

Produktion af terapeutiske proteiner i mammale celler – 1

Mammale celler får større udbredelse inden for produktion af terapeutiske proteiner. Denne produktionsform muliggør posttranslatoriske modifikationer, som er med til at sikre den terapeutiske effektivitet af de producerede proteiner

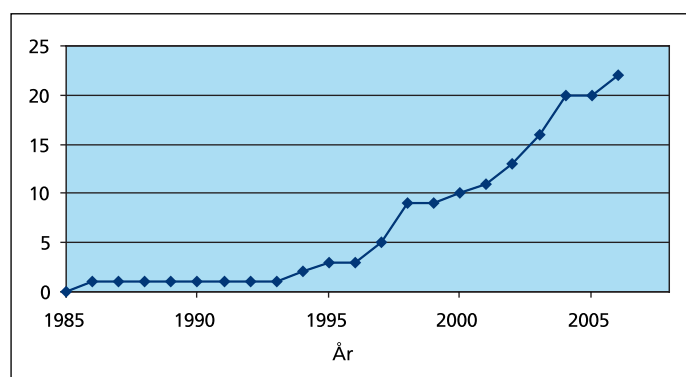
Af Claus Kristensen, Jørn Meidahl Petersen, Bjarne Rask Poulsen og Lars Højlund Christensen, Biopharmaceutical Research Unit, Novo Nordisk A/S

Siden insulin blev introduceret til behandling af diabetes i 1920'erne, er der sket en markant stigning i anvendelsen af proteiner til terapeutiske formål. Specielt markedet for terapeutiske monoclonale antistoffer (mAb) har de seneste år udvist stor vækst og estimeres at kunne nå 30 mia. US dollars i 2011 (figur 1). Da rekombinante monoclonale antistoffer produceres i mammale celler, har denne udvikling medført en øget industriel fokus på udviklingen af produktionsplatforme baseret på mammale celler. Industrielt benyttes mammale celler dog også til fremstilling af vigtige hormoner og vækstfaktorer som erythropoietin (EPO), interferon (IFN- α , IFN- β), koagulationsfaktorer (Faktor VII, Faktor VIII, Faktor IX) og thrombolytiske proteiner som plasminogen aktivator (tPA). Fælles for alle disse stoffer er, at deres terapeutiske effektivitet afhænger af posttranslatoriske modifikationer, som ikke umiddelbart kan finde sted i mikrobielle celler, men som forekommer naturligt i mammale cellers proteinsyntese-apparat.

I dag udtrykkes mere end 50 markedsførte terapeutiske proteiner i mammale celler, hvoraf gruppen af monoclonale antistoffer udgør cirka 23. Eksempler på markedsførte terapeutiske proteiner udtrykt i mammale celler er vist i tabel 1, mens en uddybende oversigt kan findes i [1] og [2].

Denne artikel er den første af to artikler med fokus på industriel udnyttelse af mammale celler til produktion af rekombinante, terapeutiske proteiner til human brug. Her beskrives rationalerne for brug af mammale celler samt de anvendte ekspressionssystemer. En efterfølgende artikel vil fokusere på de

proces tekniske aspekter omkring dyrkning af mammale celler i bioreaktorer, herunder opskalering til industriel relevant skala.



Figur 1. Antal af registrerede monoclonale antistoffer.

Historisk

Dyrkning af mammale celler i laboratoriet blev beskrevet allerede i 1880'erne, men først i begyndelsen af 1900-tallet blev *in vitro* dyrkning af celler anerkendt, da Harrison rapporterede om sit arbejde med levende nervefibre i laboratoriet [3]. Gennem den første halvdel af 1900-tallet skete der en gradvis udvikling i teknikkerne til dyrkning af mammale celler. Den næste større landvinding var opdagelsen og kommerciel produktion af antibiotika i 1940-50'erne. Tilsætning af antibiotika til dyrkningsmediet gjorde det langt lettere at undgå kontamineringer med

