



Fraunhofer

IME

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR MOLEKULARBIOLOGIE UND ANGEWANDTE ÖKOLOGIE



**JAHRESBERICHT
ANNUAL REPORT
2012/2013**

FRAUNHOFER IME

**JAHRESBERICHT
ANNUAL REPORT
2012/2013**

WILLKOMMEN

WELCOME

Das Jahr 2012 stand für das Fraunhofer IME im Zeichen starker Expansionen. Der Betriebshaushalt stieg um 16,9%. Bei einem Rho-Gesamt von 89,4% und einem Rho-Wirtschaft von 38,6% konnte der Gesamthaushalt um 15,0% auf 25,9 Mill. € gesteigert und ein herausragender Abschluss erlangt werden.

Mit Hilfe der LOEWE-Förderung des Landes Hessen nahm die Fraunhofer-Projektgruppe für Translationale Medizin und Pharmakologie (TMP) unter der Leitung von Prof. G. Geisslinger ihre Arbeit im Januar 2012 in Frankfurt auf. Sie bündelt die Forschung verschiedener, an der Goethe-Universität bereits etablierter Arbeitsgruppen mit dem Ziel, prädiktive pharmakologische Modelle zu entwickeln (S. 96). Mittlerweile sind in Frankfurt 15 IME-Mitarbeiter eingestellt.

Die inzwischen mehr als 28 Mitarbeiter zählende Projektgruppe Bio-Ressourcen in Gießen baute ihre Laborkapazitäten weiter aus.

Prof. A. Vilcinskas ist es ebenfalls gelungen, an der JLU Gießen eine Emmy-Noether Nachwuchsgruppe für Dr. M. Schetelig zu etablieren, zudem eine von der VW-Stiftung geförderte Forschungsgruppe um Frau Dr. G. Joop (S. 58).

Am IME in Aachen konnte die durch die Fraunhofer-Zukunftsstiftung geförderte Projektgruppe „Malaria“ die Dreijahresbegutachtung erfolgreich bestehen und bereitet sich nun auf die Testung eines Impfstoffkandidaten für die Produktion und präklinische Testung vor (S. 68). Der Bau der hierzu notwendigen Produktionshalle ist weit fortgeschritten und soll 2014 in Betrieb genommen werden. Zur Verstärkung der Malariaexpertise am IME konnte Frau Dr. G. Pradl, der Ende 2012 ein Heisenberg-Stipendium von der DFG zugesprochen wurde, an den Lehrstuhl für Molekulare Biotechnologie der RWTH Aachen University rekrutiert werden.

Die IME-Arbeitsgruppe von Prof. D. Prüfer an der Westfälischen Wilhelms-Universität (WWU) Münster erzielte weitere Fortschritte bei ihren Arbeiten mit pflanzenbasierten Polymeren, mit Forisomen und Forever Young-Pflanzen.

Das Center for Molecular Biotechnology (CMB) in Delaware hat 2012 zwei Impfstoffkandidaten in die klinische Prüfung der Phase II gebracht (S. 54 und S. 102) und damit seine F&E Arbeiten erfolgreich fortgeführt.

Das Center for Systems Biotechnology (CSB) in Chile konnte

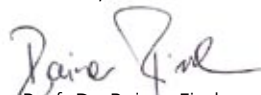
2012 mit seinen derzeit 61 Mitarbeitern die Arbeit mit unseren chilenischen Projektpartnern intensivieren. Die dort und teilweise auch am IME in Aachen verfolgten Projekte konzentrieren sich auf die Forschungsgebiete Aquakultur, erneuerbare Bioressourcen, intelligente Polymere und Biocomputing (S. 72 und S. 100). Zum einjährigen Jubiläum des CSB kamen neben Prof. H.-J. Bullinger viele hochrangige Vertreter aus Forschung und Politik nach Santiago de Chile, um den beeindruckenden Start zu würdigen.

Für den Bereich Angewandte Oekologie war 2012 das erfolgreichste Jahr seiner Geschichte. Die in den letzten Jahren entwickelten und implementierten Verfahren werden zunehmend in erfolgreiche Dienstleistungsangebote umgesetzt. Gleichzeitig werden die klassischen Kompetenzen des Bereichs vermehrt nachgefragt, z. B. im Rahmen der Risikoidentifikation während der Wirkstoffentwicklung für Pflanzenschutzmittel. Bei einem Volumen an öffentlichen Erträgen nur wenig unterhalb der Höchstmarke des letzten Jahres konnten die Industrieerträge um 1,8 Mio. € gesteigert werden. 2013 werden die ersten Metabolismusstudien mit Pflanzenschutzmittelwirkstoffen an Nutztieren in Kooperation mit dem Forschungszentrum Neu-Ulrichstein durchgeführt.

Der Leiter des Bereichs Angewandte Oekologie, Prof. Dr. Christoph Schäfers, habilitierte sich im Fach Ökotoxikologie an der Universität Koblenz-Landau und erhielt Anfang 2013 eine außerplanmäßige Professur an der WWU Münster. Gleichzeitig bauen wir die Zusammenarbeit mit der Universität Siegen aus. Dadurch wird die wissenschaftliche Entwicklung am Standort Schmallenberg entscheidend gestärkt.

Wir danken allen Geschäftspartnern für die vertrauensvolle Zusammenarbeit sowie unseren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für ihren unermüdlichen und motivierten Einsatz und freuen uns mit ihnen auf die vor uns liegenden Aufgaben.

Aachen, März 2013



Prof. Dr. Rainer Fischer



The Fraunhofer IME enjoyed another year of expansion in 2012, with a 16.9% increase in the operating budget and a 15% increase in the general budget totaling 25.9 million € based on a total Rho of 89.4% and industry project revenues of 38.6%.

The new Fraunhofer project group for Translational Medicine and Pharmacology (TMP), supported by the State of Hesse LOEWE initiative, was launched in January 2012. This new group led by Prof. G. Geisslinger comprises 15 employees and brings together different research initiatives from working groups already established at Goethe University aiming to develop predictive pharmacological models (p. 96).

The Bioresources project group in Gießen led by Prof. A. Vilcinskas expanded its laboratory facilities and now comprises nearly 30 personnel, including a young Emmy-Noether research team led by Dr. M. Schetelig and a second research group led by Dr. G. Joop at JLU Gießen (p. 58) supported by the VW foundation.

The Fraunhofer IME Malaria project group in Aachen promoted by the Fraunhofer Future Foundation passed its three-year evaluation and is now preparing to test a vaccine for production and preclinical trials (p. 68). The production facilities needed for this work are already at an advanced stage of construction and will be completed by 2014. This malaria research is strengthened by the recruitment of Dr. G. Pradl to the Institute of Molecular Biotechnology at the RWTH Aachen University. Dr. Pradl was awarded a Heisenberg Scholarship by the DFG in November 2012.

The IME research group led by Prof. D. Prüfer at the Westfälische Wilhelms-Universität (WWU) Münster made further progress towards the development of plant-based polymers, forisomes and Forever Young plants.

The Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology (CMB) in Delaware also enjoyed another successful year, entering two vaccine candidates into phase II clinical trials (p. 54 and p. 102).

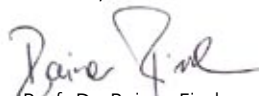
The Fraunhofer Center for Systems Biotechnology (CSB) in Chile meanwhile employing 61 personnel intensified the collaboration with its Chilean project partners. The research is carried out in Chile and in part by a mirror group in Germany, focusing on aquaculture, renewable bioresources, intelligent polymers and biocomputing (p. 72 and p. 100). Prof. H.-J. Bullinger and many high-ranking research organization representatives and politicians visited the CSB on its first anniversary to recognize its impressive performance.

For the Applied Ecology Division, 2012 was the most successful year in its history. Novel methods developed and implemented in the past have significantly extended our portfolio of research, development and services. At the same time the demand for our traditional competencies has increased, e.g. in the context of risk identification during product development. The volume of projects from public authorities increased to high watermark achieved in 2011, and revenues from industrial projects increased to 1.8 million euro. In 2013, the first livestock metabolism studies will be carried out in collaborative projects with the Research Center Neu-Ulrichstein.

The head of the Applied Ecology Division, Prof. Dr. Christoph Schäfers, habilitated in ecotoxicology at the University of Koblenz-Landau and received a Professorship at the WWU Münster at the start of 2013. We have also enhanced our cooperation with the University of Siegen. These collaborations offer enormous potential to strengthen the scientific development of the Applied Ecology Division in Schmallenberg.

We would like to thank our business partners for their loyalty and cooperation throughout 2012 as well as our highly motivated and dedicated personnel for their tireless work. We look forward to the challenges of the forthcoming year.

Aachen, March 2013


Prof. Dr. Rainer Fischer

INHALT

▪ Vorwort	2	Angewandte Oekologie	
DAS INSTITUT IM PROFIL		▪ Transformations- und Lösungsverhalten von Silbernanopartikeln	74
▪ Geschäftsfelder	6	▪ Wirkung von Silbernanopartikeln bei landwirtschaftlicher Klärschlammverwertung	76
▪ Organisation	16	▪ Anwendbarkeit von Bioligandenmodellen im Routine-Monitoring	78
▪ Kuratorium	18	▪ Berechnung sinnvoller Applikationstermine mit Bezug zur BBCH-Kulturentwicklung	80
FORSCHUNGS- UND DIENSTLEISTUNGSANGEBOT		20	▪ Biokonzentrationsstudien mit dem mexikanischen Flohkrebs <i>Hyalella azteca</i>
DAS INSTITUT IN ZAHLEN		36	▪ Lebenszyklusstudien mit Fischen: Statische vs. Durchflussexposition
FORSCHUNGSARBEITEN UND ANWENDUNGEN		38	▪ Relevante Fischarten für die Risikobewertung von Pflanzenschutzmitteln in der EU
Molekularbiologie			▪ Ökotoxikologische Testung von Wasserbausteinen in Mesokosmen
▪ Technologieplattform für humane monoklonale Antikörper gegen Malaria-Antigene	40	▪ Der Effekt von Wildhefen in traditionellen Weinen	90
▪ Reduktion der Stärkeverzuckerung in kaltgelagerten Kartoffelknollen	42	▪ Tiermetabolismusstudien am Fraunhofer IME	92
▪ Zellfreies BY2-Lysat: Ein alternatives eukaryotisches <i>in vitro</i> Translationssystem	44	▪ Säulenapplikation zur Herstellung von Testlösungen hoch lipophiler Substanzen	94
▪ Automatisierte tierische Zellkultur	46		
▪ Optimierung von Ressourcenverwertung und Biomasseproduktion in Nutzpflanzen	48	SONDERBEITRAG 96	
▪ Optimierung von transienter Proteinexpression in Tabak durch Modelle	50	▪ Projektgruppe Translationale Medizin und Pharmakologie	
▪ Herstellung mikrobieller Master-Zellbanken	52	NAMEN, DATEN, EREIGNISSE	
▪ Entwicklung und Einführung eines pflanzenproduzierten Impfstoffs gegen Gelbfieber	54	▪ Highlights am Fraunhofer Chile Reseach (CSB)	100
▪ Insektenantennen als <i>in situ</i> -Biosensoren	56	▪ Fraunhofer US-Center für Molekulare Biotechnologie erweitert seine F+E-Programme	102
▪ Gemeinsame & individuelle Immunabwehr – Ihr Zusammenhang in <i>Tribolium castaneum</i>	58	▪ Symposium „Modern Applications of Biotechnology“	106
▪ Ein <i>Drosophila</i> -Modell für Alterung	60	▪ Workshop „Environmental monitoring of biocides in Europe – from prioritization to measurements“	108
▪ Analyse von Insektentranskriptomen	62	▪ Modul „Grundlagen der Ökotoxologie“ im Rahmen der Fachtoxikologieausbildung der DGPT	108
▪ Biokraftstoffe: Produktion von Hexanol mit Clostridien	64		
▪ Anwendung von Targeted Proteomics im Metabolic Engineering von Clostridien	66	NETZWERKE UND KOOPERATIONEN 110	
▪ Das Malaria-Projekt der Fraunhofer-Zukunftsstiftung	68	VERÖFFENTLICHUNGEN UND PRÄSENTATIONEN 126	
▪ Charakterisierung & Validierung prädiktiver human-experimenteller Schmerzmodelle	70	Impressum	154
▪ Das FRC-Center für Systembiotechnologie (CSB)	72		

CONTENTS

▪ Preface	3	▪ FCR Center for Systems Biotechnology business areas progress report	73	
FRAUNHOFER IME PROFILE		Applied Ecology		
▪ Business areas	7	▪ Transformation/dissolution testing of silver nanoparticles	75	
▪ Organization	16	▪ Effect of silver nanoparticles in the context of sewage sludge used in agriculture	77	
▪ Advisory Board	19	▪ Feasibility of biotic ligand models for routine monitoring	79	
RESEARCH, DEVELOPMENT AND SERVICES		21	▪ Estimating reasonable application dates related to BBCH crop development stages	81
INSTITUTE DATA		37	▪ Bioconcentration studies with the freshwater amphipod <i>Hyalella azteca</i>	83
RESEARCH ACTIVITIES AND APPLICATIONS		38	▪ Fish life cycle tests: Static vs. flow-through exposure	85
Molecular Biology			▪ Vulnerable fish species for risk assessment of pesticides in Europe	87
▪ A technology platform for human monoclonal antibodies against malaria antigens	41	▪ Ecotoxicological testing of armor stones in mesocosms	89	
▪ Reducing the cold sweetening of potatoes during cold storage	43	▪ The effect of wild yeast in traditional wines	91	
▪ BY2 cell-free lysate: an alternative eucaryotic <i>in vitro</i> translation system	45	▪ Livestock metabolism studies at Fraunhofer IME	93	
▪ Automated animal cell culture	47	▪ Column generated concentrations of highly-lipophilic test substances	95	
▪ Improvement of resource-use efficiency and productivity in crop plants	49	FEATURE ARTICLE		
▪ Optimizing transient protein expression in tobacco using predictive models	51	97		
▪ Microbial master-cell banks for biopharmaceutical production	53	▪ Project group Translational Medicine and Pharmacology		
▪ Development and implementation of a plant-produced vaccine against yellow fever	55	NAMES, DATES, EVENTS		
▪ Insect antennae as <i>in situ</i> biosensors	57	▪ Highlighted events at Fraunhofer Chile Research (CSB)	101	
▪ Communal and individual immunity – their relationship in <i>Tribolium castaneum</i>	59	▪ Fraunhofer USA Center for Molecular Biotechnology expands its research and development	103	
▪ A <i>Drosophila</i> model for aging	61	▪ Symposium: “Modern Applications of Biotechnology”	107	
▪ Analysis of insect transcriptomes	63	▪ Workshop “Environmental monitoring of biocides in Europe – from prioritization to measurements”	109	
▪ Biofuels: Hexanol production with Clostridia	65	▪ Fraunhofer IME provides a specialist training module in the “Basics of ecotoxicology”	109	
▪ Application of Targeted Proteomics for Metabolic Engineering of Clostridia	67	NETWORKS AND COOPERATIONS		
▪ The Fraunhofer Future Foundation Malaria Project	69	110		
▪ Characterization & validation of predictive human experimental pain models	71	PUBLICATIONS AND PRESENTATIONS		
		126		
		Editorial notes		154

DAS INSTITUT IM PROFIL

FRAUNHOFER IME PROFILE

AUFGABEN UND GESCHÄFTSFELDER

Das IME umfasst die beiden Bereiche Molekularbiologie und Angewandte Oekologie. Die interdisziplinäre Organisation des Instituts ermöglicht eine bereichs- und schwerpunktübergreifende Bearbeitung komplexer Projekte, bei Bedarf auch in Kooperation mit externen Instituten und Partnern.

