

**acib**  
**Austrian Centre of industrial  
Biotechnology**

Programm: COMET – Competence  
Centers for Excellent Technologies

Förderlinie: COMET-Zentrum (K2)

Projekttyp: Tools for genome scale  
science in CHO, 01/2015 – 12/2019,  
strateg.



## ANALYSE DER KARYOTYP VARIATIONEN IN CHINESISCHEN HAMSTEROVARIEN (CHO) ZELLEN

UNTER VERWENDUNG ZWEIER ZELLBASIRTER METHODEN KONNTEN WISSENSCHAFTLER VON ACIB EINE HOHE KARYOTYPISCHE VARIATION VON CHO ZELLPOPULATIONEN (ZELLPOOLS UND SUBKLONEN) NACHWEISEN.

Chinesische Hamsterovari (CHO) Zellen sind das wichtigste Expressionssystem für die Produktion therapeutischer Proteine. Den zahlreichen Vorteilen dieser Zelllinie steht eine inhärente genomische Heterogenität gegenüber. Chromosomale Reorganisation ist ein häufiges Phänomen in CHO Zellen, wie auch in anderen immortalisierten, schnell wachsenden Zelllinien. In Hinblick auf industrielle Produzenten-Zellen kann dies zu Instabilitäten von Zelllinie und Produkt führen, was längere Screening-Phasen zufolge hat, um Zellen mit ausreichend stabilen Zelleigenschaften zu isolieren. Genomische Umlagerungen können bei jeder Zellteilung vorkommen und umfassen kleine Variationen von

einem oder ein paar Nukleotiden, oder Abweichungen von längeren genomischen Regionen, meistens örtliche Verschiebungen. Diese strukturellen Variationen werden weiters durch numerische Variationen komplementiert, das heißt durch Verlust oder Erwerb von ganzen Chromosomen. Nur wenige Methoden existieren, um genomweite Instabilität zu analysieren. Wissenschaftler von acib haben zwei zellbasierte (zytogenetische) Methoden etabliert um karyotypische Variationen von CHO Zellen nachzuweisen. Mit der Chromosomenzählung kann die Anzahl der Chromosomen pro Zelle bestimmt werden, während mit der Chromosomenfärbung

## SUCCESS STORY

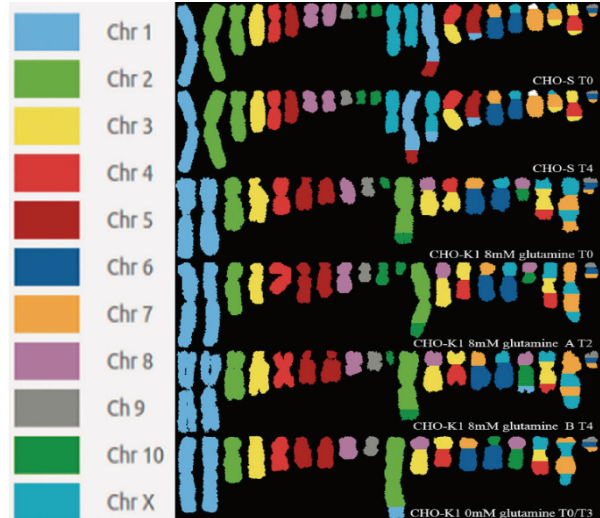
strukturelle Veränderungen quantifiziert werden können.

Zytogenetische Analysen verschiedener CHO Zelllinien haben eine klare Unterscheidung gezeigt. Jede analysierte Zelllinie besitzt eine charakteristische modale Chromosomenzahl sowie einen prädominanten Karyotyp, welcher sich jedoch über die Zeit in Kultur ändern kann. Des Weiteren wurde die genomische Heterogenität zwischen CHO Zellpools und deren Subklonen (das heißt klonalen Populationen, welche von einer einzelnen Zelle abstammen) verglichen. Es konnte nachgewiesen werden, dass Subklone eine vergleichbare chromosomale Instabilität wie der ursprüngliche Zellpool aufweisen.

### Wirkungen und Effekte

Damit eine Zelllinie für die industrielle Produktion von Biopharmazeutika geeignet ist, sollte sie geno- und phänotypisch homogen sein. Die präsentierte Studie untersuchte die Annahme, dass Subklonieren einen positiven Einfluss auf die genomische Homogenität von CHO Zellen hat. Die Analyse der Karyotypen zeigte, dass die genomische Varianz in allen CHO Populationen hoch ist, unabhängig davon, ob die Abstammung von einer einzelnen Zelle (klonal) oder einem Zellpool herrührt. Da genomische Reorganisation zufällig mit jeder Zellteilung passieren

kann, ist Subklonieren kein geeignetes Tool, um die genomische Homogenität zu erhöhen. Analyzierte



Prädominanter Karyotyp von drei analysierten CHO Zelllinien zu verschiedenen Zeitpunkten. (Vcelar et al. 2018, Biotech Bioeng 115:165-173)

Subklone zeigten eine gleich breite Verteilung der Chromosomenanzahl innerhalb der klonalen Population sowie strukturelle Variationen im Ausmaß eines Zellpools. Basierend auf dieser Erkenntnis sollte das Hauptaugenmerk in der Qualitätskontrolle auf den Qualitätsmerkmalen des Produktes, das tatsächlich den Patienten verabreicht wird, liegen und nicht auf dem Nachweis der Klonalität der verwendeten Zelllinien, wie es derzeit von den regulatorischen Behörden verlangt wird, liegen.

### Projektkoordination (Story)

Prof. Dr. Nicole Borth  
Principal Investigator  
Austrian Centre of Industrial Biotechnology

T +43 (0) 1 47654-79064  
[nicole.borth@acib.at](mailto:nicole.borth@acib.at)

### acib GmbH

Petersgasse 14  
8010 Graz

T +43 (1) 47654 30833  
[office@acib.at](mailto:office@acib.at)  
[www.acib.at](http://www.acib.at)

### Projektpartner

- BOKU, Österreich
- Universität Bielefeld, Deutschland
- Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG, Deutschland

Diese Success Story wurde von der Zentrumsleitung/ der Konsortialführung und den genannten Projektpartnern zur Veröffentlichung auf der FFG Website freigegeben. Weitere Informationen zu COMET: [www.ffg.at/comet](http://www.ffg.at/comet)