

Hintergrund

zur EURL ECVAM Empfehlung zum Einsatz der tierischen Immunantwort für die Identifizierung von neuen Antikörpern für den Einsatz in der biologischen Forschung

STAND 12.03.2021

I. Hintergrund

- Die Bedeutung von Antikörpern und die EURL ECVAM-Empfehlung

Antikörper haben heute ein sehr breites Einsatzgebiet. Sie sind essentielle Nachweisreagenzien in der Grundlagenforschung ebenso wie in vielen diagnostischen Verfahren (Diagnostika, Biomarker). Nicht zuletzt sind Antikörper von großer Bedeutung als Therapeutika. Ohne monoklonale Antikörper würde die heutige biomedizinische Forschung nicht existieren, so wenig wie unzählige wichtige Beiträge zur Immunologie, Zellbiologie, Molekularbiologie, Entwicklungsbiologie, Biochemie und Pharmakotherapie.

Jeder monoklonale Antikörper muss individuell gegen sein Zielmolekül (Antigen; hier ist der Begriff des Epitops wichtig, das die exakte Erkennungsregion im Zielmolekül umfasst) entwickelt werden und der Erfolg des gewählten Verfahrens ist nicht vorhersagbar. Dafür stehen zwei Vorgehensweisen zur Verfügung:

- (1) die 'klassische' Hybridoma-Technologie (Vakzinierung von Tieren, z. B. Maus, Isolierung von Plasmazellen aus der Milz, Hybridisierung mit immortalisierten Myelomzellen) sowie
- (2) die neueren *in vitro* Display-Technologien, vorrangig derzeit das Phage Display Verfahren.

Demgegenüber können die häufig für bestimmte Forschungsfragen notwendigen polyklonalen Antikörper nur über das Immunsystem im Tier gewonnen werden. Hierbei wird vielfach mit Antiseren aus den vakzinierten Tieren gearbeitet, in denen eine Vielzahl unterschiedlicher Antikörper gegen diverse Epitope enthalten sind.

Im Mai 2020 wurde vom Joint 'Research Center' der EU-Kommission (EC-JRC) die [EURL ECVAM Recommendation on Non-Animal-Derived Antibodies](#) herausgegeben. Derzeit handelt es sich um eine unverbindliche Empfehlung, die sich an verschiedene Adressaten wie Genehmigungsbehörden für Tierversuche, öffentliche Institutionen für die Genehmigung von Förderanträgen wie auch an die Publikationsorgane richtet. Bei konsequenter Umsetzung der Empfehlung durch die Adressaten oder gar in Gesetzesvorhaben, in EU-Verordnungen sowie in Genehmigungen von Förderprogrammen sind weitreichende Folgen für die Grundlagenforschung und die industrielle Forschung und Entwicklung (F&E) an europäischen Standorten zu befürchten.

Die [EURL ECVAM-Empfehlung](#) besagt: *"Animals should no longer be used for the development and production of antibodies for research, regulatory, diagnostic and therapeutic application"*. Dies bedeutet, dass die Vakzinierung von Tieren zur Herstellung von Antigen-produzierenden Hybridomazellen erschwert oder gar verboten wäre. Von der EURL ECVAM-Empfehlung nicht betroffen wäre die Testung von Antikörpern zum Beispiel in Tiermodellen, für Toxikologie-Studien etc.

Die Arbeitsgruppe, die die EURL ECVAM-Empfehlung erarbeitet hat, legt in der Bewertung ihre Ansicht dar, dass die *in vitro*-display Technologien (1) inzwischen soweit gereift seien, dass sie die Hybridoma-Technologie (ausnahmslos ersetzen könnten und (2) sogar Vorteile gegenüber der Hybridoma-

Technologie hätten. Daraus leitet die Arbeitsgruppe die generelle Empfehlung ab, auf die Hybridoma-Technologie zu verzichten.

Zu dieser [EURL ECVAM-Empfehlung](#) liegt inzwischen eine Reihe an durchweg sehr kritischen Stellungnahmen vor, wie u.a.: Interessengruppen aus der Forschung ([LERU](#), [NATURE Artikel-Korrespondenz und Kommentare](#)), verschiedene Fachgesellschaften ([GV-SOLAS](#), [Deutsche Gesellschaft für Immunologie](#)), Zusammenschlüsse der universitären Forschung wie auch der European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA) zusammen mit der European Animal Research Association (EARA) ([EARA/EFPIA](#)). Die Autoren bemängeln, dass die Vor- und Nachteile der Technologien nicht gleichwertig gewürdigt und abgewogen wurden.