MOLEKULARBIOLOGIE

Mit den Arbeitsgebieten der „Molekularen Biotechnologie“ bietet das IME der Pharma-, Agro- und Ernährungsindustrie sowie der Chemie eine auf die Auftragsforschung hin angelegte Einheit an, die Forschungs- und Entwicklungsaufgaben sowie Servicearbeiten übernimmt. Dadurch sollen die Markteinführung neuer Produkte und Verfahren beschleunigt sowie neue Querschnittstechnologien entwickelt und durch eigene Schlüsselpatente abgesichert werden. Unsere Aktivitäten liegen insbesondere in den Bereichen:

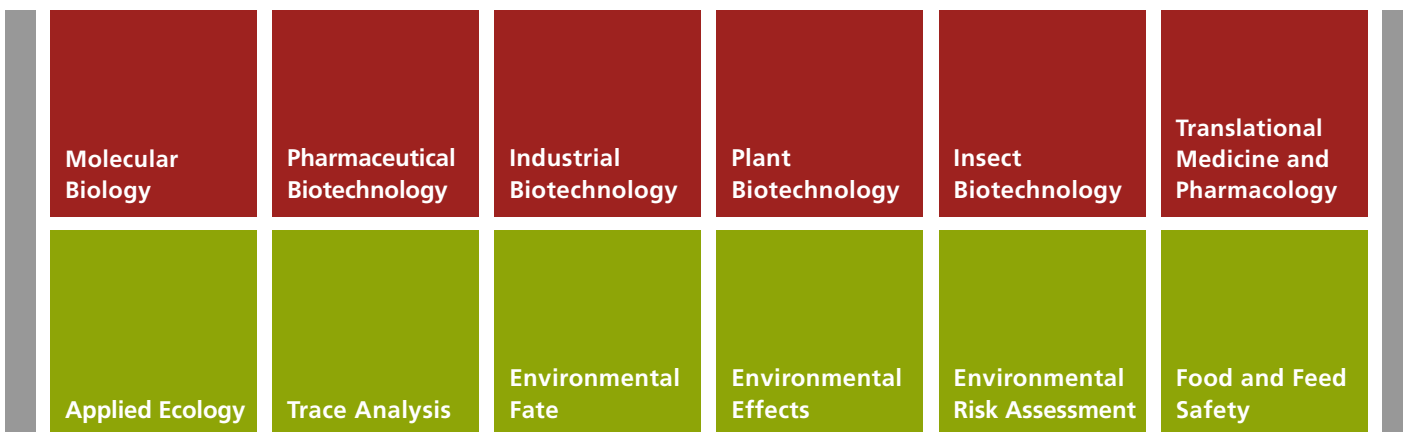
Funktionelle und Angewandte Genomik

Die heterologe Expression rekombinanter Proteine in mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Zellkulturen gehört zu den grundlegenden Techniken der „Molekularen Biotechnologie“. Entscheidend für die effiziente Durchführung ist die Bereitstellung neuer Methoden zur Transformation und Expression sowie leistungsfähiger Zellkulturen. In dem Geschäftsfeld wurde ein neuartiges Verfahren zur Auffindung verbesserter Kontrollelemente (Promotoren, Terminatoren) aus mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Organismen entwickelt, welches in kurzer Zeit die Bereitstellung konstitutiver und induzierbarer Promotoren ermöglicht. Neben der Bereitstellung neuer Zellkulturen und Produktionslinien beschäftigt sich das Geschäftsfeld des Weiteren mit der Entwicklung eines alternativen Systems zur stabilen Transformation einzelner Pflanzenzellen. Ein zusätzlicher Schwerpunkt dieses Geschäftsfeldes liegt in der Identifikation und Charakterisierung von Biomaterialien und Biopolymeren sowie neuer Substanzen und Targets für

die pharmazeutische Produktentwicklung und den modernen Pflanzenschutz. Hierzu werden mittels der Hochdurchsatzanalytik (2D-Analytik, Chiptechnologien und kombinatorische Bibliotheken) aus verschiedenen Organismen neue Zielsubstanzen identifiziert und in Zusammenarbeit mit den anderen Geschäftsfeldern auf potenzielle Wirksamkeiten sowie deren Applikation getestet. Jüngst konnte eine alternative Methode zur Erzeugung veränderter Pflanzen ohne Gentechnik etabliert werden (TILLING). Unter Verwendung dieser Methode konnten amylosefreie Kartoffelpflanzen erzeugt werden.

Pharmazeutische Produktentwicklung

Seit der Erstbeschreibung der Antikörpertechnologie sind über 35 Jahre vergangen. Heute nehmen Antikörper eine Schlüsselstellung in der stetig wachsenden biotechnologisch ausgerichteten Industrie ein. Etwa 30 Antikörper wurden inzwischen weltweit zugelassen; einige haben einen Blockbuster-Status erreicht, mit Erträgen, die die Milliardengrenze überschritten haben. Basierend auf soliden Erfahrungen zur Expression schwieriger Fusionsproteine in Bakterien und Säugerzellen sind die Hauptschwerpunkte des Geschäftsfelds neben der Generierung neuer Antikörper sowohl die Entwicklung neuer Antikörper-basierter Pharmazeutika für den klinischen Einsatz bei Mensch und Tier als auch die Optimierung wirtschaftlich etablierter bzw. pharmazeutisch relevanter Diagnostika und Therapeutika. Antigenspezifische und potenziell neue Wirksubstanzen werden aus immunisierten Tieren vor allem über Hybridomtechnologie isoliert. Zur Produktoptimierung werden rekombinante Methoden eingesetzt, die ein rationales Protein-design über molekulare Evolution ermöglichen. Die biologische Effizienz der Moleküle wird in *in vitro*- und *in vivo*-Testsystemen inkl. molekularer Bildgebung dokumentiert. Nach Abschluss dieser Versuche werden die rekombinanten Proteine z. B. für den Einsatz in Proteinchips optimiert, in diagnostische Kits zur Detektion humaner bzw. tierischer Krankheitsmarker integriert oder als diagnostisch oder therapeutisch applizierbare Produkte, insbesondere für klinische Studien, weiterentwickelt.



OPERATIONAL AND SCIENTIFIC APPROACH, BUSINESS AREAS

The activities of the Fraunhofer IME cover two main areas: Molecular Biology and Applied Ecology. This interdisciplinary organization allows us to integrate our expertise in relevant scientific disciplines covering both areas, in co-operation with external institutions and partners, providing a basis for the successful completion of complex projects.

MOLECULAR BIOLOGY

The Fraunhofer IME Molecular Biology Division offers contract research and technical services to the pharmaceutical, biotechnology, agricultural, chemical and food/feed industries. We aim to support the development of novel products and processes, ultimately bringing them to market. We emphasize the development of novel enabling technologies and the corresponding intellectual property. Our activities are divided into the following business areas:

Functional and Applied Genomics

The expression of recombinant proteins in microbial, animal and plant cell cultures represents one of the core competencies of the Molecular Biology Division. One key focus of the Functional and Applied Genomics business area is the development of novel methods for cell transformation, protein expression and increased cell culture productivity. We have developed a novel technique for the discovery of improved control elements (promoters, terminators) from microbes, animals and plants. We are also developing methods to accelerate the discovery of constitutive and inducible promoters. As well as making new cell cultures and production lines available, this business area has also developed an alternative system for the stable transformation of single plant cells.

This business area also focuses on the identification and characterization of novel biomaterials and biopolymers, as well as new targets for the development of pharmaceuticals and

plant protection products. New targets and leads are identified by high-throughput analysis (2D-gels, chip technologies and combinatorial libraries) are then tested, in collaboration with other business areas, for their efficacy and safety. Recently, we have developed an efficient method for the production of novel traits in plants without genetic engineering based on TILLING technology. As a result we have developed an amylase-free potato variety.

Pharmaceutical Product Development

Over 35 years have passed since the creation of the first monoclonal antibodies (mAbs). Today, more than 30 approved mAbs are available, representing the front line of the burgeoning biopharmaceuticals industry. Some mAbs have achieved blockbuster status with sales exceeding \$US 1 billion per year. The Pharmaceutical Product Development business area provides expertise in the development and production of difficult recombinant fusion proteins using bacteria and mammalian cells. We focus on the development of new antibody-based diagnostic and therapeutic reagents for humans and animals and the optimization of commercially-established and pharmaceutically-relevant diagnostic and therapeutic products. New antigen-specific reagents can be isolated from immunized animals using hybridoma technology, but combinatorial approaches involving molecular evolution can then be used to optimize these reagents either randomly or by rational protein design.

The biological efficacy of these reagents can be established using different *in vitro* and *in vivo* test systems, including molecular imaging. The recombinant proteins can also be optimized for use in protein chips, or integrated into diagnostic kits for the detection of human and animal disease markers. They may also be developed as diagnostic or therapeutic products (especially for clinical studies).



Pflanzenbiotechnologie

Mit Hilfe der Biotechnologie können Pflanzen so modifiziert werden, dass sie verbesserte agronomische Eigenschaften aufweisen, wie z. B. Resistenz gegen Pflanzenpathogene oder Toleranz gegen abiotische Stressfaktoren. Biosynthesewege können auf gentechnischem Wege moduliert werden, um definierte Sekundärmetabolite anzureichern oder deren Konzentration zu reduzieren. Dies dient zur Produktion pflanzlicher Metabolite oder zur Steigerung des Nährwerts von Pflanzen. Zudem können die Pflanzen oder pflanzliche Zellkulturen auch als Biofabrik genutzt werden, um technische Enzyme oder pharmazeutisch wichtige Proteine in großen Mengen zu produzieren. Diese als Molekulares Farming bezeichnete Technik hat sich als alternatives Protein-Produktionssystem bewährt, was durch eine Vielzahl in Pflanzen produzierter Wirkstoffe wie Antikörper, Blutersatzstoffe, Impfstoffe und Enzyme belegt wird. Weitere Schwerpunkte sind die Erhöhung der Produktion und Stabilität rekombinanter Proteine in pflanzlichen Zellen durch neue molekularbiologische Ansätze, die Verbesserung der Kultivierungsbedingungen und das High-Content Screening nach hochproduzierenden Linien. Eine wichtige Rolle spielt dabei auch die Aufklärung molekularer und zellulärer Mechanismen, die an der Proteinproduktion beteiligt sind, durch Transkriptom-, Proteom- und Metabolomanalysen. Ein weiteres Betätigungsfeld des Geschäftsfeldes ist die Etablierung neuer Ansätze zur Steigerung und Nutzung von pflanzlicher Biomasse und die Bereitstellung von pflanzlichen Stammzellen für die kosmetische Industrie.

Industrielle Biotechnologie

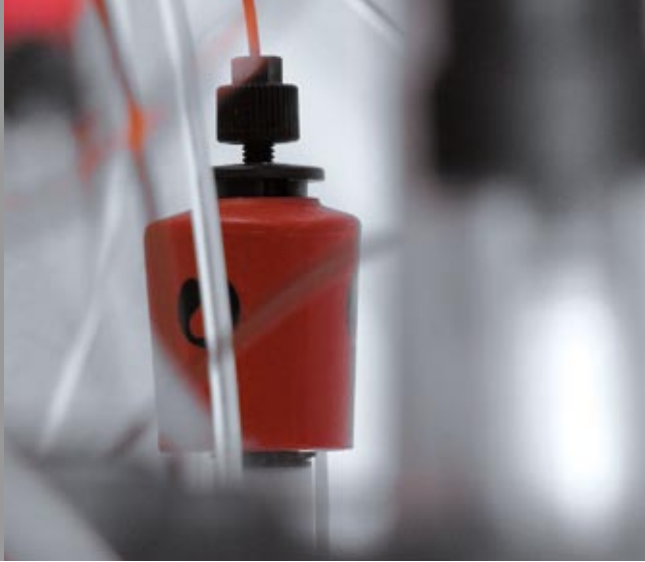
Eine Vielzahl von Mikroorganismen und Pflanzen besitzt die Fähigkeit zur Synthese von komplexen, chemisch äußerst anspruchsvollen Naturstoffen. Die Natur entwickelte hierfür in den produzierenden Organismen oft aufwändige Biosynthesewege, oftmals mit chemischen Reaktionen, die selbst im Vergleich zu modernen chemischen Synthesemethoden beispieldlos sind. Naturstoffe finden in vielen Bereichen eine

breite Anwendung, z. B. als Geruchs- und Geschmacksstoffe oder als Pharmazeutika. Zumeist ist die Verfügbarkeit dieser Naturstoffe in der Natur sehr begrenzt und eine chemische Synthese aufgrund anspruchsvoller chemischer Strukturen schwierig und damit unökonomisch. Das Metabolic Engineering und die Biokatalyse (unter Verwendung isolierter Enzyme) bieten eine attraktive Lösung zur Behebung dieser Problematik. Das Geschäftsfeld Industrielle Biotechnologie beschäftigt sich mit der biotechnologischen Herstellung von Naturstoffen und von anderen chemischen Molekülen mittels Metabolic Engineering von ganzen Mikroorganismen oder unter Verwendung von isolierten Enzymen.

Integrierte Produktionsplattformen

Die Herstellung rekombinanter Proteine für industrielle, diagnostische oder therapeutische Anwendungen kann mittels einer breiten Palette von Produktionsplattformen erfolgen, die aus biologischer, prozesstechnischer sowie markttechnischer und regulatorischer Sicht völlig unterschiedliche Eigenschaften aufweisen. Daher ist schon während der „Proof-of-concept“-Phase eine Evaluierung notwendig, die langfristige Erfordernisse überprüft, eine nachhaltige Entwicklung vorzeichnet und Fehlentwicklungen vermeidet.

Aufgrund unserer langjährigen Erfahrung mit den relevanten Expressionssystemen im Pilotmaßstab und einer Vielzahl unterschiedlichster Proteine steht das Geschäftsfeld Integrierte Produktionsplattformen (IPP) Industriekunden und Kooperationspartnern in diesem Aufgabenfeld planerisch und praktisch zur Seite. Wir betreiben die GMP-Anlage des IME, für die seit 2009 eine Herstellungserlaubnis gem. § 13 AMG für biopharmazeutische Wirkstoffe für klinische Prüfungen (Phase I) vorliegt. Nach erfolgreich verlaufener Reinspektion im April 2012 wurde diese Herstellungserlaubnis auf Wirkstoffe für klinische Prüfungen der Phase II sowie auf Prüftätigkeiten (chemisch/physikalisch, biologisch sowie mikrobiologisch für nicht-sterile Produkte) erweitert.