År	Protein	Firma	Indikation	Mammale værtscelle
1989	EPO	Amgen, Roche	Anæmi	CHO
1993	Faktor VIII	Bayer, Baxter, Wyeth, Aventis	Hæmofili	BHK/CHO
1996	tPA	Genentech	Blodpropper	CHO
1996	IFN- β 1a	Biogen, Merck-Serono	Multipel Sklerose	CHO
1996	Faktor VII	Novo Nordisk	Hæmofili	BHK
1997	FSH	Organon	Fertilitetsbehandling	CHO
1998	Fusion protein	Immunex/Amgen	Gigt	CHO
2001	Protein C	Eli Lilly	Blodforgiftning	HEK293
1986-2006	Monoclonale antistoffer	Flere	Cancer, gigt, asthma, sklerose mm.	CHO, NSO, Sp2/0

Forkortelser IFN, interferon; EPO, erythropoietin; tPA, plasminogen aktivator; FSH, follikel stimulerende hormon.

År angiver årstal for 1. registrering

Tabel 1. Eksempler på terapeutiske proteiner produceret i mammale celler.

bakterier, hvorved cellerne kunne dyrkes aseptisk i længere tid. En klar milepæl for den industrielle udnyttelse af mammale celler var dog, da Köhler og Millstein i 1975 publicerede anvendelsen af hybridomer til produktion af monoklonale antistoffer [4]. Denne opdagelse inspirerede til en fortsat udvikling af metoder til håndtering af mammale celler, men den var også startskuddet til en udvikling, der betød, at monoklonale antistoffer i dag udgør en betydelig andel af de markedsførte, terapeutiske proteiner. Udvikling af forbedrede dyrkningsteknikker har de sidste 10-15 år bl.a. fokuseret på udviklingen af medier (basalmedier og supplement) til erstatning for tidligere løsninger baseret på brugen af specielt kalveserum, diverse komponenter af animalsk oprindelse eller proteinhydrolysater med uacceptabel høj variation fra batch til batch. I den forbindelse bør nævnes, at Novo-

Faktaboks

Vigtige mammale cellelinjer til produktion af farmaceutiske proteiner

CHO-celler er isoleret fra Chinese Hamster Ovarie. Moder-cellelinjen blev isoleret i 1957, men den mest kendte prolifkrævende variant CHO-K1 blev isoleret i 1968 af Kao/Puck. Yderligere to varianter af CHO-K1 er isoleret efter mutagenese på CHO-K1-celler, nemlig **CHO Dukx-B11**- og **CHO DG44**-cellelinjerne. Begge disse muterede cellelinjer mangler DHFR-genet, og denne mangel kan komplementeres af DHFR fra det plasmid, som indsættes i cellerne, hvorved man har et effektivt selektionssystem. CHO Dukx-B11 er tidligere rapporteret i stand til at reaktivere DHFR-syntesen, mens dette vurderes ikke sandsynligt i DG44, hvor inaktivering af DHFR-genet er sket ved deletering [6,7].

Hvis DHFR yderligere inhiberes kemisk ved at tilsætte methotrexat til cellemidiet, kan kopitallet af DHFR og dermed GOI (Gene Of Interest) øges. Denne såkaldte amplifikation kan for visse proteiner give kraftig øgning af cellernes proteinproduktion. CHO-K1-, Dukx-B11- og DG44-celler bruges i dag til at producere flere end 20 af de markedsførte farmaceutiske proteiner.

NS0-celler er muse-myelomceller. Moder-cellelinjen er en plasmacytom cellelinje isoleret fra BALB/c mus i 1962. Som de fleste plasmacytomceller sekreterede cellerne IgG1. Efter flere udkloninger i forskellige laboratorier blev der i 1974 isoleret en klon, som ikke sekreterede IgG1, men dog stadig syntetiserede IgG1 let kæde. Den endelige NS0-cellelinje, som blev isoleret i 1981, producerer hverken IgG1-protein eller -fragmenter. Myelomceller kan fusioneres med miltceller, så der opstår hybridomceller, som effektivt producerer monoklonale antistoffer og således har NS0 været meget brugt som fusionspartner i monoklonale antistofteknologier. Fordi NS0-cellerne har meget lave niveauer af glutamin syntetase (GS) blev der omkring 1990 udviklet et meget effektivt ekspressionssystem baseret på plasmider med GS som selektionsmarkør. NS0-celler har især været brugt til at producere antistoffer.