- ✎ **Die klare Position der Anwender ist, dass die Möglichkeiten der *in vitro* Display-Technologien sehr begrüßt werden. Sie sollen – wo möglich – vermehrt Anwendung finden. Allerdings müssen derzeit beide Technologien noch komplementär genutzt werden, um optimale Ergebnisse zu erzielen.**
- ✎ **Der Zeitpunkt für eine komplette Umstellung von Hybridoma auf Display Technologien und damit für einen Verzicht auf Tierversuche wird deshalb als verfrüht angesehen.**

II. Umfrage

- Bestandsaufnahme bei den potentiell Betroffenen

Zwei Umfragen wurden durchgeführt um zu ergründen, ob und wie sich der empfohlene vollständige Ersatz der Hybridoma-Technologie durch *in vitro* Display-Technologien auf Forschung und Entwicklung auswirken würde. Der Verband Biologie, Biowissenschaften und Biomedizin in Deutschland (VBIO e. V.) hat eine Umfrage unter den in ihm vertretenen Fachgesellschaften durchgeführt. In Kooperation mit VBIO befragte auch der Branchenverband für die Biotechnologie-Industrie in Deutschland, BIO Deutschland e. V., seine Mitglieder.

An der Umfrage haben sich Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus neun Fachgesellschaften und über 60 Lehrstühlen bzw. Arbeitsgruppen sowie rund dreißig Unternehmen beteiligt. Die Beteiligung von Pflanzenforschern, Genetikern, Entwicklungsbiologen, Mikrobiologen, Biotechnologen, Virologen und Physiologen stellt sicher, dass alle Aspekte der Nutzung von Antikörpern berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse

Nahezu alle Befragten äußern sich sehr besorgt und skeptisch. Sie sehen große wissenschaftliche und finanzielle Nachteile, sollte die Nutzung von Antikörpern (AK), die primär im Tier gewonnen werden, in der EU nicht mehr oder nur unter erheblich erschwerten Bedingungen möglich sein. Es besteht unter den Befragten ein klares Bekenntnis zu den 3-R-Prinzipien des europäischen Tierschutzrechts und damit auch eine deutliche Bereitschaft zur Nutzung synthetischer Antikörper, sofern diese in Hinblick auf Qualität, Zugänglichkeit und finanzielle Investition gleich gute Ergebnisse erzielen würden wie die Antikörper tierischen Ursprungs.

Sollte die Empfehlung der EUR-ECVAM umgesetzt werden, so fürchten die befragten Wissenschaftler negative Konsequenzen, die sich in drei wesentlichen Punkten zusammenfassen lassen:

1. Nachteile für Grundlagenforschung und wissenschaftlichen Wettbewerb

Einzelargumente

- Monoklonale Antikörper sind für bestimmte Antigene nicht anwendbar, auch bei Proteingemischen ist nur der Einsatz aus dem Tier gewonnener polyklonale Antikörper

möglich. Ersatzmethoden, z.B. oligoklonale Antikörpergemische, sind entweder zu teuer oder bisher nicht im Markt verfügbar.

- Die Nutzung von polyklonalen Antiseren wäre nicht mehr möglich. Dies ist derzeit die Methode der Wahl, um auch völlig neue, bisher nicht bekannte Antigene zu detektieren. Hier ergibt sich ein klarer Vorteil der polyklonalen- gegenüber monoklonalen- oder synthetischen Antikörpern. Es gibt auf lange Sicht keinen adäquaten Ersatz
- Den mittels Display-Techniken erhaltenen Antikörpern fehlt vielfach die notwendige Spezifität, Selektivität und/oder Affinität. In Tieren werden dagegen Antikörper erzeugt, u.a. durch Affinitätsreifung, die häufig die gesuchten Eigenschaften aufweisen.
- Funktionelle Antikörper werden durch Immunisierung in Tieren (auch speziesabhängig) in einer Weise erzeugt, wie es *in vitro* Verfahren nicht nachbilden können.
- Gegen viele Proteine gibt es keine kommerziell erhältlichen synthetischen Antikörper.
- Die Herstellungskosten für synthetische Antikörper sind um ein Vielfaches höher als die Herstellung polyklonaler Antikörper beispielsweise in Kaninchen oder Meerschweinchen. Für ein Grundlagen-orientiertes Labor sind rekombinante Antikörper nicht finanzierbar. (Beispiel: polyklonale Antikörper sind im Bereich von einigen hundert Euro, Phagen-Antikörper im Bereich von 20.000 bis 30.000 Euro für eigene Antigene zu bekommen)
- Die Vielfalt an Antikörpern, die in der Wissenschaft, Diagnostik und Therapie benötigt werden, ist durch synthetische Antikörper noch nicht abzudecken.
- Ansätze mittels Tierimmunisierungen liefern vielfach die besseren, manchmal sogar die einzigen funktionellen Antikörper.