Plant Biotechnology

Biotechnology approaches can be used to modify plants and improve their agronomic performance, e.g. by conferring pathogen resistance or stress tolerance. The same techniques can be used to modulate metabolic pathways so that defined secondary metabolites are either enriched or depleted in plant tissues. This allows the production of specific plant metabolites in large quantities, and can improve the nutritional value of foods. Plants and plant cell cultures can also be used as bio-factories to produce pharmaceutical and industrial proteins in large amounts. This technique is known as molecular farming, and could be developed as an alternative production system for antibodies, blood substitutes, vaccines and enzymes. We also focus on the establishment of new strategies to increase the production and stability of recombinant proteins in plant cells through novel molecular biology approaches, improved cultivation conditions and high-content screening of plant lines. In this context, we aim to determine the molecular and cellular mechanisms affecting protein production using transcriptomics, proteomics and metabolomics. Finally, the department focuses on the establishment of novel techniques to enhance plant growth allowing the exploitation of plant biomass and the development of plant stem cell lines for the cosmetics industry.

Industrial Biotechnology

Many microbes and plants can synthesize complex natural products that are difficult to produce chemically. In this respect, nature has provided elaborate biochemical factories often involving reactions that cannot be replaced by modern chemical synthesis methods. Humans use these complex molecules in many ways, e.g. as spices, flavors, fragrances and pharmaceuticals. However, such molecules are produced naturally in tiny amounts, often among many similar molecules, making them expensive and difficult to isolate.

These challenges can be addressed by metabolic engineering (using recombinant cells) and bio-organic synthesis (using

isolated enzymes). The Industrial Biotechnology group focuses on the production of natural products and other valuable molecules using metabolically-engineered microbes and isolated enzymes, helping to reduce the cost and increase the availability of useful and valuable compounds.

Integrated Production Platforms

The production of recombinant proteins for industrial, diagnostic or therapeutic applications can be accomplished using a wide range of expression platforms. Each platform has fundamentally different biological properties and differs in its suitability for certain proteins, processes, markets and regulatory requirements. These expression systems must therefore be evaluated during early product development or at the proof-of-concept stage, in order to avoid delays and attrition later on. We have used different expression platforms at the pilot and feasibility assessment scales to produce a wide range of proteins, and therefore provide expertise and extensive hands-on experience. We can provide industrial and academic partners with expert assistance from the early stages of product development through to the final stages of process engineering. The Integrated Production Platforms (IPP) business area operates a multi-purpose GMP facility featuring two independent production suites, each with a working volume of up to 350 L. In 2009, a manufacturing license was granted by the competent authorities in Germany for the production of active pharmaceutical ingredients for phase I clinical trials. After a successful re-inspection of the facility in April 2012, the manufacturing authorization was extended to include active pharmaceutical ingredients for phase II clinical trials and contract quality control services (chemical/physical, biological and microbiological control for non-sterile products).



Insektenbiotechnologie

Die Fraunhofer-Projektgruppe Bio-Ressourcen ist am Technologie- und Innovationszentrum Gießen (TIG) untergebracht und erweitert das Portfolio des IME, indem sie sich als erste operative Einheit in Deutschland der Insektenbiotechnologie widmet. Diese junge und weltweit prosperierende Disziplin mit hohem Wertschöpfungspotenzial fokussiert auf die Erschließung von Insekten als biologische Ressource für neue Leitstrukturen und auf die Entwicklung von innovativen Strategien für ihre Anwendung in der Medizin, im Pflanzenschutz oder in der industriellen Biotechnologie. Insekten repräsentieren mit über einer Million bekannter Arten im Hinblick auf die Biodiversität die erfolgreichste Organismengruppe, welche die Evolution hervorgebracht hat. Um ihre ebenso beeindruckende biologische Vielfalt auf molekularer Ebene für die Rote, die Grüne und die Weiße Biotechnologie nutzbar machen zu können, werden neue Leitstrukturen wie antimikrobiell wirksame Peptide oder Enzyme mit proteomischen, transkriptomischen und bioinformatischen Methoden in Insekten identifiziert und anschließend in rekombinanter oder synthetischer Form dargestellt. Weiterhin widmet sich die Fraunhofer-Projektgruppe der Entwicklung von geeigneten Insektenarten (z. B. der Rotbraune Reismehlkäfer *Tribolium castaneum*) als Modell- bzw. Indikatororganismen für die Evaluierung des Risikopotenzials von Chemikalien (REACH), für ökotoxikologische Studien oder die Überwachung von Lebens- und Futtermitteln.

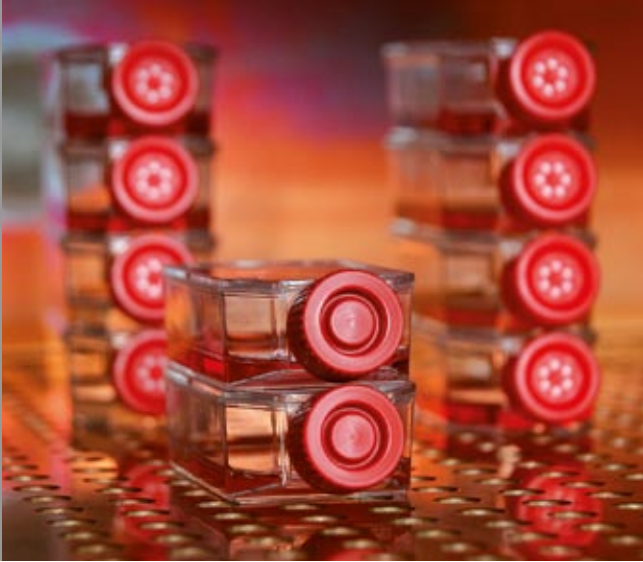
Translationale Medizin und Pharmakologie

Die Projektgruppe Translationale Medizin und Pharmakologie arbeitet auf den Gebieten Wirkstoffforschung, präklinische und klinische Modellentwicklung und klinische Forschung. Das übergeordnete Ziel ist die Entwicklung prädiktiver pharmakologischer Modelle, um frühestmögliche Aussagen über die Wirksamkeit und Sicherheit von Arzneistoffen treffen zu können, um Fehlentwicklungen und Nebenwirkungen schon vor Beginn kostenintensiver klinischer Phasen zu erkennen

und hohe Ausfallraten zu vermeiden. Auf der Basis pathophysiologisch relevanter Signalnetzwerke wird nach innovativen neuen Therapieansätzen geforscht (Systemmedizin). Die Indikationsschwerpunkte der Projektgruppe orientieren sich an der historisch gewachsenen Expertise der Goethe-Universität auf den Therapiefeldern Entzündung, Schmerz, Autoimmunkrankheiten und neurodegenerative Krankheiten. Mit der Projektgruppe Translationale Medizin und Pharmakologie verfügt das IME über ein komplettes Technologieportfolio für Arzneimittelentwicklungen entlang der Wertschöpfungskette.

Auftragsarbeiten

Die Forschungs- und Entwicklungsaktivitäten innerhalb der Geschäftsfelder des IME erfordern bestimmte Plattformtechnologien, die aufgrund der apparativen Ausstattung und der notwendigen Betreuung durch erfahrenes Personal als Servicebereiche von einzelnen Geschäftsfeldern entkoppelt organisiert werden. Diese Servicebereiche stehen sowohl den Arbeitsgruppen des IME als auch externen Auftraggebern zur Verfügung. Zu den Servicebereichen gehören Sequenzierung, Chiptechnologien, Proteomics, Metabolomics, Produktion rekombinanter Proteine, Reinigung und Strukturaufklärung von Proteinen, Antikörperherstellung, Proteinanalytik und Hochdurchsatz-Imagingverfahren.



Bioresources and Insect Biotechnology

The Fraunhofer Bioresources and Insect Biotechnology project group is located at the Technology and Innovation Center in Giessen (TIG). This is the first group in Germany dedicated to insect biotechnology, therefore enlarging the IME portfolio of cutting-edge technologies. As an emerging and globally prospering research field with enormous value-creation potential, insect biotechnology uses insects as a source of new lead structures that can be used to develop innovative applications in medicine, agriculture and industrial biotechnology. There are more than 1 million known insect species, making them the most diverse and evolutionarily successful group of organisms in the world. State-of-the-art analytical tools covering genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics and bioinformatics are used to identify new antimicrobial peptides, low-molecular-weight compounds and enzymes, thus making the impressive molecular diversity of insects accessible to the red, green and white biotechnology fields. Furthermore, the group also focuses on development of new model or indicator organisms, such as the red flour beetle *Tribolium castaneum* which can be used for the assessment of chemicals in line with the European Community REACH variations, ecotoxicological studies or the analysis of food and animal feed.

Translational Medicine and Pharmacology

The Translational Medicine and Pharmacology group focuses on drug research, the development of predictive preclinical and clinical models of disease, and clinical research. The synergy generated by housing predictive preclinical and clinical models under one roof makes it easier to take early go/no-go project decisions. We have developed validated disease models covering the fields of cardiovascular, neurodegenerative and chronic inflammatory gastrointestinal diseases, acute inflammation and pain (including neuropathic, oncological and post-operative pain), arthritic diseases and skin disorders. Our expertise in the field of pathophysiological signaling pathways,

allows us to carry out research on novel and innovative therapeutic approaches based on systems medicine. Drawing on cutting-edge research activities and intellectual property within Goethe University Frankfurt, we apply the latest technology and research concepts to our collaborative projects, with pre-competitive research focusing on the treatment of chronic inflammatory joint disease, pain, autoimmune-mediated and neurodegenerative disorders. The project group has developed a portfolio of technologies for drug research and development across the value chain.

Contract Services

The R&D activities in the various IME business areas involve certain platform technologies that need sophisticated apparatus and infrastructure as well as highly-trained staff. These platform technologies are organized as separate service units within the IME, including sequencing, chip technologies, proteomics, metabolomics, recombinant protein production, protein purification, protein structural and functional analysis, antibody manufacturing and high-throughput imaging technologies. These are available to groups within the IME as well as to external clients.



ANGEWANDTE OEKOLOGIE

Der Bereich Angewandte Oekologie des Fraunhofer IME sieht seine Aufgaben darin, Risiken von synthetischen oder biogenen Substanzen für Ökosysteme und Verbraucher zu identifizieren und zu bewerten sowie Möglichkeiten zur Risikominimierung anzustoßen. Die Aktivitäten sind in folgenden Geschäftsfeldern gebündelt:

Chemikalien- und Produktsicherheit

Zuverlässige Aussagen zur Umweltverträglichkeit von chemischen und biologischen Agenzien, von Nanomaterialien, Produkten und technischen Verfahren werden durch Abschätzungen von Exposition und Gefährlichkeit erhalten. Das Spektrum der Untersuchungen reicht von Standardtests zur Registrierung und Kennzeichnung bis hin zu komplexen Studien zur Analyse differenzierter Fragestellungen. Das Geschäftsfeld umfasst neben experimentellen Untersuchungen und Computersimulationen auch die Verbesserung von Strategien zur Risikoabschätzung und die Erstellung von Gutachten zur ökologischen Stoff- und Produktbewertung. Den rechtlichen Rahmen bilden die in der EU gültigen Regelungen zur Gefährdungsabschätzung und Risikobewertung von industriellen Chemikalien (REACH), Bioziden und Human- und Tierarzneimitteln sowie entsprechende Regelungen in den USA und Japan.

Verbleib und Wirkung von Agrochemikalien

Durch Anwendung standardisierter Testverfahren zur Ermittlung intrinsischer Stoffeigenschaften, insbesondere aber durch die Entwicklung und Anwendung problemspezifischer Studien zur ausführlichen Umweltrisikobewertung (Higher Tier Risk Assessment HTRA) werden in diesem Geschäftsfeld Pflanzenschutzmittel gemäß nationaler und internationaler Pflanzenschutzgesetzgebung (insbesondere EC 1107/2009) geprüft und bewertet. Die experimentelle Arbeit wird durch Expositions- und Wirkungsmodellierung, Gutachten und Beratung ergänzt. Wir wollen Umweltrisiken besser quantifizieren und Unsicherheiten bei der Bewertung verringern. Dabei verstehen wir uns als wissenschaftliche Vermittlungsinstanz zwischen Industrie und Behörden.

Aufnahme und Metabolismus von Agrochemikalien

In diesem Geschäftsfeld untersuchen wir die Aufnahme und den Metabolismus von Agrochemikalien in Nutzpflanzen und Nutztieren (in Fischen, Geflügel und Wiederkäuern) gemäß nationaler und internationaler Pflanzenschutzgesetzgebung (insbesondere EC 1107/2009) als Grundlage für die Bewertung des Risikos für Verbraucher. Hochauflösende Massenspektroskopie in Kombination mit modernster NMR-Analytik und ¹⁴C-Markierung ermöglicht die Erfassung und Identifizierung auch unbekannter Metabolite nach GLP.



APPLIED ECOLOGY

The Fraunhofer IME Applied Ecology Division aims to assess the risk of synthetic chemicals and natural substances towards ecosystems, as well as human exposure via contaminated food, feed and consumer products. Our activities are divided into the following business areas:

Chemical and Product Safety

Reliable statements about the environmental compatibility of chemical and biological agents, nanomaterials, products and technical procedures are established by assessing exposure levels and potential hazards. Our investigations encompass standard tests for the notification and labeling of industrial chemicals and products as well as complex studies addressing highly differentiated, detailed problems. In addition to experimental investigations and computer simulations, the activities of this business area focus on the improvement of strategies for risk assessment and the preparation of expert reports for ecological substance and product assessments. We operate under a legislative framework governed by the EU-wide regulations on hazard and risk assessment for industrial chemicals (REACH), biocides, and human and veterinary medicinal products as well as corresponding regulations in the USA and Japan.

Fate and Effect of Agrochemicals

In this business area, we assess and investigate the environmental risk of plant protection products according to national and international legislation covering their registration, e.g. EC 1107/2009. Further to the determination of intrinsic substance properties, special emphasis is placed on the development and application of targeted studies addressing specific concerns, including both standardized and higher tier studies for risk assessment. Our experimental work is supported and finalized by exposure and effect modeling, expert reports and consultations. We help our clients to quantify risks by addressing their concerns in specific studies designed to minimize uncertainties in risk assessment. Our role is therefore to act as a scientific mediator between industry and the regulatory bodies.

Uptake and Metabolism of Agrochemicals

In this business area, we investigate the uptake and metabolism of agrochemicals in crops and farm animals (cultured fish and agricultural livestock) according to national and international legislation, e.g. EC 1107/2009, for the assessment of consumer risks. High-resolution mass spectroscopy combined with cutting-edge NMR analytics and radiolabelling (^{14}C) allows us to determine and identify unknown metabolites according to good laboratory practice (GLP).