BHK-celler blev oprindeligt isoleret fra hamsternyre (Baby Hamster Kidney) i 1961, og cellerne blev dels inficeret med virus og dels udsat for kemisk mutagenese, inden den mest udbredte BHK-variant BHK21 TK- ts13 blev isoleret i 1977. Denne cellelinje mangler thymidin-kinase-genet, som kan komplementeres af DHFR-genet for DNA-syntese. Transfekteerede celler kan derfor effektivt isoleres, når DHFR inhiberes med methotrexat. BHK-celler bruges bl.a. til produktion af visse koagulationsfaktorer inkl. Faktor VII (NovoSeven) fra Novo Nordisk.

DANDIAG



Pipetter Doctor "FieldService"

Du behøver ikke længere at sende dine pipetter til kalibrering!

Vi kan nu tilbyde service og kalibrering af alle pipette fabrikater, type & volumier >10 µl & <25 ml udført hos dig!

Ved "FieldService" bliver den samlede tid for service og kalibrering, reduceret fra dage til timer!

Kontakt os

- Ring og få flere informationer
- Ring hvis du ønsker et uforpligtende møde
- Ring hvis du ønsker en snak om kalibreringer

Dandiag A/S | Mårkærvej 9 | 2630 Tåstrup
T: 4343 3057 | www.dandiag.dk | dandiag@dandiag.dk



GILSON

Pipetman® Neo

NYHED !

Stempeltryk reduceret med op til 50 %

TILBUD:

"Neo Intro-kit"

Dækker hele området fra 1µl til 1000µl:

P10N + P100N + P1000N

3.495,- dk.kr.

(Tilbud gældende til 01-12-07
- Normalpris: 5.350,- ekskl. moms.)



Biolab A/S · Sindalsvej 29
DK-8240 Risskov
Telefon 8621 2866
Telefax 8621 2301
E-mail: sales@biolab.dk

Kalibrering af pipetter. - DANAK akkreditering nr. 482.

Specialister i:

SPE * HPLC * GPC * LC * FLASH Spektrofotometre * TLC * CE *

zymes A/S i 2007 har etableret en Biopharmaceutical Ingredients division netop mhp. levering af rekombinante proteiner til erstatning for tidligere anvendte mediekomponenter/supplementer af animalsk oprindelse.

Mammale cellelinjer

Mammale celler udtaget fra animalsk væv har normalt begrænset levetid *in vitro*, men cellerne kan undergå en transformation, så de kan vokse uendeligt; dvs. de bliver immortaliserede/udødeliggjorte. Denne transformation kan opstå spontant, som det ses i visse tumorcellelinjer, eller den kan induceres ved virusinfektion eller ved klassisk mutagenese med kemiske stoffer eller stråling. De immortaliserede cellelinjer, som bruges til produktion af rekombinante proteiner, udvælges på baggrund af deres delingshastighed, samt deres evne til at syntetisere og udskille korrekt processeret protein. Til produktion af terapeutiske proteiner bruges oftest cellelinjer fra dyr af gnaverfamilien, såsom varianter af CHO-, BHK- og NS0-celler (se faktaboks). CHO-cellelinjer anvendes ofte til industriel fremstilling af terapeutiske proteiner, bl.a. fordi CHO-cellelinjer har vist sig som dårlige bærere af utilsigtede patogene humane vira.

Under normale forhold vil celler i væv være naturligt omgivet af et meget næringsrigt miljø, som opretholdes ved tilførsel af substrater som ilt og sukker. Disse tilføres via det filtrat af blod, som passerer fra arterie til vene, og med dette filtrat fjernes også affaldsstoffer såsom CO₂ og laktat. *In vitro* kræves derimod anvendelse af komplekse medier, og historisk var de første medier baseret på biologiske væsker som serum eller ekstrakter af blod eller væv. Brugen af kalveserum som tilsætning var udbredt indtil begyndelsen af 1990'erne, hvor udbrud af kogalskab medførte en brat begrænsning i den globale tilgængelighed af kalveserum godkendt til dyrkning af celler mhp. fremstilling af terapeutiske proteiner. I laboratoriet tilstræbes i dag, hvor muligt, fuldt definerede medier uden animalske komponenter med glukose og glutamin som kulstof- og energikilder. Med dette valg af kulstofkilder vil de producerede affaldsstoffer udgøres af laktat, CO₂ og ammonium. Den valgte dyrkningsproces og medieformulering skal derfor designes, så koncentrationen af

disse affaldsstoffer holdes på passende lave niveauer under dyrkningen.