2. Nachteile für industrielle Forschung & Entwicklung und internationalen Wettbewerb

- Eine Nutzungseinschränkung oder Verbot tierischer Antikörper würde für deutsche bzw. europäische Unternehmen einen deutlichen Wettbewerbsnachteil für die Bereitstellung von Therapeutika und Diagnostika bedeuten - insbesondere für die zeitnahe Produktion von aktuell dringend benötigten Diagnostika, wie Antigen- und Antikörpertests für SARS-CoV-2.
- Die rekombinante Antikörpertechnik wurde primär für die Entwicklung therapeutischer Antikörper etabliert; für die primäre Identifizierung neuer Antikörper als Therapeutika wird jedoch in den meisten Fällen ebenfalls die Hybridoma Technologie angewandt.
- Bestrebungen wie das NGFN2 SMTP-Projekt „Antikörperfabrik“ sowie einige EU-Projekte („Affinomics“, „Affinityproteome“) wurden leider nicht weitergefördert. Für einen vollständigen Verzicht auf tierische Antikörper müssten die *in vitro*-Technologien noch deutlich verbessert werden. Naive bzw. universelle Bibliotheken mit Größen von $>10^{10}$ Antikörpern können zwar problemlos gegen fast alle Zielmoleküle spezifische Antikörper identifizieren, aber das Verfahren realisiert weder alle Funktionen noch in jedem Fall die richtigen Eigenschaften gegen eine nahezu unendliche Zahl von Antigenen. Die Natur löst dieses Problem effizient durch einen evolutiven Prozess, die Affinitätsreifung. Hierbei werden Antikörper nach und nach verbessert.
- Die genetischen Mechanismen der Erzeugung von Sequenzdiversität des Antikörperproteins ist bei Kaninchen und anderen Tierarten sehr komplex. Zudem hat jedes individuelle Tier ein eigenes individuelles Antikörperrepertoire, so dass aus verschiedenen Tieren derselben Art unterschiedliche Antikörper isoliert werden können. Diese Dimension kann von synthetischen Bibliotheken derzeit nicht erreicht werden. Jedoch können die Blutzellen der immunisierten Tiere für *in vitro* Display-Verfahren eingesetzt werden (z.B. Immunbibliotheken).

3. Erhebliche zusätzliche Forschungskosten - mit negativen Folgen für die Forschungsstandorte in Deutschland und EU

Es muss vermieden werden, dass Forschung durch nicht optimale Eigenschaften, fehlende Verfügbarkeit synthetischer Antikörper und die damit verbundenen sehr hohen Kosten eingeschränkt oder verhindert wird.

- Synthetische Antikörper sind vielfach nicht verfügbar oder für die verschiedenen molekularbiologischen Methoden nicht erprobt. Einige Technologien sind noch durch Patente geschützt. Die Herstellungsmethoden sind oft sehr komplex.
- Die kommerzielle Erzeugung synthetischer Antikörper ist vielfach nicht wirtschaftlich, weil der Markt noch viel zu klein sei.
Für viele Fragestellungen müssten teils umfangreiche vergleichende Validierungsexperimente durchgeführt werden.
- Es besteht die berechnete Annahme, dass Arbeitsgruppen vermehrt in Länder mit weniger restriktiven Vorgaben ausweichen werden, somit die Forschungsstandorte in Deutschland bzw. der EU geschwächt werden.
- Ein europäisches oder gar deutsches Verbot der Entwicklung und Herstellung tierischer Antikörper führt zum Einkauf dieser Reagenzien oder Diagnostika aus ausländischen Märkten. Dadurch würden Tierwohlfragestellungen aus der strengen europäischen Jurisdiktion verlagert.