Lebens- und Futtermittelsicherheit

Der Verbraucher möchte sichere und unbedenkliche Lebensmittel. Das Vertrauen, dass die Lebensmittelhersteller und die Lebensmittelüberwachung diese geforderte Sicherheit von Lebensmitteln gewährleisten, wurde jedoch durch die zahlreichen Lebensmittelskandale der letzten Jahre grundlegend erschüttert.

Das Geschäftsfeld umfasst die Untersuchung und Bewertung von Lebens- und Futtermitteln sowie Bedarfsgegenständen im Kontext national und international vorgegebener gesetzlicher Normen. Einen Schwerpunkt stellt die Entwicklung innovativer Detektionsverfahren dar, die zur Analytik von Kontaminanten und Aromastoffen eingesetzt werden. Die Entwicklung verbesserter oder neuer Nachweismethoden soll helfen, eine hohe Qualität und Sicherheit für den Verbraucher zu gewährleisten. Beispiele sind etwa der am Fraunhofer IME erarbeitete Ansatz zur Tierartendifferenzierung in Nahrungsmitteln und Bedarfsgegenständen oder die Entwicklung schneller Gassensoren zur Sicherung der Produktionsqualität von Lebensmitteln.

Durch diese Expertise kann das IME mit seinen Partnern in der Fraunhofer-Allianz Food Chain Management FCM (siehe S. 116) umfassende Lösungen für alle Beteiligten der Lebensmittelkette anbieten.

Umweltmonitoring

Grundlage vieler umweltpolitischer Entscheidungen ist die Kenntnis des Vorkommens und der Verteilung von Stoffen in der Umwelt. Das Fraunhofer IME verfügt über jahrzehntelange Erfahrungen in der Erfassung von Zielsubstanzen in allen Umweltmatrizes. Moderne Geräte und Verfahren der Spurenanalytik erlauben uns die Bestimmung von Elementen und organischen Verbindungen im Spurenbereich. Wir sind für die Prüfmethode Atomspektrometrie (inkl. Element-Massenspektrometrie), Hochleistungsflüssigkeits- und Gaschromatographie (inkl. Kopplungen mit Massenspektrometern) sowie Probenvorbereitung akkreditiert. Mit dem Betrieb der Umweltprobenbank des Bundes im Auftrag des Umweltbundesamtes

ist das Institut zudem an einem zentralen Element der ökologischen Umweltbeobachtung in Deutschland beteiligt. Daneben werden auch Monitoring-Programme für Partner aus der Industrie erarbeitet und umgesetzt, beispielsweise zur Überprüfung des Erfolgs von freiwilligen Maßnahmen im Rahmen der Chemikaliennutzung.

Boden- und Gewässerschutz

Der Fokus dieses Geschäftsfeldes liegt auf der Bewertung der Qualität der Umweltmedien Boden und Wasser. Den gesetzlichen Rahmen bildet zum einen das Bundes-Bodenschutzgesetz, zum anderen die Europäische Gewässerrahmenrichtlinie. Wir entwickeln und nutzen Strategien zur Erfassung der aktuellen oder möglichen Gefährdung natürlicher Bodenfunktionen durch anthropogene Einträge. Dabei wird auch der Aspekt der (Bio-)Verfügbarkeit adressiert, etwa durch die analytische Erfassung bioverfügbarer Stofffraktionen. Zur Bewertung von Wasser und Sedimentqualität werden unter anderem Biomarker und Bioassays eingesetzt. Zur Untersuchung der Gewässerqualität werden Methoden des ökologischen Monitorings weiterentwickelt. In unmittelbarem Zusammenhang mit der Umsetzung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie stehen Arbeiten zur Festsetzung von Qualitätsstandards in Wasser, Sediment und Biota.



Food and Feed Safety

Consumers have the right to enjoy safe and healthy food. However, consumer confidence in the ability of manufacturers and supervisory authorities to maintain the required safety standards has been severely compromised in the past by a number of scandals.

This business area focuses on the examination and assessment of food, feed and commodities in the context of national and international legal standards as well as related expert opinions. One of our main activities is the development of innovative detection procedures for food and feed analysis. The objective is to improve or complement existing detection methods, thus ensuring high quality standards and safety levels for the consumer. Examples include a system we developed to distinguish animal species in food and rapid gas sensors to ensure food production quality. This expertise is an important contribution to food chain management. The IME, together with its partners in the Fraunhofer Food Chain Management Alliance FCM (see page 117), is able to provide comprehensive solutions in this area for all stakeholders in the food chain.

Environmental Monitoring

Many environmental policy decisions are based on knowledge concerning the occurrence and distribution of chemical substances in the environment. We have extensive experience in the detection of target compounds in all environmental matrices. Modern devices and procedures for trace analysis enable us to identify elements and organic compounds at the lowest detection levels. For quality assurance, we hold accreditations for sample preparation, atomic spectrometry (including elemental mass spectrometry), and high performance liquid and gas chromatography (including coupling to mass spectrometry). The Fraunhofer IME also maintains the German Federal Environmental Specimen Bank on behalf of the Federal Environment Agency, and in this context we participate in a central component of the ecological environmental observation program in Germany. We also develop and implement monitoring

programs for industry partners, e.g. to check the success of voluntary measures in the framework of chemicals applications.

Soil and Water Protection

This business area focuses on quality assessments for soil and water, as determined by the German Federal Soil Protection Act and the EU Water Framework Directive. We develop and apply strategies to determine existing or potential hazards for natural soil functions caused by the impact of anthropogenic activities. We consider availability/bioavailability in this context, e.g. by the analytical determination of bioavailable fractions. Water and sediment quality is investigated using biomarkers, bioassays and by ecological monitoring. Furthermore, we carry out studies that investigate priority setting with respect to (legal) measures related to the implementation of the Water Framework Directive, e.g. the derivation of Environmental Quality Standards for water, sediment and biota.

ORGANISATION



**Institutsleitung /
Senior Executive Director**
Prof. Dr. Rainer Fischer
Tel +49 241 6085-11020
rainer.fischer@ime.fraunhofer.de



Innere Dienste / Administration
Franz-Josef Albers
Tel +49 2972 302-207
franz-josef.albers@ime.fraunhofer.de

**Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology
Newark, Delaware, USA**



Dr. Vidadi M. Yusibov
Tel: +1 302 369 36 35
vyusibov@fraunhofer-cmb.org

**FCR - Center for Systems Biotechnology
Santiago de Chile, Chile**



Dr. Wolfgang Schuch
Tel: + 56 2378-1652
wolfgang.schuch@fraunhoferchile.cl

**Bereich Molekularbiologie /
Division Molecular Biology
Head: Prof. Dr. Stefan Schillberg**

Standort / Location: Aachen



**Pflanzenbiotechnologie /
Plant Biotechnology**
Prof. Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 241 6085-11050
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de



**Pharmazeutische Produktentwicklung /
Pharmaceutical Product Development**
Prof. Dr. Dr. Stefan Barth
Tel: +49 241 6085-11060
stefan.barth@ime.fraunhofer.de



**Industrielle Biotechnologie /
Industrial Biotechnology**
Dr. Stefan Jennewein
Tel: +49 241 6085-12120
stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de



**Integrierte Produktionsplattformen /
Integrated Production Platforms**
Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 241 6085-13070
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de



Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 241 6085-13060
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

ORGANIZATION

Standort / Location: Münster



**Funktionelle & Angewandte Genomik /
Functional and Applied Genomics**

Prof. Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 251 8322-302
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Standort / Location: Gießen



**Bio-Ressourcen /
Bioresources**

Prof. Dr. Andreas Vilcinskis
Tel: +49 641 9939-500
andreas.vilcinskis@ime.fraunhofer.de

Standort / Location: Frankfurt



**Translationale Medizin &
Pharmakologie /
Translational Medicine and
Pharmacology**

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger
Tel: + 49 69 6301-7619
gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

**Bereich Angewandte Oekologie /
Division Applied Ecology
Head: Prof. Dr. Christoph Schäfers**

Standort / Location: Schmallenberg



**Ökotoxikologie /
Ecotoxicology**

Prof. Dr. Christoph Schäfers
Tel: +49 2972 302-270
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de



**Oekologische Chemie /
Ecological Chemistry**

Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302-209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de



**Umwelt- und Lebensmittelanalytik /
Environmental and Food Analysis**

Dr. Mark Bücking
Tel: +49 2972 302-304
mark.buecking@ime.fraunhofer.de



**Umweltprobenbank & Elementanalytik /
Environmental Specimen Bank and
Elemental Analysis**

Dr. Heinz Rüdel
Tel: +49 2972 302-301
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de



**Qualitätssicherung /
Quality Assurance**

Dr. Gerd Wasmus
Tel: +49 2972 302-236
gerd.wasmus@ime.fraunhofer.de

KURATORIUM

Das Kuratorium berät die Organe der Fraunhofer-Gesellschaft sowie die Institutsleitung und soll die Verbindung zu den an Forschungsarbeiten des Instituts interessierten Kreisen fördern. Mitglieder des Kuratoriums im Berichtsjahr waren:

Prof. Dr. Dieter Berg (Vorsitzender)

ehemals Bayer CropScience AG, Monheim

Dr. Carl Bulich

Bundesverband Deutscher Pflanzenzüchter e. V., Bonn

Dr. Terry Clark

Syngenta, Jeallott's Hill Research Station, Bracknell, UK

Dr. Friedrich Dechet

Industrieverband Agrar (IVA), Frankfurt

Dr. Gerhard Görlitz

Bayer CropScience AG, Monheim

Prof. Dr. Roland Kubiak

RLP AgroScience GmbH, Neustadt a. d. Weinstraße (Gast)

Dr. Henk van Liempt

Bundesministerium für Bildung und Forschung, Berlin

Prof. Dr. Karl-Heinz Maurer

AB-Enzymes, Darmstadt

Dr. Hans-Gerd Nolting

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit,
Braunschweig

Dr. Dr. Christian Patermann

ehemals Direktor Generaldirektion Forschung der
Europäischen Kommission, Bonn

Dr. Thomas Reichelt

Bundesministerium der Verteidigung, Bonn

Prof. Dr. Joachim Schiemann

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für
Kulturpflanzenforschung, Braunschweig

Prof. Dr.-Ing. Ernst Schmachtenberg

Rektor, RWTH Aachen University

Dr. Harald Seulberger (stellvertretender Vorsitzender)

BASF AG, Limburgerhof

Dr. Klaus Günter Steinhäuser

Umweltbundesamt, Dessau

Dr. Hans-Ulrich Wiese

ehemals Fraunhofer-Vorstand (ständiger Gast im Kuratorium)

Die jährliche Kuratoriumssitzung wurde am 3. Mai 2012
im Fraunhofer IME-BR (Bio-Ressourcen) in Gießen abgehalten.

Der Vorstand der Fraunhofer-Gesellschaft war durch
Herrn Dr. Alexander Kurz vertreten.

ADVISORY BOARD

In 2012, the following representatives from government, industry and academia were members of the Advisory Board:

Prof. Dr. Dieter Berg (Chairman)

formerly Bayer CropScience AG, Monheim

Dr. Carl Bulich

German Plant Breeders' Association, Bonn

Dr. Terry Clark

Syngenta, Jeallott's Hill Research Station, Bracknell, UK

Dr. Friedrich Dechet

Industrial Association Agrar, Frankfurt

Dr. Gerhard Görlitz

Bayer CropScience AG, Monheim

Prof. Dr. Roland Kubiak

RLP AgroScience GmbH, Neustadt a. d. Weinstraße (guest)

Dr. Henk van Liempt

Federal Ministry of Education and Research, Berlin

Prof. Dr. Karl-Heinz Maurer

AB-Enzymes, Darmstadt

Dr. Hans-Gerd Nolting

Federal Office of Consumer Protection and Food Safety,
Braunschweig

Dr. Dr. Christian Patermann

formerly Director Directorate General for Research
and Innovation, Bonn

Dr. Thomas Reichelt

Federal Ministry of Defense, Bonn

Prof. Dr. Joachim Schiemann

Federal Research Centre for Cultivated Plants –
Julius Kühn-Institut, Braunschweig

Prof. Dr.-Ing. Ernst Schmachtenberg

Rector, RWTH Aachen University

Dr. Harald Seulberger (Vice Chairman)

BASF AG, Limburgerhof

Dr. Klaus Günter Steinhäuser

German Federal Environment Agency, Dessau

Dr. Hans-Ulrich Wiese

formerly member of the Executive Board of Fraunhofer
(permanent guest)

The annual meeting of the Advisory Board was held on May 3,
2012 at the Fraunhofer IME-BR (Bio-Resources) in Gießen.

The Executive Board of the Fraunhofer-Gesellschaft was represented by Dr. Alexander Kurz.

FORSCHUNGS- UND DIENSTLEISTUNGSANGEBOT

RESEARCH, DEVELOPMENT AND SERVICES

Funktionelle und Angewandte Genomik

- Pflanzen-basierte Polymere
- Identifikation neuer aktiver Wirksubstanzen aus Medizinalpflanzen
- Chip-basierte Nachweisverfahren zur Identifikation ökonomisch interessanter Strukturgene aus Eukaryonten und neuer Kontrollelemente (Promotoren)
- Etablierung neuer pflanzlicher Zellkulturen zur Produktion rekombinanter Pharmazeutika
- Verbesserung von Zellkulturen
- Neue Transformationstechnologien (Mikroinjektion)
- TILLING-basierte Mutagenese
- Nanobiotechnologie

Ansprechpartner

Prof. Dr. Dirk Prüfer

Tel: +49 251 8322 - 302

dirk.prufer@ime.fraunhofer.de

Pharmazeutische Produktentwicklung

- Entwicklung rekombinanter Proteine zur Diagnose und Therapie
 - neue Immunisierungsstrategien zur Entwicklung monoklonaler Antikörper
 - Selektion und Charakterisierung rekombinanter Antikörper
 - Ableitung mono- und höhervalenter Fusionsproteine (Prodrugen, Toxine, bispezifische Antikörper)
 - optimierte Expression funktioneller rekombinanter Pharmazeutika in heterologen Expressionssystemen (*E. coli*, Säugerzellen)
- Optimierung validierter Bindungsstrukturen
 - rekombinante Techniken und molekulare Evolution
 - Entwicklung neuer Plattformtechnologien
- Entwicklung neuer Strategien zur Diagnose und Behandlung von Tumorerkrankungen, Allergien und Autoimmunkrankheiten

- *in vitro*-Diagnose
- *in vivo*-Diagnose
- innovative Immundiagnostika und -therapeutika in präklinischen Tiermodellen
- Bioassayentwicklung, Optimierung und Qualitätskontrolle