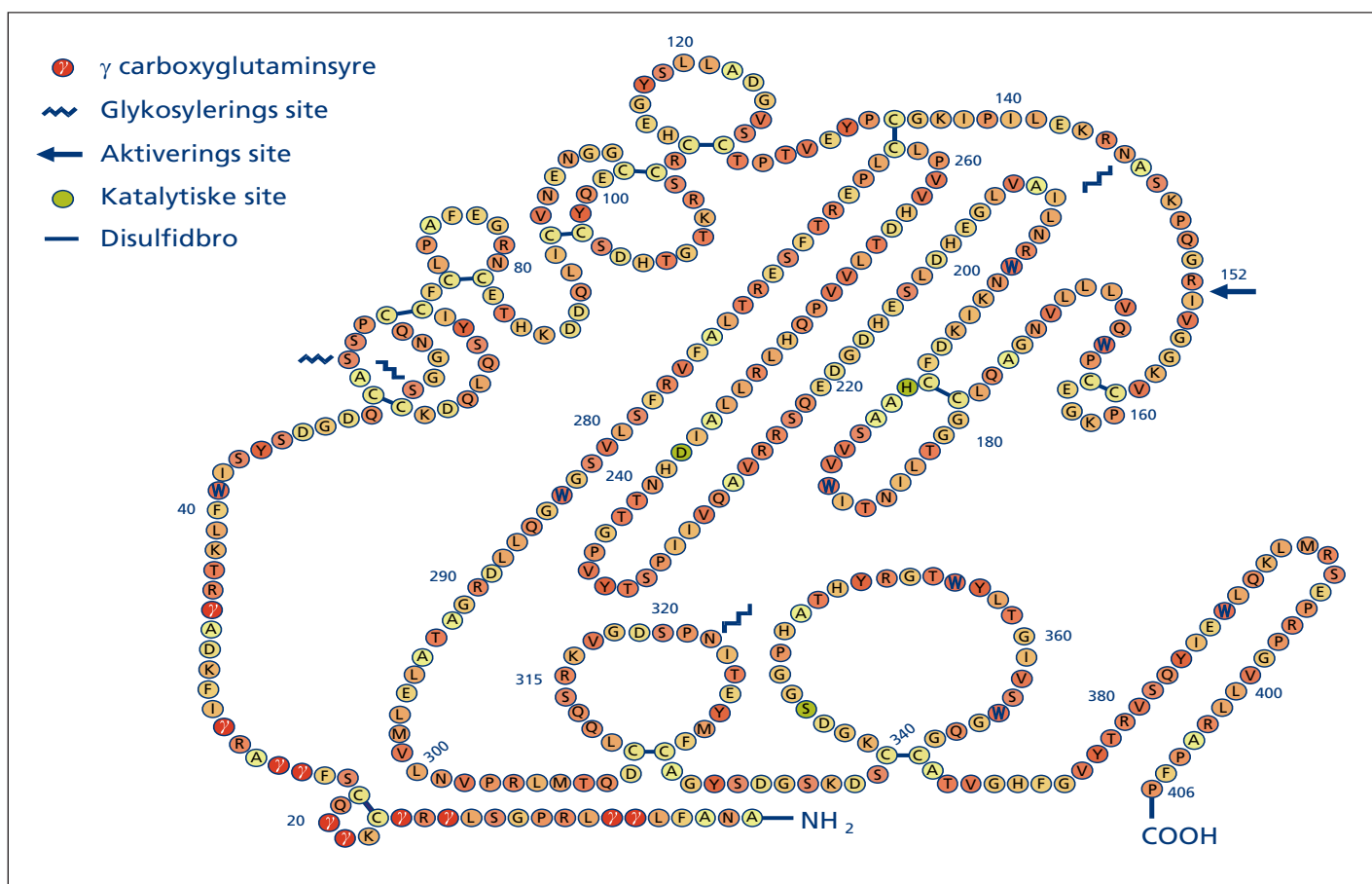
Mammale ekspressionssystemer

For at få et fremmed protein udtrykt i en mammal cellelinje skal det genetiske materiale, som koder for proteinet, optages i den mammale celle. Denne proces kaldes transfektion. Til transfektion kan udnyttes en af naturens egne effektive måder at få DNA ind i en mammal celle på - nemlig virusinfektion. Da de virusbaserede metoder er svære at arbejde med, bruger man oftest de simple direkte transfektionsteknikker, hvor plasmidet optages direkte ind i cellerne. Optagelse af plasmid/DNA i celler faciliteres ved at gøre cellevæggen porøs; enten gennem lipidbaserede metoder eller ved elektrochok. Efter transfektionen isoleres de celler, som har optaget plasmidet, og sekundært udvælges de celler, som stabilt og effektivt producerer det ønskede protein. For at selekttere celler, som har optaget plasmid, bruges bl.a. selektionssystemer, hvor plasmidet indeholder et gen, som er essentielt for cellens vækst (recessive, selektive markører). Eksempelvis benyttes hyppigt CHO-cellelinjer som Dukx-B11 og DG44, hvor begge DHFR (dihydrofolate reduktase) alleler er inaktiveret ved mutationer. DHFR er nødvendigt for syntesen af tetrahydrofolat, og mangel på tetrahydrofolat vil hæmme den primære syntese af glycin ud fra serin, syntesen af thymidin-monofosfat og purin-biosyntesen [5]. Cellerne kan derfor kun vokse i medier uden glycin, thymin eller hypoxanthin, hvis de har optaget et ekspressionsplasmid indeholdende et gen kodende for DHFR. Selektionen kan øges ved at tilsætte en inhibitor af selektionsmarkørens produkt – i dette tilfælde methotrexat (en folinsyre-analog), som inhiberer aktiviteten af DHFR. Man bør i denne sammenhæng være opmærksom på risikoen for reaktivering af de inaktiverede DHFR alleler (se faktaboks).