Fazit: Aus den genannten Einzelargumenten wird deutlich, dass die Möglichkeiten zur Generierung von Antikörpern im Tier aus Sicht der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler bzw. der Produktentwickler unbedingt erhalten bleiben muss. Viele Arbeitsgruppen unterstreichen, dass sie je nach Fragestellung, Finanzierungsmöglichkeit und Zugänglichkeit synthetische Antikörper bereits nutzen oder mit zunehmendem Fortschritt auf diesem Gebiet zukünftig einsetzen würden. Die kleinen und mittelständischen Biotechnologieunternehmen, die zu lokaler Wertschöpfung am Standort beitragen und wichtig für die Resilienz in Deutschland und Europa sind, müssten erhebliche Einschränkungen und Wettbewerbsnachteile für ihr Geschäftsmodell befürchten, wenn ein Verbot der Entwicklung und Herstellung tierischer Antikörper kommen würde.

Empfehlungen der Befragten

Die Rückmeldungen zu den Umfragen des VBIO und von BIO Deutschland enthielten eine Reihe an Vorschlägen, wie die Nutzung synthetischer Antikörper gefördert und mittel- bis langfristig als *best practice* etabliert werden könne.

- Fördermöglichkeiten, um synthetische Antikörper günstiger herzustellen, sollten verbessert werden.
- In Projektbudgets sollte zukünftig der Mehraufwand für die Nutzung synthetischer Antikörper berücksichtigt werden können.
- Das Angebot an kommerziellen auch synthetischen Antikörpern sollte erweitert werden und dabei Fördermöglichkeiten verbessert werden, um synthetische Antikörper günstiger herzustellen.
- Monoklonale Antikörper aus Hybridoma oder polyklonale bzw. multifunktionale Antikörper, die kommerziell nicht verfügbar sind und benötigt werden, sollten weiterhin in Einrichtungen oder Unternehmen entwickelt werden dürfen, die über das methodische Knowhow und die rechtlichen Genehmigungen verfügen und tierschonend arbeiten.
- Die Weiterentwicklung innovativer Antikörpertechnologien solle gezielt gefördert werden, so dass die bisherigen Nachteile beispielsweise der Spezifität, Verfügbarkeit und Kosten überwunden werden.

III. Der Standpunkt der Verbände

Die Empfehlungen des EURL ECVAM gehen an der aktuellen Forschungsrealität vorbei und gefährden die Grundlagenforschung ebenso wie die industrielle Forschung und Entwicklung im Bereich moderner biotechnologischer Innovationen in der EU. Die experimentelle Bearbeitung bestimmter wissenschaftlicher Fragestellungen wird teils verhindert, zumindest aber deutlich erschwert. Dies führt zu einer deutlichen Verzerrung des internationalen Wettbewerbs und schwächt damit den Wissenschafts- und Wirtschaftsstandort EU. Dies ist weder im Interesse der EU noch im Interesse Deutschlands.

Der VBIO und BIO Deutschland warnen dringend davor, diese Empfehlung umzusetzen. Vielmehr erwarten wir von den beteiligten Behörden und Institutionen einen konstruktiven Dialog mit allen Beteiligten, wie Antikörper tierischen Ursprungs sukzessive durch synthetische Antikörper ersetzt werden könnten und dass die Möglichkeiten für alle Seiten fair geprüft werden. Dabei sollte allen Teilnehmern wichtig sein, dass eine Umstellung nicht zu einer Behinderung der Wissenschaft oder zu Wettbewerbsverzerrungen und Standortnachteilen führen darf. Nur mit mittel- bis langfristiger Perspektive erscheint eine weitgehende Umstellung ohne diese Nachteile realisierbar. Die Umsetzung erfordert finanzielle Unterstützung der betroffenen Projekte der Grundlagenforschung und der F&E. Wir fordern die Bundesregierung auf, auf europäischer Ebene darauf hinzuwirken, Benachteiligungen für die Forscherinnen und Forscher zu vermeiden und die Nutzung von Antikörpern aus Tieren weiterhin zu ermöglichen. Die EURL ECVAM-Empfehlung übersieht derzeit die experimentell gebotene Realität.