Ansprechpartner

Prof. Dr. Dr. Stefan Barth

Tel: +49 241 6085 - 11060

stefan.barth@ime.fraunhofer.de

Pflanzenbiotechnologie

- Identifizierung, Klonierung und Verbesserung von Targetgenen
- Generierung und Charakterisierung von monoklonalen Antikörpern und rekombinanten Antikörperfragmenten
- Pflanzentransformation (Mono- und Dicots)
- Herstellung pathogen- und stressresistenter Pflanzen
- Entwicklung und Optimierung transgener Nutzpflanzen
- Molecular Farming: Produktion technischer Proteine und rekombinanter Pharmazeutika in Pflanzen und Pflanzensuspensionszellen
- Strategien zur Verbesserung der Expression und Stabilität rekombinanter Proteine
- Entwicklung neuer Reinigungsstrategien
- Charakterisierung rekombinanter Proteine
- Produktion rekombinanter Proteine in alternativen Expressionssystemen (Bakterien, Hefen, tierische Zellkulturen)
- Proteomics
- High-Content Screening-Verfahren für pflanzliche und tierische Zellen
- Etablierung von pflanzlichen Stammzellen

Ansprechpartner

Prof. Dr. Stefan Schillberg

Tel: +49 241 6085 - 11050

stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

MOLEKULARBIOLOGIE

MOLECULAR BIOLOGY

Functional and Applied Genomics

- Plant-based polymers
- Identification of novel active substances from medicinal plants
- Chip-based identification of valuable structural genes and control elements from eukaryotes
- Establishment of novel plant-based systems for the production of recombinant pharmaceuticals
- Optimization of cell cultures
- Novel transformation techniques (microinjection)
- TILLING-based mutagenesis
- Nanobiotechnology

Contact

Prof. Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 251 8322 - 302
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Pharmaceutical Product Development

- Development of recombinant diagnostic and therapeutic proteins
 - novel immunization protocols for the generation of monoclonal antibodies
 - selection and characterization of recombinant antibodies
 - monovalent and multivalent fusion proteins (pro-drugs, toxins, bispecific antibodies)
 - optimized expression of functional recombinant pharmaceuticals in heterologous expression systems (*Escherichia coli*, mammalian cells)
- Optimization of validated binding structures
 - recombinant DNA technology and molecular evolution
 - development of novel platform technologies
- Development of novel strategies for the diagnosis and treatment of cancer, allergies and autoimmune diseases

- *in vitro* diagnosis
- *in vivo* diagnosis
- novel immunodiagnostics and immunotherapeutics in preclinical animal models
- Bioassay development, optimization and quality control

Contact

Prof. Dr. Dr. Stefan Barth
Tel: +49 241 6085 - 11060
stefan.barth@ime.fraunhofer.de

Plant Biotechnology

- Identification, cloning and optimization of target genes
- Generation and characterization of monoclonal antibodies and recombinant antibody fragments
- Plant transformation (monocots and dicots)
- Production of pathogen-resistant and stress-tolerant plants
- Development and optimization of transgenic crops
- Molecular Farming: the production of recombinant pharmaceuticals and technical proteins in plants and plant cell suspension cultures
- Strategies to improve the expression and stability of recombinant proteins
- Development of novel purification strategies
- Characterization of recombinant proteins
- Production of recombinant proteins in alternative expression systems (bacteria, yeast, animal cell cultures)
- Proteomics
- High-content screening of plant and animal cells
- Development of plant stem cell lines

Contact

Prof. Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 241 6085 - 11050
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de



Industrielle Biotechnologie

- Entwicklung maßgeschneiderter Biokatalysatoren mittels gelenkter Proteinevolution
- Screening nach „neuen“ Biokatalysatoren mittels Quorum Sensing Quenching
- Biokatalyse und Biotransformationsreaktionen im Labormaßstab
- Metabolic Engineering von Mikroorganismen (inkl. Metabolomics)
- Phytochemie und Naturstoffanalyse
- Klassische Stammverbesserung von aeroben und anaeroben Mikroorganismen

Ansprechpartner

Dr. Stefan Jennewein

Tel: +49 241 6085-12120

stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de

Integrierte Produktionsplattformen

- Beratung bei Wahl und Herstellung von Expressionsstämmen zur Produktion rekombinanter Proteine
- Entwicklung von Expressionsstämmen
- Prozessentwicklung und Machbarkeitsstudien zur Herstellung rekombinanter Proteine
- Produktion von rekombinanten Proteinen unter Nicht-GMP-Bedingungen im 1-30 L-Maßstab
- GMP-gerechte Herstellung von rekombinanten Wirkstoffen für klinische Prüfungen im Maßstab 30-500 L
- Beratung bei der Planung und Entwicklung von Prozessen zur Produktion rekombinanter Wirkstoffe

Ansprechpartner

Dr. Stephan Hellwig

Tel: +49 241 6085-13070

stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Dr. Jürgen Drossard

Tel: +49 241 6085-13060

juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Bio-Ressourcen und Insektenbiotechnologie

- Insektenbiotechnologie
- Entwicklung von Wirkstoffen und Enzymen aus Insekten für die industrielle Biotechnologie
- Identifizierung, Charakterisierung und rekombinante Herstellung von neuen Leitstrukturen aus Insekten für die Medizin, Tierzucht und den modernen Pflanzenschutz
- Screening nach Targetgenen aus Insekten für die Verbesserung der Resistenz von Nutzpflanzen gegen diverse Krankheitserreger
- Entwicklung neuer Strategien zur umweltschonenden Bekämpfung von Schad- und Vektorinsekten
- Vergleichende Proteom- und Transkriptomanalysen bei Insekten
- Entwicklung von Insekten als „whole-animal-high-throughput-systems“ für das Risk Assessment von Chemikalien und die Überwachung von Lebens- und Futtermitteln bzw. deren Zusätze

Ansprechpartner

Prof. Dr. Andreas Vilcinskas

Tel: +49 641 9939-500

andreas.vilcinskas@ime.fraunhofer.de

Molecular Biotechnology (Fraunhofer CMB, USA)

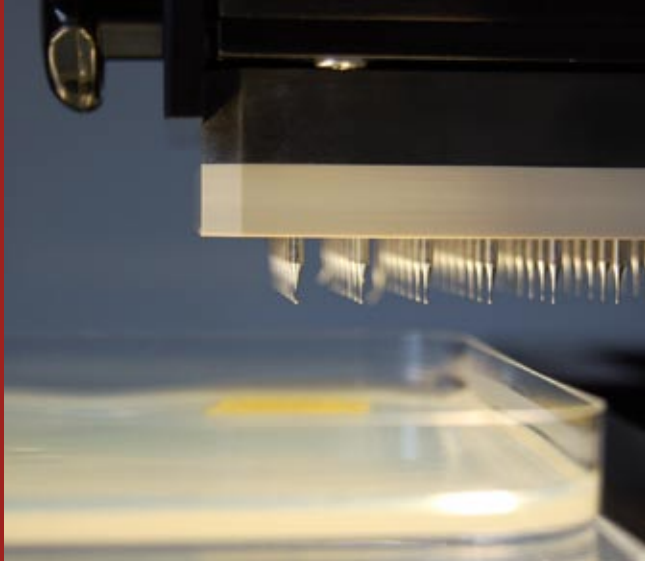
- Impfstoffentwicklung und Herstellung
- Transiente Genexpression
- Funktionale Genomik anhand virusinduzierten Gene-Silencings
- Real-time PCR
- Gerichtete Evolution
- Entwicklung viraler Vektoren
- Entwicklung industrieller Biokatalysatoren

Ansprechpartner

Dr. Vidadi M. Yusibov

Tel: +1 302 369 37 66

vyusibov@fraunhofer-cmb.org



Industrial Biotechnology

- Development of tailor-made biocatalysts using directed protein evolution
- Screening for novel biocatalysts based on quorum sensing quenching
- Lab-scale biocatalysis and biotransformation reactions
- Metabolic engineering of microorganisms (including metabolomics) and plants
- Phytochemistry and natural product analysis
- Classical strain improvement of aerobic and anaerobic microorganisms

Contact

Dr. Stefan Jennewein
Tel: +49 241 6085-12120
stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de

Integrated Production Platforms

- Consultation for the development and construction of expression strains and choice of expression hosts
- Development of expression strains
- Process development and feasibility studies for the production of recombinant proteins
- Production of recombinant proteins (non-GMP) at the 1-30 L scale
- GMP-compliant production of recombinant active pharmaceutical ingredients (APIs) for clinical trials at the 30-500 L scale
- Consultation for the design and development of processes for the production of recombinant APIs

Contact

Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 241 6085-13070
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 241 6085-13060
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Bioresources and Insect Biotechnology

- Insect biotechnology
- Development of active ingredients and enzymes from insects for industrial biotechnology
- Identification, characterization and production of recombinant bioactive molecules for medicine, animal breeding and crop protection
- Identification of novel insect genes that mediate pest resistance in crop plants
- Development of new strategies to reduce pest and vector insects with minimal environmental impact
- Comparative transcriptomics and proteomics in insects
- Use of insects as whole-animal high-throughput systems for the assessment of chemicals and the analysis of food and animal feed safety

Contact

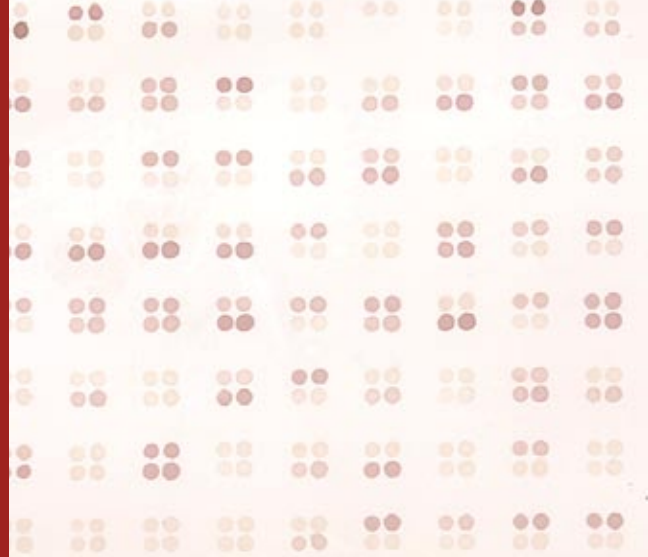
Prof. Dr. Andreas Vilcinskis
Tel: +49 641 9939-500
andreas.vilcinskis@ime.fraunhofer.de

Molecular Biotechnology (Fraunhofer CMB, USA)

- Vaccine development and manufacturing
- Transient gene expression
- VIGS (virus-induced gene silencing) based functional genomics
- Real-time PCR
- Directed evolution
- Viral vector development
- Industrial biocatalyst development

Contact

Dr. Vidadi M. Yusibov
Tel: +1 302 369 37 66
vyusibov@fraunhofer-cmb.org



Translationale Medizin und Pharmakologie

- Medizinalchemie und Drug Design
- *In vitro*-Pharmakologie und Screening
- Tiermodelle für neuropathische, akute und entzündliche Schmerzen, neurodegenerative Erkrankungen, akute und chronische Entzündung, Sepsis, Gefäßverletzungen, Autoimmunerkrankungen und Wundheilung
- Schmerz- und Analgesiemodelle und quantitative sensorische Testung im Menschen
- Planung, Durchführung und Analyse von klinischen Studien (Phase I-III)
- Präklinisches und klinisches PK/PD-Modelling
- Repurposing von Wirkstoffen
- Biobanking/Biosampling

Ansprechpartner

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger

Tel: +49 69 6301 - 7619

gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

Auftragsarbeiten

- DNA-Sequenzierung
- Hochdurchsatz-Screening transgener Organismen
- Zellbasierte Hochdurchsatz-Screeningassays
- Produktion und Analyse von DNA- und Protein-Microarrays
- Genisolierung/ -charakterisierung
- 2-dimensionale Gelelektrophorese und Proteomanalyse
- Massenspektrometrie
- Proteinkristallisation und Strukturaufklärung
- Proteinlokalisationsstudien
- *In vitro*- und *in vivo*-Proteincharakterisierung
- Zellsortierung
- Transformation verschiedener Pflanzenspezies
- Fermentation in mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Systemen im Maßstab 1 - 30 L
- Antikörperherstellung/ -modifikation
- Rekombinante Antikörpertechnologien/ Bioassayentwicklung
- Rekombinante Immundiagnostika und -therapeutika
- Tiermodelle/*in vivo*-Imaging
- Produktion und Reinigung rekombinanter Proteine
- Metabolomics
- cGMP-konforme Herstellung rekombinanter Biopharmazeutika
- Biacore Interaktionsanalysen (SPR)
- LC-MS/MS Wirkstoffanalyse und Biomarker
- Klinische Prüfungen



Translational Medicine and Pharmacology

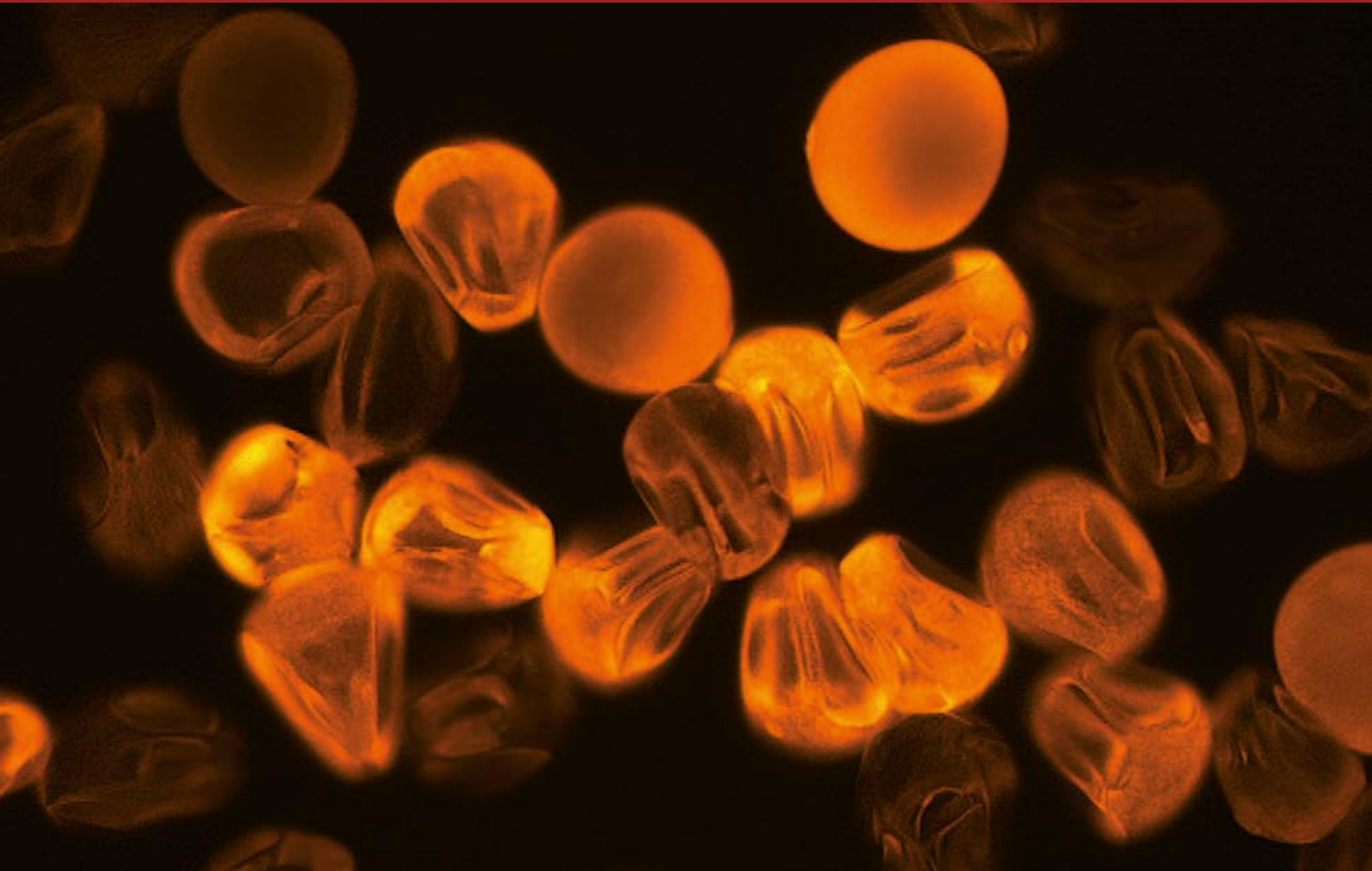
- Medicinal chemistry and drug design
- *In vitro* pharmacology and screening
- Animal models for neuropathic pain, acute and inflammatory pain, neurodegenerative diseases, acute and chronic inflammation, sepsis, vascular injury, autoimmune disease and tissue repair
- Pain and analgesia assessment and quantitative sensory testing in humans
- Planning, performance and analysis of phase I-III clinical studies
- Preclinical and clinical modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics
- Drug repurposing
- Biobanking/biosampling of clinical specimens