Ud over selektionsmarkøren indeholder mammale ekspressionsvektorer DNA-sekvenser, som fremmer udtrykkelsen af det ønskede protein (GOI, Gene of Interest). Vigtigste element for at få effektiv udtrykkelse af det ønskede produkt er en promotorsekvens, som sidder foran den produktkodende sekvens. Disse sekvenser isoleres ofte fra vira, som har nogle af de kraftigste promotorer til regulering af genekspression. Efter den

Egenskab	<i>E.coli</i>	Gær	Mammale celler
Generationstid (timer)	0.5-1.0	1.5-3.5	12-40
Dimension (µm)	1.5-3	2-10	10-30 ^[10]
Vækst medie sammensætning	Få, definerede komponenter	Få, definerede komponenter	Komplekst, evt. med serum
Vækst medie pris (index)	1	1	5-400
Celletæthed (celler pr mL) – proces type	10 ¹⁰ fedbatch	10 ⁸ batch 10 ⁹ fedbatch	10 ⁶ batch 10 ⁷ fedbatch 10 ⁸ perfusion
Volumetrisk produktivitet (mg/L/time)	5-300	10-100	5-50 ^[11]
Lokalisation af protein	Cytoplasmatisk Periplasmatisk Extracellulær ^[12]	Cytoplasmatisk Peroxisomal Extracellulær	Extracellulær
Grovrensning	Celleåbning Centrifugering/Filtrering Kromatografi	Centrifugering/Filtrering Kromatografi	Filtrering Kromatografi
Foldning	Refoldning kan være nødvendigt	OK	OK

Tabel 2. Sammenligning af karakteristika for mammale og mikrobielle ekspressionssystemer.



Figur 2. Koagulations Faktor VII, et eksempel på glykoprotein med komplekse posttranslationelle modifikationer.

produktkodende sekvens sidder en terminator og en polyadenyleringssekvens, som sørger for at mRNA får en polyA-hale og dermed bliver mere stabilt i cellen. Ekspressionsplasmidet kan også indeholde DNA-elementer, som faciliterer plasmidets indkorporation på cellens kromosom.

