Agrarökosysteme gefördert werden. Zur ersten Antragsfrist dieses Schwerpunktes wurden 20 Projektskizzen eingereicht. Der Schwerpunkt „Vektoren für die somatische Gentherapie“ wurde in aktualisierter Form fortgeschrieben. Zur ersten Antragsfrist wurden hier 25 Projektskizzen zur Begutachtung eingereicht.

22. Wie beurteilt die Bundesregierung die alternativen Ansätze der Gewinnung rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen und Tieren („gene-pharming“)?

Die Möglichkeiten zur Herstellung rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen und Tieren werden von der Bundesregierung grundsätzlich positiv beurteilt.

„Gene pharming“ unter Einsatz von Tieren: Diese Technik bietet die Möglichkeit, in der Medizin einsetzbare Proteine in ver-

gleichsweise großen Mengen herzustellen. Dabei sind auch die gesetzlichen Bestimmungen zum Tierschutz zu beachten.

In der Milchdrüse transgener Nutztiere wurden bislang verschiedene Proteine produziert. So befinden sich die Proteine Alpha 1-Antitrypsin in Europa (UK) und weitere Proteine wie z. B. TPA und Antithrombin III in den USA z. T. in fortgeschrittenen Stadien der klinischen Prüfung.

„Gene pharming“ unter Einsatz von Pflanzen: Da Pflanzen natürlicherweise nicht von humanpathogenen Viren infiziert werden, wird durch die Gewinnung rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen das mögliche Risiko einer Kontamination der gewöhnlichen Proteine mit humanpathogenen Viren vermieden.

Die Herstellung transgen-kodierter Proteine in Pflanzen, die nicht der Verbesserung der agronomischen Eigenschaften der Pflanze, sondern der medizinischen und industriellen Nutzung der Fremdproteine dient, eröffnet der Landwirtschaft künftig neue Produktionsverfahren. Bei Pflanzen können zwei alternative Verfahren angewendet werden: stabiler Gentransfer in das pflanzliche Genom oder Einbau des Fremdgens in Pflanzenviren. Diese Ansätze befinden sich in Deutschland noch im Entwicklungsstadium. Freilandversuche mit transgenen Pflanzen, die mit der Zielstellung eines „gene pharming“ verändert werden, oder mit gentechnisch veränderten Pflanzenviren wurden in Deutschland weder durchgeführt noch beantragt.

23. Welche Risiken sind der Bundesregierung bezüglich transgener Pflanzen und Tiere zur Produktion rekombinanter (Human-)Proteine bisher bekanntgeworden?

Bislang liegen keine Anträge auf Zulassung pharmazeutisch wirksamer Substanzen aus transgenen Tieren oder Pflanzen vor, jedoch ist in absehbarer Zeit mit entsprechenden Zulassungsanträgen zu rechnen. Die Qualität und Sicherheit entsprechender Produkte muß im Einzelfall belegt werden. Eine entsprechende Nutzen/Risiko-Abwägung findet immer im Rahmen der hier gültigen europäischen Zulassungsverfahren statt.

Gefährdungen der Umwelt oder der menschlichen Gesundheit im Zusammenhang mit der Produktion rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen sind bisher nicht bekanntgeworden. Grundsätzlich ist beim Anbau von Pflanzen eine mögliche Übertragung der eingeführten Gene durch Auskreuzung in Betracht zu ziehen. Die derzeitigen Ansätze zur Gewinnung rekombinanter Proteine in transgene Pflanzen umfassen auch solche Proteine (z. B. pharmazeutisch wirksame Proteine, Impfstoffe), deren unkontrollierte Aufnahme schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit haben könnte. Eine der Voraussetzungen für die Produktion solcher rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen im Freiland wäre daher, daß es nicht zu einer Genübertragung auf Pflanzen kommen kann, die zur Erzeugung von Lebensmitteln oder zur Tierfütterung verwendet werden.

Das Gentechnik-Recht schreibt ein schrittweises Vorgehen bei der Entwicklung, Freisetzung und dem Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Organismen vor und fordert die Risikoabschätzung für den Einzelfall. Durch staatlich geförderte Forschung ist sichergestellt, daß die Behörden die für die Gefahrenbeurteilung erforderliche Sachkenntnis besitzen.

24. Unterstützt die Bundesregierung die Forschung an transgenen Pflanzen und Tieren zur Produktion rekombinanter (Human-)Proteine?

Wenn ja, in welchem Umfang?

Die Forschung an transgenen Pflanzen und Tieren zur Produktion rekombinanter (Human-)Proteine wird von der Bundesregierung unterstützt.

Seit 1990 laufen in einer Kooperation zwischen dem Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung in Hannover und dem Forschungsbereich Biotechnologie des Instituts für Tierzucht und Tierverhalten der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) Experimente zur Produktion von humanem Blutgerinnungsfaktor VIII (hFV VIII) in der Milchdrüse transgener Schafe. Diese Arbeiten sind über sechs Jahre durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) im Schwerpunktprogramm Genomanalyse und Gentransfer beim Nutztier finanziell unterstützt worden.

Weiterhin wird die Forschung auf dem Gebiet des „phyto-pharming“ im Rahmen des BioRegio-Wettbewerbs unterstützt. Beispiele sind Arbeiten im IPK Gatersleben, das zum Kompetenzzentrum „Grüne Biotechnologie“ der BioRegion Halle-Leipzig gehört, welche die „technische Produktion von Xylanase“ und von spezifischen Antikörpern in verschiedenen Kulturpflanzen zum Ziel haben.

Die Bundesregierung fördert ferner im Rahmen des Programms „Biotechnologie 2000“ derzeit ein Projekt, das die Produktion rekombinanter Proteine für die medizinische Anwendung aus transgener Gerste zum Ziel hat. Die Produkte werden dabei erst beim Mälzungsprozeß gebildet. Die Zuwendung des Bundes für das Projekt beläuft sich auf 1 156 680 DM.

Im übrigen ist darauf hinzuweisen, daß die Entwicklung und Bewertung von Nutzungsalternativen bei landwirtschaftlichen Nutztieren (z. B. Nutzung von Zellen als funktionale Ressourcen zur Herstellung von Proteinen und anderen Stoffen) und die Technikfolgeabschätzung im Hinblick auf neue Biotechnologien Gegenstand des Forschungsrahmenplanes des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten für die Jahre 1997 bis 2000 ist.