Contact

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger
Tel: +49 69 6301 - 7619
gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

Contract Services

- DNA sequencing
- High-throughput screening of transgenic organisms
- Cell-based high-throughput screening assays
- Production and analysis of DNA and protein microarrays
- Gene isolation/characterization
- Two-dimensional gel electrophoresis and proteome analysis
- Mass spectrometry
- Protein crystallization and structural determination
- Protein localization
- *In vitro* and *in vivo* characterization of proteins
- Cell sorting
- Transformation of different plant species
- Fermentation of microbial, animal and plant cells (1-30 L scale)
- Antibody production and modification
- Recombinant antibody technologies/ bioassay development
- Recombinant immunodiagnostics and immunotherapeutics
- Animal models/*in vivo* imaging
- Production and purification of recombinant proteins
- Metabolomics
- cGMP-compliant production of recombinant biopharmaceuticals
- Biacore interaction analysis (surface plasmon resonance)
- LC-MS/MS drug analysis and biomarker discovery
- Clinical trials



Ansprechpartner / Contact

DNA sequencing / DNA fragment analysis

Dr. Jost Muth
Tel: +49 241 6085-12051
jost.muth@ime.fraunhofer.de

**Proteomics, protein bioanalytics
Protein crystallization and structural prediction**

Dr. Kurt Hoffmann
Tel: +49 241 6085-12031
kurt.hoffmann@ime.fraunhofer.de

Metabolic engineering and natural products

Dr. Stefan Jennewein
Tel: +49 241 6085-12120
stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de

Flow cytometry

Simon Vogel
Tel: +49 241 6085-13161
simon.vogel@ime.fraunhofer.de



High-throughput imaging

Dr. Stefano di Fiore
Tel: +49 241 6085-10460
stefano.difiore@ime.fraunhofer.de

**Plant transformation /
antibody generation**

Prof. Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 241 6085-11050
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Biacore interaction analysis (SPR)

Dipl. Biol. Holger Spiegel
Tel: +49 241 6085-12461
holger.spiegel@ime.fraunhofer.de

**Production of recombinant proteins /
biotechnology process development**

Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 241 6085-13070
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

**Recombinant antibody technologies /
bioassay development**

Dr. Jörg Nähring
Tel: +49 241 6085-12041
joerg.naehring@ime.fraunhofer.de

**Recombinant immunodiagnosics and
immunotherapeutics**

Prof. Dr. Dr. Stefan Barth
Tel: +49 241 6085-11060
stefan.barth@ime.fraunhofer.de

Animal models / *in vivo* imaging

Dr. Theo Thepen (IME-MB)
Tel: +49 241 6085-11131
theo.thepen@ime.fraunhofer.de

Dr. Natasja De Bruin (IME-TMP)
+49 69 6301-7159
natasja.debruin@ime.fraunhofer.de

Immunization strategies

Dr. Torsten Klockenbring
Tel: +49 241 6085-11461
torsten.klockenbring@ime.fraunhofer.de

Downstream processing / endotoxin analysis

Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 241 6085-13060
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

cGMP-compliant production of clinical-grade APIs

Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 241 6085-13070
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Medicinal chemistry and drug design

Prof. Dr. Michael J. Parnham (IME-TMP)
Tel: +49 69 6301-84234
michael.parnham@ime.fraunhofer.de

***In vitro* tests / compound screening**

Prof. Dr. Michael J. Parnham (IME-TMP)
+49 69 6301-84234
michael.parnham@ime.fraunhofer.de

LC-MS/MS drug analysis and biomarker discovery

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger (IME-TMP)
Tel: +49 69 6301-7619
gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

Clinical research

Dr. Frank Behrens (IME-TMP)
+49 69 6301-7302
frank.behrens@ime.fraunhofer.de

ANGEWANDTE OEKOLOGIE APPLIED ECOLOGY

Chemikalien- und Produktsicherheit

- Standardstudien zur Registrierung und Kennzeichnung von schwierigen Industriechemikalien (inklusive Metalle, Metallspezies und Metallverbindungen), Bioziden und Pharmazeutika: Erfassung von physikalisch-chemischen Eigenschaften, Verbleib in der Umwelt, Bioakkumulation/Ökotoxikologie
- Ökotoxikologische Tests mit Nanomaterialien
- Komplexe Studien für spezielle Fragestellungen: modifiziert für flüchtige/schwerlösliche/leicht abbaubare Substanzen, Mikro-/Mesokosmosstudien, Expositionsabschätzung von chemischen und biologischen Agenzien in Wasser, Böden und Verbraucherprodukten durch Entwicklung/Anpassung von Expositionsszenarien und -modellen
- Entwicklung/Anpassung von Test- und Bewertungsstrategien in der ökologischen Risikoabschätzung
- Funktionsprüfung/-optimierung von Produkten mit funktionalen Nanomaterialien
- Prüfungen des Transformations- und Lösungsverhaltens und der Bioverfügbarkeit von Metallen und Metallverbindungen einschließlich Elementspeziesanalytik
- Prüfung belasteter Materialien auf Umweltchemikalien
- Gutachten zur Umweltverträglichkeit von Stoffen und Produkten
- Unterstützung bei der Registrierung und Zulassung von Chemikalien: Beratung in Zusammenhang mit umweltrelevanten Spezialaspekten unter REACH

Ansprechpartner

Organische Stoffe: Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302 - 209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Metalle/Metallverbindungen: Dr. Thorsten Klawonn
Tel: +49 2972 302 - 119
thorsten.klawonn@ime.fraunhofer.de

Ökotoxikologie: Dr. Andrea Wenzel
Tel: +49 2972 302 - 329
andrea.wenzel@ime.fraunhofer.de

Nanomaterialien: Dr. Kerstin Hund-Rinke
Tel: +49 2972 302 - 266
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Verbleib und Wirkung von Agrochemikalien

- Standard-Risk-Assessment: GLP-Studien und -Berechnungen nach Richtlinien (OECD, OPPTS, JMAFF) in den Bereichen physikalisch-chemische Eigenschaften, Verbleib (z. B. Expositionsmodellierung; kinetische Analysen nach FOCUS; Abbau und Transformation in Boden, Wasser/Sediment, Photolyse, Hydrolyse, Bioakkumulation); Effekte auf Wasser- und Bodenorganismen
- Higher Tier Risk Assessment (HTRA): Entwicklung, Implementierung und Durchführung von experimentellen Studien und Modellen wie Lysimeterstudien, Studien in „Fate-ocosms“; Abbau im Boden unter Freilandbedingungen, substanzspezifische Modifikation von Standard-Verbleibstudien; Expositionsmodellierung (inverse Modellierung, GIS-Analysen, substanzspezifische Szenarien); ökotoxikologische Tests, z. B. mit Nicht-Standardarten (Art-Empfindlichkeits-Verteilungen) oder modifizierter Exposition, Fish Full Life Cycle-Tests, Mikro-/Mesokosmosstudien; Wirkungsmodellierung (Population, Nahrungsnetze); Auswertung oder Gutachten zu HTRA-Studien anderer Einrichtungen
- Forschungs- und Entwicklungsprojekte sowie Gutachten zu generellen und substanzspezifischen Bewertungsfragen

Ansprechpartner

Chemie: Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302 - 209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Expositionsmodellierung: Dr. Michael Klein
Tel: +49 2972 302 - 317
michael.klein@ime.fraunhofer.de

Ökotoxikologie: Prof. Dr. Christoph Schäfers
Tel: +49 2972 302 - 270
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de



Chemical and Product Safety

- Standard studies for the notification and labeling of industrial chemicals (including metals, metal species and metal compounds), biocides and pharmaceuticals: Determination of physicochemical properties, fate in the environment, bioaccumulation and ecotoxicology
- Ecotoxicological tests with nanomaterials
- Complex studies for specific problems: modified for volatile, poorly soluble and/or readily degradable substances; microcosm/mesocosm studies; exposure assessments for chemical and biological agents in water, soil and consumer articles by the elaboration/adaptation of exposure scenarios and exposure models
- Elaboration/adaptation of test and assessment strategies for ecological risk assessments
- Function testing/optimization of products with functional nanomaterials
- Testing the transformation/dissolution behavior and the bioaccessibility of metals and metal compounds including elemental species analysis
- Testing contaminated materials for environmental chemicals
- Expert reports on the environmental safety of chemical substances and products
- Support for the registration and notification of chemical substances; consultation in the context of REACH

Contact

Organic substances: Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302 - 209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Metals/metal compounds: Dr. Thorsten Klawonn
Tel: +49 2972 302 - 119
thorsten.klawonn@ime.fraunhofer.de

Ecotoxicology: Dr. Andrea Wenzel
Tel: +49 2972 302 - 329
andrea.wenzel@ime.fraunhofer.de

Nanomaterials: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Tel: +49 2972 302 - 266
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Fate and Effect of Agrochemicals

- Standard risk assessment: GLP studies and calculations under GLP according to international guidelines (OECD, OPPTS, JMAFF) relating to physicochemical properties, fate (e.g. exposure modeling; kinetic analyses according to FOCUS; degradation and transformation in soil and water/sediment; photolysis, hydrolysis, bioaccumulation), effects on water and soil organisms
- Higher-tier risk assessment (HTRA): Development, implementation and performance of experimental studies and models (e.g. lysimeter studies; "fate-o-cosms"; outdoor soil degradation; substance specific modification of standard fate studies; exposure modeling (inverse modeling, GIS analysis, substance specific scenarios); tests with non-standard species or with modified exposure; fish full life cycle tests, microcosm and mesocosm studies; effect modeling (population, food web); evaluations and expert reports on HTRA studies carried out by other institutions
- Research and development projects and expert reports on general and specific issues relating to the environmental risk assessment of pesticides

Contact

Chemistry: Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302 - 209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Exposure Modeling: Dr. Michael Klein
Tel: +49 2972 302 - 317
michael.klein@ime.fraunhofer.de

Ecotoxicology: Prof. Dr. Christoph Schäfers
Tel: +49 2972 302 - 270
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de



Aufnahme und Metabolismus von Agrochemikalien

- Rotational Crop-Studien
- Aufnahme und Metabolismus in Nutzpflanzen
 - in Mitteleuropa verbreitete Kulturen (z. B. Mais, Getreide, Blatt- und Wurzelgemüse, Kartoffeln, Tomaten, Raps)
 - subtropische/tropische Kulturen (z. B. Zuckerrohr, Erdnuss, Sojabohne, Baumwolle)
 - Dauerkulturen (z. B. Obst, Wein, Äpfel)
- Metabolismus in Nutztieren
 - Metabolismus- und Fütterungsstudien in Fischen
 - Metabolismus in Fischhepatozyten und Leber S9-Fractionen
 - Metabolismusstudien in Hühnern und Ziegen
- Erfassung und Strukturaufklärung unbekannter Metabolite mittels ^{14}C -Markierung, hochauflösender LC/MS und LC-SPE/NMR

Ansprechpartner

Metabolismus in Pflanzen: Dr. Dieter Hennecke

Tel: +49 2972 302 - 209

dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Metabolismus in Tieren: Dr. Christian Schlechtriem

Tel: +49 2972 302 - 186

christian.schlechtriem@ime.fraunhofer.de

Lebens- und Futtermittelsicherheit

- Stoffbezogene Lebens- und Futtermittelanalytik auf Grundlage von internationalen Richtlinien, DIN-Normen bzw. der § 64 LFGB-Methoden
- Lebensmittelmikrobiologie
- Identifikation von Pathogenen
- Biochemische und molekularbiologische Detektionsverfahren
- Instrumentelle Spezialanalytik zur Detektion von charakteristischen Inhaltsstoffen, Aromastoffen, Kontaminanten und Rückständen in Lebens- und Futtermitteln (einschließlich Trinkwasser) sowie von Bedarfsgegenständen komplexer Zusammensetzung (z. B. mit Hilfe von LC/MS, SBSE-GC/MS/O)
- Entwicklung kostengünstiger Screening-Verfahren, die Analysen im Hochdurchsatz ermöglichen, und einfach durchzuführender Schnelltests
- Beratung in Fragen der Deklaration von Lebensmitteln

Ansprechpartner

Dr. Mark Bücking

Tel: +49 2972 302 - 304

mark.buecking@ime.fraunhofer.de



Uptake and Metabolism of Agrochemicals

- Rotational crop studies
- Uptake and metabolism in crops
 - Central European crops (e.g. maize and other cereals, leafy vegetables, potatoes and other vegetables, tomatoes, rapeseed)
 - subtropical/tropical crops (e.g. sugar cane, peanut, soybean, cotton)
 - permanent crops (e.g. fruits, grapevine, apples)
- Metabolism in food-producing animals
 - metabolism and feeding studies in fish
 - metabolism in fish hepatocytes and liver S9 fractions
 - metabolism studies in hens and goats
- Determination and identification of unknown metabolites using ^{14}C -labeling, high-resolution LC-MS and LC-SPE/ NMR

Contact

Metabolism in plants: Dr. Dieter Hennecke

Tel: +49 2972 302 - 209

dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Metabolism in animals: Dr. Christian Schlechtriem

Tel: +49 2972 302 - 186

christian.schlechtriem@ime.fraunhofer.de

Food and Feed Safety

- Substance-related analysis of food and feed according to international guidelines, DIN-standards and the so-called § 64 methods of the German food law (LFGB)
- Food microbiology
- Identification of pathogens
- Detection procedures using biochemistry and molecular biology
- Special instrumental analysis for the detection of characteristic ingredients, aroma compounds, contaminants and residues in food and feed (including drinking water) as well as complex consumer products (e.g. by LC/MS or SBSE-GC/MS/O)
- Development of cost-effective high-throughput screening methods and rapid, convenient test methods
- Consultations addressing issues concerning the declaration and labeling of food