Mammale versus mikrobielle systemer

I terapeutisk sammenhæng kan forbruget af eksempelvis antistoffer løbe op i mængder svarende til mange gram pr. patient pr. år [8], hvilket kræver årlig produktion i tonsskala af visse antistoffer. Med sådanne produktivitsbehov ville det synes oplagt at udtrykke terapeutiske proteiner i mikrobielle værtsystemer som bakterier eller gær. De mikrobielle værtssystemer er kendetegnet ved deres høje væksthastighed, billige vækstmedier, høje celletætheder og en relativ ukompliceret grovrensning (tabel 2). Specielt den store forskel i celletæthed er afgørende for den generelt højere volumetriske produktivitet observeret i processer baseret på mikrobielle værtsceller. Udviklingstiden for en mikrobiel produktionscellelinje er i reglen kortere end for mammale celler, primært fordi eksempelvis *E. coli* fordobler sig 20-40 gange hurtigere end en mammal celle. Derudover kan udvælgelsen af en mammal produktionscellelinje kræve flere trin, såsom amplifikation, subkloninger, eventuel adaption til vækst i suspensionskultur og adaptering til serumfrit medium.

Posttranslatoriske modifikationer

Når mammale celler alligevel er så udbredte i forbindelse med fremstilling af terapeutiske proteiner, skyldes det deres evne til at sikre korrekte disulfidbroer, korrekt foldning af molekylet, og ikke mindst muligheden for posttranslatoriske modifikationer af peptidet (glykosylering, fosforylering, sulfatering, acetylering, acylering, γ -carboxylering, proteolytisk processing).

Ny Metrohm IC
med ny software og intelligente
kolonner.

Et sikkert køb
med 3 års garanti på instrumenter
og 10 års garanti på suppressor.



Tjek den på:
www.professional-ic.com
eller ring på **70 200 561**

En uddybende oversigt for posttranslatoriske modifikationer af terapeutiske proteiner i mammale celler kan findes i [9]. Visse proteiner kan således kun produceres i mammale celler, hvis de skal have en kvalitet, som gør dem anvendelige til human-terapeutisk brug. Der findes dog eksempler på terapeutiske proteiner, som produceres i både mammale og mikrobielle systemer. Således har IFN- β udtrykt i mammale celler en human-lignende N-glykosylering, mens det tilsvarende peptid udtrykt i *E. coli* ikke er glykosyleret.

De mammale cellers fortrin ligger, som nævnt, i deres evne til at udtrykke korrekt foldede polypeptider, bl.a. med en glykosylering som er kompatibel med human brug uden at være fuldt identisk med human glykosylering. Proteinernes glykanstrukturer eller oligosakkarider kan have stor betydning for proteinets fysiske-kemiske egenskaber, dets biologiske aktivitet (receptorbinding, enzymaktivitet), men også for hastigheden, hvormed det fjernes fra blodbanen. Et stofs terapeutiske effektivitet er således resultatet af dets biologiske aktivitet og hastigheden, hvormed det fjernes fra blodbanen. Eksempler på stoffer, hvor tilstedeværelsen af oligosakkarid-strukturer forøger den biologiske aktivitet, er: erythropoietin (EPO), Faktor VIII og Faktor IX [13]. En anden posttranslational modifikation, som kun de mammale celler kan lave er γ -carboxylering. Denne modifikation er vigtig for aktiviteten af flere proteiner involveret i det humane koagulationssystem, eksempelvis Faktor VII, Faktor IX og Protein C. γ -carboxylering er konvertering af glutaminsyre til γ -carboxyglutaminsyre katalyseret af en vitamin K-afhængig carboxylase, som findes i leverceller, men også i flere mammale produktionscellelinjer såsom CHO, BHK og HEK293.

Koagulationsfaktoren Faktor VII er et godt eksempel på et terapeutisk protein, hvor en række posttranslatoriske modifikationer er afgørende for stoffets terapeutiske effektivitet. Faktor VII er karakteriseret ved 12 disulfidbroer, 10 γ -carboxyleringssites mellem position 5-35 nær aminoterminalen af proteinet, 4 glykosyleringssites, hvoraf de to er N-glykosylerede (position 145 og 322) og to er O-glykosylerede (position 52 og 60) (figur

2). Desuden er proteinet syntetiseret med et propeptid foran aminoterminalen, og dette propeptid spaltes fra, inden det færdige protein bliver sekretet fra cellen.