Contact

Dr. Mark Bücking

Tel: +49 2972 302 - 304

mark.buecking@ime.fraunhofer.de



Umweltmonitoring

- Entwicklung von und Beratung zu Probenahmestrategien
- Problemorientierte Probenahme von Wasser-, Boden- und Luftproben
- Metallanalytik im Spurenbereich in Wasser, Boden, Staubproben und biologischen Matrices
- Elementspeziesanalytik, z. B. mittels GC-AED-, GC-ICP/MS oder HPLC-ICP/MS-Kopplung
- Speziespezifische Isotopenverdünnungsanalytik für metallorganische Verbindungen mittels GC-ICP/MS-Kopplung
- Erfassung von organischen Kontaminanten in Wasser und Sedimentphase sowie in Boden, Luft und biologischen Matrices
- Identifizierung und Quantifizierung von „Neuen Schadstoffen“ (emerging pollutants)
- Analytik ziviler und militärischer Altlasten
- Probenvorbereitung und -lagerung unter Kryobedingungen
- Bewertung der ökologischen Bedeutung stofflicher Belastungen in abiotischen und biotischen Matrices

Ansprechpartner

Monitoring: Dr. Heinz Rüdel

Tel: +49 2972 302 - 301

heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Element-/Elementspeziesanalytik: Dr. Burkhard Knopf

Tel: +49 2972 302 - 208

burkhard.knopf@ime.fraunhofer.de

Organische Analytik: Dr. Josef Müller

Tel: +49 2972 302 - 216

josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Boden- und Gewässerschutz

- Entwicklung und Anwendung von Verfahren zur Erfassung des Verhaltens und der Wirkung anthropogener Kontaminanten in Böden, einschließlich Sekundärrohstoffdüngern und Abfällen
- Erfassung und Bewertung des aktuellen Bodenzustands: physikochemische Analysen; bodenbiozönotische und ökotoxikologische Untersuchungen; Ermittlung der Beeinträchtigung der Biodiversität und ökosystemarer Funktionen
- Erstellung und Beurteilung von Bodensanierungskonzepten unter besonderer Berücksichtigung verfügbarer Schadstoffanteile und von Selbstreinigungsprozessen
- Erfassung und Bewertung der Gewässerqualität mittels Biomarkeranalysen, z. B. Östrogen-Rezeptortests, UMU-Tests, Vitellogenin-Untersuchungen, Fisch-Embryotests, für ein ökologisches Gewässermonitoring
- Beurteilung der stoffbezogenen Wasserqualität: Erfassung und Bewertung der Konzentration problematischer Stoffe
- Ableitung von Wasserqualitätszielen im Rahmen der europäischen Gewässerrahmenrichtlinie
- Bereitstellung und Vertrieb von Referenzböden (Refesol-Programm des UBA) für Prüfzwecke

Ansprechpartner

Bodenbiologie: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Tel: +49 2972 302 - 266

kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Aquatische Ökologie: Dr. Udo Hommen

Tel: +49 2972 302 - 255

udo.hommen@ime.fraunhofer.de

Ökologische Chemie: Dr. Kerstin Derz

Tel: +49 2972 302 - 201

kerstin.derz@ime.fraunhofer.de

Wasserqualität: Dr. Andrea Wenzel

Tel: +49 2972 302 - 329

andrea.wenzel@ime.fraunhofer.de



Environmental Monitoring

- Development of and consulting on sampling strategies
- Problem-oriented sampling of water, soil and air
- Trace analysis of metals in water, soil, dust samples and biological matrices
- Elemental speciation analysis, e.g. using GC-AED, GC-ICP/MS or HPLC-ICP/MS
- Species-specific isotope dilution analysis of organometallic compounds by GC-ICP/MS coupling
- Tracking organic contaminants in the water and sediment phase, soil, air and biological matrices
- Identification and quantification of emerging pollutants
- Analytical determination of hazardous wastes (industrial and military sites)
- Sample preparation and storage under cryogenic conditions
- Assessment of the ecological impact of substances in biotic and abiotic matrices

Contact

Monitoring: Dr. Heinz Rüdel

Tel: +49 2972 302 - 301

heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Elemental/elemental species analysis: Dr. Burkhard Knopf

Tel: +49 2972 302 - 208

burkhard.knopf@ime.fraunhofer.de

Organic analysis: Dr. Josef Müller

Tel: +49 2972 302 - 216

josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Soil and Water Protection

- Development and application of procedures to determine the fate and effects of anthropogenic contaminants in soils including secondary raw materials and waste
- Determination and assessment of the current state of soils: physicochemical analysis; analysis of soil biocoenosis; ecotoxicological analysis; impairment of ecosystem structures (biodiversity) and functions
- Elaboration and assessment of remediation concepts based on available pollutant portions and natural attenuation/enhanced natural attenuation processes
- Determination and assessment of water quality using bio-markers (e.g. estrogen receptor tests, UMU tests, vitellogenin analysis), fish embryo assays, and the ecological monitoring of surface waters
- Assessment of substance-related water quality; determination and assessment of the concentration of problematic substances
- Derivation of water quality objectives according to the European Water Framework Directive
- Supply and distribution of reference soils for testing (Refesol program of the German Federal Environment Agency)

Contact

Soil biology: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Tel: +49 2972 302 - 266

kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Aquatic ecology: Dr. Udo Hommen

Tel: +49 2972 302 - 255

udo.hommen@ime.fraunhofer.de

Ecological chemistry: Dr. Kerstin Derz

Tel: +49 2972 302 - 201

kerstin.derz@ime.fraunhofer.de

Water quality: Dr. Andrea Wenzel

Tel: +49 2972 302 - 329

andrea.wenzel@ime.fraunhofer.de

AUSSTATTUNG DES INSTITUTS INSTITUTE FACILITIES AND EQUIPMENT



Liegenschaft und Nutzflächen

Das Institut verfügt in Schmallenberg über eine Nutzfläche von ca. 6600m². Etwa ¾ dieser Fläche werden als Laboratorien bzw. Umweltsimulationsanlagen genutzt. Für die Umweltprobenbank des Bundes und Probenbanken für weitere Kunden steht ein Gebäude mit 350m² als Cryolager zur Verfügung. Die Institutsgebäude in Aachen umfassen eine Hauptnutzungsfläche von 5400m² einschl. 1600m² Gewächshausfläche und GMP-Gebäude. In Schmallenberg und Aachen sind Laborräume des Sicherheitsstandards S1 und S2 vorhanden; der Institutsteil in Schmallenberg verfügt zudem über Laboratorien des Sicherheitsstandards L2 und L3.

Special equipment and apparatus

The Fraunhofer IME in Schmallenberg comprises 6600m² of office and laboratory space, with 75% used for laboratories and environmental simulation facilities. A special 350m² building is used as a cryostorage facility for the Federal Environmental Specimen Bank and provides cryobanks for other customers. The institute building in Aachen comprises 5400m² of office and laboratory space, a 1600m²-greenhouse and a GMP facility. Risk class 1 and 2 containments for GMOs are available in Schmallenberg and Aachen; risk class 2 and 3 containments for pathogens are available in Schmallenberg.

MOLECULAR BIOLOGY

- Automated biorobotic system for handling and selecting high-productivity animal and plant cell lines (Tecan/Innovatis)
- Biomek 2000 and FX 96 robotic stations
- Tecan protein crystallization robot
- ABI 3730 DNA Analyzer, LifeTechnologies-Ion Torrent
- ABI PRISM 7700 RT-PCR System
- BioRad real-time PCR System, CFX96
- BioRad PCR device with fast reaction module, C1000 Thermal Cycler
- QPix colony picker and microarray printer
- ScanArray 5000 biochip scanner
- Agilent High-Res Microarray Scanner
- Dionex preparative HPLC system with diode array detector and fluorescence detector
- Dionex Micro-HPLC with diode array detector
- Dionex analytic HPLC system with autosampler
- Bruker Daltonics LC/MS/MS system, micrOTOF-Q II
- Portable GC/MS system with electro-antennographic detection (EAD)
- Fuji phosphor and chemiluminescent imaging system
- Leica DM-RB research microscopes
- Leica fluorescence stereomicroscope MS16Fica
- Leica inverse fluorescence microscope DM IL LED
- Leica TCS-SP spectral confocal microscope
- Leica TCS SP8 MP WLL
- Evotec Opera System
- Fuji LAS 1000 cooled camera system
- Fuji FLA 2000 bioimaging analysis system
- Evotec Cytocon 300 (single cell cloning system)
- Beckton Dickenson FACScalibur and FACSVantage
- Cell culture laboratories including automated cell picking
- Palm laser microdissection system
- EPG Systems Electrical Penetration Graph (EPG) System
- Particle gun
- Analytic Jena dual-beam spectrophotometer, Specord 210
- Tecan luminometer, Infinite F200
- Non-GMP process development / feasibility studies facility to produce recombinant proteins in microbes, animal and plant cell cultures (1-30 L scale)
- DAS-GIP fed batch pro system (16 x)
- GMP-compliant multi-purpose production suite for the production of APIs (350 L scale)
- GE Healthcare Äkta Process
- Carr P6 & Westfalia CSC6 continuous centrifuges (GMP)
- Äkta chromatography systems
- Sartorius Alpha and Beta crossflow filtration systems
- SLM Aminco Bowman AB-2 fluorimeter
- BIAcore 2000, BIAcore T100, forteBIO-octet 383



- Chryoscopic - Osmomat 030
- Oxford Cryostream and Oxford Xenon Cell
- Bruker-Nonius FR591 rotating anode X-ray generator, Osmic Confocal Max-Flux™ blue optic X-ray mirrors, X Ray Research Mar345 image plate
- Silicon Graphics workstations including stereo device software for solving protein structure (M.S.I. Insight II / Discover, Denzo, Scalepack, CCP4, SHEL-X, SHARP, PHASES, X PLOR, O)
- Ettan DIGE Imager and DeCyler 2D Software
- MS proteomic analysis suite Bruker amaZon ETD
- Shimadzu GCMS-QP2010S + Shimadzu HPLC System
- Agilent 1200 HPLC & ABSciex 3200 QTrap

APPLIED ECOLOGY

Analytical equipment

- Equipment for ¹⁴C-analysis (HPLC, TLC, LSC, Microbeta)
- Equipment for inorganic trace analysis (e.g. ICP-MS, HPLC/ICP-MS, GC/ICP-MS, ICP-OES, Mercury Analyzer, IC)
- Equipment for organic trace analysis (e.g. AED, GC-MS/MS, SBSE-GC/MS/O, GC/MSD with MPS2 + SPME Unit, HPLC-MS/MS)
- High-resolution LC/MS-LTQ Orbitrap™ Hybrid FT Mass Spectrometer
- 700 MHz NMR with cryoplatfrom; sample preparation by HPLC-SPE
- Automated extraction procedures (e.g. ASE, SPE, HSE, thermoextraction)
- Thermoanalysis (TG-DSC)
- Malvern Mastersizer 2000 and Zetasizer Nano ZS
- Flow-through cytophotometer

Laboratory ecotoxicological facilities / devices

- Model sewage treatment plants (including potential to use of ¹⁴C-labeled substances)
- Seven flow-through facilities for ecotoxicological studies
- Two facilities for large static ecotoxicological studies (e.g.

- fish full life cycle studies in water-sediment systems)
- Four flow-through facilities for fish metabolism studies

Facilities for environmental simulations

(*isotope-labeled chemicals possible)

- 36 outdoor lysimeters (1 m², 0.7-1.2 m depth)*
- 2 x 16 aquatic microcosms (1 m³ volume) including simulation of seasons and climatic regions*
- Artificial stream system*
- Facilities for simulating soil and waste material treatments under controlled extreme ecological conditions*
- Facility for outdoor studies involving special exposure of ecosystem compartments in plot trials*
- Glasshouse with different climatic zones for crop cultivation, including cultivation in lysimeters*
- Climatic chamber
- On-site determination of NO_x elimination from the air by nanocoated materials

Outdoor mesocosm facilities (in cooperation)

- 30 outdoor ponds (5 m³ volume) in cooperation with gaiac, Research Institute for Ecosystem Analysis and Assessment, Aachen
- Five artificial ponds for enclosure studies in cooperation with Mesocosm GmbH, Homberg

Software tools and simulation models

- Exposure assessment models: e.g. PELMO, STEPS 1-2 in FOCUS, FOCUSPELMO, ABIWAS
- Ecological models: population models, e.g. for daphnia and zebrafish; food web models
- Ecological effect statistics: CANOCO, Community Analysis (CA), ToxRat Professional, SPSS
- QSAR-software: PropertEst
- Modeling environments and tools including GIS

DAS INSTITUT IN ZAHLEN

HAUSHALT

In 2012 konnte der Betriebshaushalt um rund 3,1 Mio. € auf insgesamt 21,4 Mio. € gesteigert werden, was einem Wachstum des operativen Geschäfts von 16,8 % entspricht. Dieses Wachstum findet sich in den IME-Standorten Schmallenberg, Aachen, Münster, Gießen und Frankfurt a. M. wieder. Die Summe der externen Erträge aus Betriebs- und Investitionshaushalt stieg um 5,6 Mio. € auf 20,7 Mio. € (+37 %). Der Gesamthaushalt 2012 erhöhte sich bei einer Steigerung von 15 % auf 25,9 Mio. €. Dabei erreichte die Finanzierung aus selbst erwirtschafteten Mitteln den exzellenten Wert von 89,4 %. Das Rho-Wirtschaft stieg von 24,2 % im Jahr 2011 auf 38,6 % im Jahr 2012. 4,5 Mio. € wurden am IME für Neu- und Ersatzinvestitionen verausgabt.

PERSONAL

Ende 2012 waren an den IME-Standorten Aachen, Schmallenberg, Münster, Gießen und Frankfurt des IME 315 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter angestellt. Dies bedeutet einen Zuwachs von über 21 % gegenüber dem Vorjahr. Der Frauenanteil am Fraunhofer IME betrug 48,9 %.

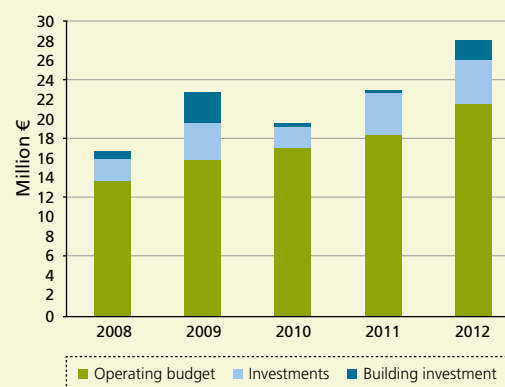
FRAUNHOFER CMB UND CSB

Der Gesamthaushalt des Centers for Molecular Biotechnology CMB in Newark, Delaware, belief sich in 2012 auf 13,5 Mio. €. Der Wirtschaftsertrag lag bei knapp 40 %. Ende 2012 waren am CMB über 100 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter angestellt.