Glykosyleringer på terapeutiske proteiner kan i visse tilfælde udløse uønskede immunreaktioner i mennesker. I nogle tilfælde kan selve oligosakkarid-strukturen fungere som antigen, så patienter udvikler antistoffer mod det terapeutiske protein [13, 14]. Mange glykoproteiner, udtrykt i muse-cellelinjer har en oligosakkarid-struktur indeholdende en endestillet galaktose- α -1,3-galaktose- β -1,4-N-acetyl-D-glukosamin-gruppe. Denne struktur er potentielt allergen i mennesker, hvor op til 1% af de cirkulerende immunoglobuliner er rettet mod netop denne oligosakkarid-gruppe [13,14]. CHO- og BHK-cellelinjer er dog ikke i stand til at syntetisere denne forbindelse, da de ikke udtrykker det nødvendige enzym, α -1,3-galaktosyltransferase, hvilket gør disse cellelinjer velegnede til produktion af terapeutiske proteiner. Sammenlignet med humane celler udviser CHO-celler forskelle i O-glykosylering, forskel i strukturen af de endestillede sialyregrupper og de er ikke i stand til at påsætte sulfatgrupper på N-acetyl-D-galaktoseamin. CHO-celler kan dog ofte klones mhp. at opnå mere human-lignende glykoprofiler.

Særlige forhold ved dyrkning af mammale celler

Håndtering af mammale celler kræver særlig opmærksomhed i kraft af en forhøjet risiko for infektion med bakterier eller mycoplasma samt risikoen for propagering af animalsk afledte vira eller prioner. Håndtering af mammale celler er særdeles arbejdskrævende og skal foretages i sterile flowbænke, oftest placeret i laboratorier med slusefaciliteter og med et ventilationssystem, der lever op til skærpede krav (figur 3).

Som udgangspunkt kan virus i cellelinjer enten introduceres i forbindelse med udviklingen af værtscellelinjen, de anvendte råvarer, manuel håndtering eller produktionsmiljøet. Good Manufacturing Practice (GMP) fra udvælgelsen af cellelinjen over råvarekontrol og kontrol af produktionsmiljøet inkl. udbredt brug af engangsudstyr, kan dog minimere risikoen. Råvarer og udstyr



Figur 3. Sterilteknisk arbejde i laminar flowbænk mhp. at minimere risikoen for kontaminering af cellekulturen.

anvendt til fremstilling af terapeutiske proteiner skal derudover have en status, som minimerer risikoen for kontaminering af processen/produktet med prioner, der kunne udløse smitsom spongiform encephalitis (TSE) herunder variant Creutzfeldt-Jakobs sygdom. Beredskabet til minimering af spredning af TSE i relation til ekspresion i mammary celler afviger dog ikke fra det beredskab, der anvendes ved fremstilling af terapeutiske proteiner udtrykt i mikrobielle systemer.

Kommende udfordringer

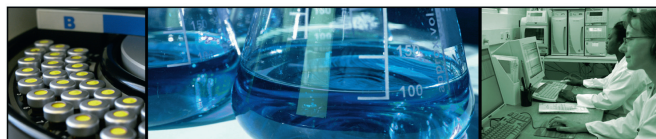
Den industrielle udnyttelse af mammary ekspresionssystemer har oplevet en betydelig udvikling, specielt drevet af udviklingen inden for antistofmarkedet. Siden det første monoklonale antistof blev markedsført i 1986 (Orthoclone, OKT3, muromonab), er der således markedsført yderligere 4 murine antistoffer, 12 humaniserede antistoffer, 5 kimære (human/mus) antistoffer og to fuldt humane antistoffer (Humira, Vectibix) [2,15]. Alt tyder på, at denne udvikling vil fortsætte med uforandret hastighed, specielt inden for terapiområder som inflammations- og cancerbehandling. Dette vil stille store krav til optimering af eksisterende ekspresionsplatforme, udbygning af bioreaktorkapaciteten i industrien, og ikke mindst mulighederne for rekruttering af kvalificerede medarbejdere.

E-mail-adresser

Claus Kristensen: clak@novonordisk.com
Jørn Meidahl Petersen: jmp@novonordisk.com
Bjarne Rask Poulsen: bjr@novonordisk.com
Lars Højlund Christensen: lhch@novonordisk.com

Referencer.

- Walsh, G. (2006), Biopharmaceutical Benchmarks, Nature Biotechnology, 2006, 24, s. 769-776.
- IMGT® - The International Immunogenetics Information System. <http://imgt.cines.fr/textes/IMGTreertoire/GenesClinical/monoclonalantibodies/>
- Harrison, R.G., (1907), Observations on the living developing nerve fibre, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 4, s. 140-143.
- Köhler G. og Millstein C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, Nature, 256, s.495-497.
- Kaufman, R. (1990), Selection and coamplification of heterologous genes in mammalian cells, Methods in Enzymology, 185, s. 537-566.
- Gandor, C., Leist, C., Fiechter, A., Asselbergs, F.A.M. (1995), Amplification and expression of recombinant genes in serum-dependent Chinese hamster ovary cells., FEBS letters, 337, s. 290-294.
- Urlaub, G. et al. (1986), Effect of gamma rays at the dihydrofolate reductase locus: deletions and inversions, Somatic Cell and Molecular Genetics, 12(6), s.555-566.
- Andersen, D.C. & Reilly D.E. (2004), Production technologies for monoclonal antibodies and their fragments, Current opinions in Biotechnology, 2004, 15, s. 456-462.
- Walsh G. og Jefferis R., (2006) Post translational modifications in the context of Therapeutic proteins, Nature Biotechnology, 24 (10), p.1241-1252.
- Seewoster, T, Lehmann, J., (1997), Cell size distribution as a parameter for the predetermination of exponential growth during repeated batch cultivation of CHO cells, Biotechnology and Bioengineering, 55 (5), p. 793-797.
- Shen, A.Y. et al., (2006), Recombinant DNA technology and cell line development, In Cell culture Technology for Pharmaceutical and Cell-Based Therapies., ed. Ozturk, SS and Wei-Shou Hu, Taylor & Francis Group New York.
- Leonhartsberger, S., (2006), *E. coli* expression system efficiently secretes recombinant proteins into culture broth, BioProcess International April 2006.
- Harcum, S.W., (2006), Protein Glycosylation, In Cell culture Technology for Pharmaceutical and Cell-Based Therapies., ed. Ozturk, SS and Wei-Shou Hu, Taylor & Francis Group New York.
- Jenkins, N. (1996), Getting the glycosylation right: implications for the biotechnology industry, Nat. Biotechnology, 1996, 14, 975-981.
- The future of Monoclonal Antibody Therapeutics: innovation in antibody engineering, key growth strategies and forecast to 2011. July 2006. Business Insight. www.globalbusinessinsights.com.



Contract Laboratory

GMP analyses primarily for the pharmaceutical and herbal medicinal industries

Fermentation and downstream processing in pilot and laboratory scales as a business partner in R&D projects



DB Lab A/S
Stenhuggervej 22
DK-5230 Odense M
Denmark
Tel: +45 6593 2920
www.dblab.dk

More than a lab



INGENIØR

Proces- & Bioteknologi

Vi søger undervisere, der vil være med til at præge uddannelsen af fremtidens ingeniører.

Med ansættelse som adjunkt/lektor, ekstern lektor eller time-lærer kommer du til at arbejde med studerende på diplom- og civilingeniørstudiet.

Du får en spændende og udfordrende hverdag med undervisning og vejledning af topmotiverede studerende. Udviklingsopgaver udføres i samarbejde med studerende, erhvervslivet og andre uddannelsesinstitutioner. Du deltager også i udvikling af vores processtekniske laboratorium, special kurser inden for industriel kemisk og bioteknologisk produktion mv. Udfordringerne er store, og du får mulighed for personlig, faglig og pædagogisk udvikling.

Læs mere om stillingen på www.iha.dk eller kontakt studieleder Adam Brun på tlf. 8730 2702, for at høre mere om stillingerne.

Ansøgning snarest

Skriftlig ansøgning vedlagt CV og relevante bilag sendes til Ingeniørhøjskolen i Århus, att. Rektorat



iha.dk
Ingeniørhøjskolen i Århus
Dalgas Avenue 2
8000 Århus C