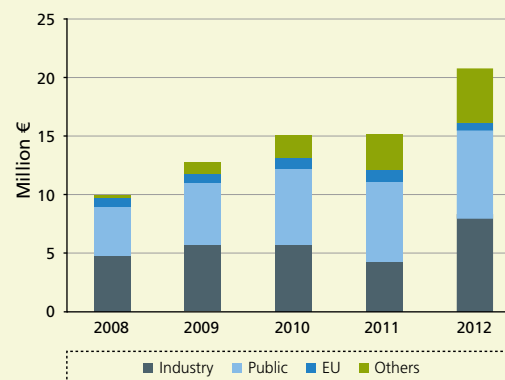
Das Fraunhofer Chile Research - Center for Systems Biotechnology absolvierte sein zweites Jahr mit einem Betriebshaushalt von 2,4 Mio. €. Ende 2012 waren 61 Personen angestellt.

Der kumulative operative Betriebshaushalt von IME, CMB und CSB betrug 2012 insgesamt 37,2 Mio. €. Das entspricht einem Wachstum von 9,5 % im Vergleich zum Vorjahr. Der Gesamthaushalt erreichte 41,7 Mio. €.

Total budget of the Fraunhofer IME

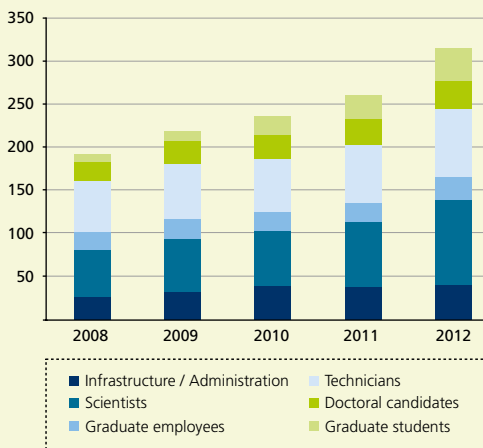


External financing of the Fraunhofer IME

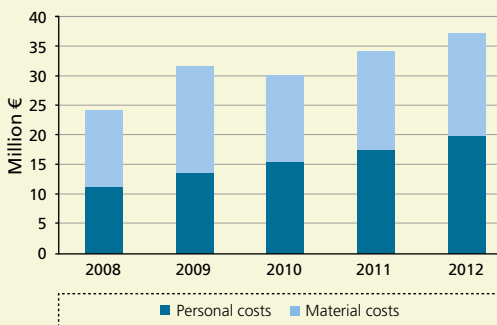


INSTITUTE DATA, 2012

Employees of the Fraunhofer IME



Operational budget IME, CMB and CSB (since 2011)



BUDGET

In 2012 the Fraunhofer IME operating budget was 21.4 million euro, an increase of 3.1 million euro over 2011, equivalent to a growth rate from operations of 16.8%. This growth reflected activity at the IME locations: Schmallenberg, Aachen, Münster, Gießen and Frankfurt a. M.

The sum of external revenues (operating budget plus capital budget) increased by 5.6 million euro (+37%) to 20.7 million euro. The overall budget increased by 15%, gaining 25.9 million euro. The third party revenues (total rho) amounted to 89.4%. Industrial revenues increased to 38.6% from 24.2% in 2011. New and replacement investments amounted to 4.5 million euro.

PERSONNEL

At the end of 2012, the Fraunhofer IME employed 315 personnel at its sites in Aachen, Schmallenberg, Gießen, Münster, and Frankfurt, a 21% increase over 2011. 48,9% of the employees are female.

FRAUNHOFER CMB AND CSB

The total operational budget of the Center for Molecular Biotechnology in Newark, Delaware, was 13.5 million euro in 2012, nearly 40% of which was earned through industry contracts. At the end of 2012, the CMB employed more than 100 personnel.

The total operational budget of the Fraunhofer Chile Research Center for Systems Biotechnology was 2.4 million euro in 2012, its second full year of operation. At the end of 2012 the new Fraunhofer Center employed 61 personnel.

The cumulative operating budget of the Fraunhofer IME, CMB and CSB amounted to 37.2 million euro, an increase of 9.5% over 2011. The overall budget was 41.7 million euro.

Aluast

Fifty

~~AL~~

2x

2012

**FORSCHUNGSARBEITEN
UND ANWENDUNGEN**

**RESEARCH ACTIVITIES
AND APPLICATIONS**

TECHNOLOGIEPLATTFORM FÜR HUMANE MONOKLONALE ANTIKÖRPER GEGEN MALARIA-ANTIGENE

A TECHNOLOGY PLATFORM FOR HUMAN MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST MALARIA ANTIGENS

Hintergrund und Ziele

Im Gegensatz zu klassischen murinen monoklonalen Antikörpern bieten humane monoklonale Antikörper (hmAk) entscheidende Vorteile für die therapeutische Behandlung am Menschen, insbesondere im Zusammenhang mit systemischen Anwendungen. Allerdings stellt die Entwicklung von hmAk eine große technologische Herausforderung dar. Im Rahmen des Malariaprojektes der Fraunhofer-Zukunftsstiftung wurde eine Technologieplattform für die Gewinnung von hmAk aus dem Blut semiimmuner Spender aus einer holoendemischen Malariaregion entwickelt und am Fraunhofer IME etabliert. Inhibitorische hmAk, die sich gegen den Parasiten *Plasmodium falciparum* richten, schaffen eine therapeutische Grundlage zur Bekämpfung multiresistenter Stämme oder als Komponenten eines Akutimpfstoffs.

Projektbeschreibung

Die Technologieplattform basiert auf einem fortlaufenden fünfstufigen Prozess: (1) der Charakterisierung der Spenderseren bzw. ihrer Antikörperreaktivitäten gegen Malaria-Antigene im Hinblick auf spezifische Bindung und inhibitorische Aktivität, (2) der technischen Erschließung von hmAk durch (a) B-Zell Immortalisierung (EBV-Transformation) oder (b) der Konstruktion von Phagen V-Gen-Bibliotheken und anschließenden 'panning' Prozessen, (3) der Amplifikation von Antikörpergenen mittels RT-PCR, (4) deren Produktion als hmAk sowie rekombinante Antikörperfragmente in heterologen Expressionssystemen und (5) der Charakterisierung ihrer Bindungsaktivitäten und inhibitorischen Eigenschaften. Zusätzlich wurden zwei Assays für Funktionalitätstests der hmAk am Fraunhofer IME etabliert. Das erste Verfahren ermittelt die *Plasmodium*-Wachstumshemmung (GIA) nach einer von Ed Remarque am BPRC Rijswijk, Niederlande, standardisierten Methode. Dabei wird die Wirkung von Antikörpern auf die Invasion der Parasiten in die Erythrozyten quantitativ erfasst. Das zweite Verfahren (ADRB) misst die zelluläre antikörpervermittelte Immunreaktion gegen Parasiten. Die Verwendung beider Assays erlaubt

eine exakte Beschreibung funktionaler Eigenschaften der Antikörper.

Ergebnisse

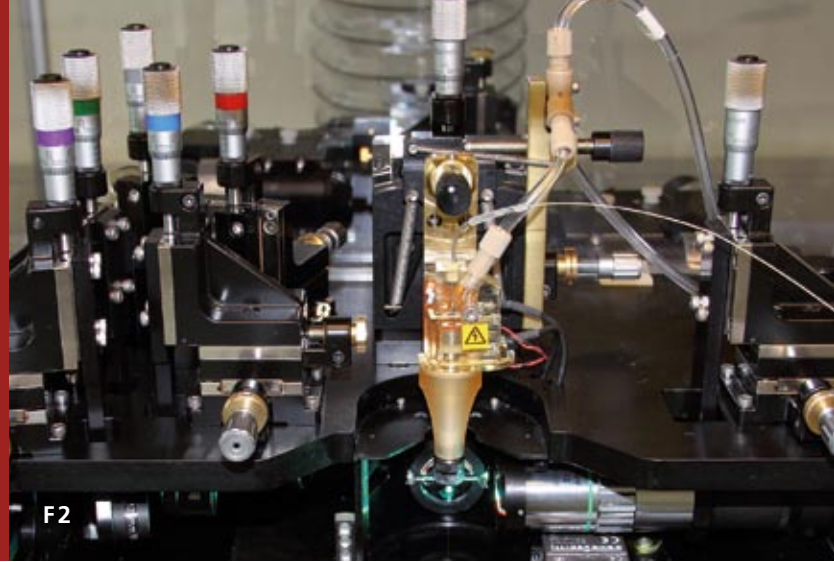
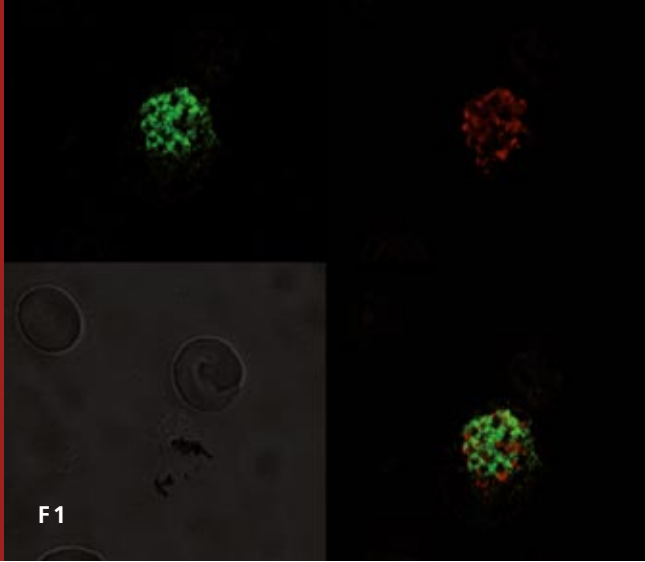
Die neue Antikörper-Technologieplattform erlaubt die Gewinnung und Charakterisierung verschiedener, gegen *Plasmodium*-Oberflächenantigene gerichteter hmAk. Rekombinante Ak-Formate wurden in verschiedenen Expressionssystemen produziert wie z. B. Pflanzen (*Nicotiana benthamiana*), Bakterien (*Escherichia coli*) und humanen Zellkulturen (Hek 293). Die spezifische Bindung wurde sowohl für rekombinante Parasitenantigene als auch für den Malariaerreger selbst mittels Immunfluoreszenz dargestellt. Die inhibitorische Aktivität wurde mittels GIA und ADRB nachgewiesen.

Fazit

Diese neue Plattformtechnologie ermöglicht die Herstellung von hmAk gegen *Plasmodium*-Oberflächenantigene in einem mehrstufigen Prozess, der die Sicherung der genetischen Information der Antikörper, deren rekombinante Expression und deren Charakterisierung umfasst. Durch zusätzliches Spendermaterial und die Auswahl verschiedener Antigene kann die Plattform für die unterschiedlichsten Ansätze genutzt werden. Mit der bestehenden Expertise zur GMP-konformen Produktion versetzt dies das Fraunhofer-IME in die Lage, vielversprechende Antikörperkandidaten zu identifizieren und für klinische Studien verfügbar zu machen.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer-Zukunftsstiftung



Background and aims

Human monoclonal antibodies (hmAbs) are valuable tools for the development of innovative therapeutics and diagnostics, but the generation of hmAbs remains a significant technological challenge. As part of the Fraunhofer Future Foundation Malaria Project, we have established a technology platform for the isolation of hmAbs from pre-immune donors living in holo-endemic malaria settings. Specifically, hmAbs directed against the *Plasmodium falciparum* parasite could be developed as therapeutic antibodies targeting multidrug-resistant malaria strains and as travelers' vaccines.

Approach

The technology platform is based on the following five-step process: (1) characterization of the antibody source by screening the sera of blood donors for reactivity against *Plasmodium falciparum* antigens and their potential inhibitory activity; (2) antibody isolation either by immortalizing B-cells following transformation with Epstein-Barr virus or the construction of a phage display library and subsequent panning; (3) the rescue of antibody genes by RT-PCR; (4) the production of recombinant hmAbs and fragments thereof in heterologous expression systems; and (5) characterization of the isolated antibodies for binding activity and parasite inhibition.

In a complementary approach, two functional assays have also been established at the Fraunhofer IME. The first is a growth inhibition assay based on a standard operating procedure previously developed by Ed Remarque at BPRC (Rijswijk, Netherlands), which measures the direct invasion inhibition activity of antibodies. The second detects antibody-dependent cellular immune responses in a broader sense, including the antibody dependent respiratory burst (ADRB) of neutrophils in response to parasites. Both assays allow the precise characterization of antibody functionality.

Results

Based on the Fraunhofer IME technology platform, several hmAbs directed against the merozoite surface have been isolated and characterized successfully. Recombinant antibodies or antibody fragments produced in plants (*Nicotiana benthamiana*), bacteria (*Escherichia coli*) or in human embryonic kidney cells (HEK 293) were shown to bind recombinant parasite antigens strongly and specific parasite staining was demonstrated by immunofluorescence microscopy. The functionality of these antibodies was confirmed using the two complementary assays discussed above.

Conclusion

Our novel antibody isolation technology platform allows the rescue, heterologous production and characterization of multiple hmAbs against *Plasmodium* antigens and can be extended in a versatile manner by including further donor material. The GMP production facility available in the institute will allow the production of clinical-grade antibody candidates for human clinical trials.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Rolf Fendel
Tel: +49 241 6085-11322
rolf.fendel@ime.fraunhofer.de

Dr. Torsten Klockenbring
Tel: +49 241 6085-11461
torsten.klockenbring@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Immunofluorescence assay showing the specific binding of isolated hmAbs against merozoite surface membranes.

Figure 2: The BD Influx High Speed Sorter allows the isolation of specific B-cells to facilitate the efficient isolation of hmAbs.

REDUKTION DER STÄRKEVERZUCKERUNG IN KALTGELAGERTEN KARTOFFELKNOLLEN

REDUCING THE COLD SWEETENING OF POTATOES DURING COLD STORAGE

Hintergrund und Ziele

Die Produktion der beliebten Veredlungsprodukte der Kartoffelknolle (z. B. Chips und Pommes Frites) verlangt eine ganzjährige Lagerung der Knollen, durch die die Qualität der Kartoffeln deutlich leiden kann. Um die Anwendung von Keimhemmungsmitteln (Mitosehemmstoff Chlorpropham) bei der Lagerung von Verarbeitungssorten zu vermeiden, erfolgt die Lagerung bei niedrigen Temperaturen (4 °C), was eine Anhäufung von reduzierenden Zuckern durch Verzuckerung der Stärke bewirkt. Bei Frittierprozessen entsteht dann durch die Maillard-Reaktion zwischen diesen Zuckern und Aminosäuren eine Vielzahl von heterozyklischen Verbindungen, die sogenannten Melanoidine, welche in braunen, bitter schmeckenden Produkten sowie in der Bildung der gesundheitsabträglichen Substanz Acrylamid resultieren. Ziel ist es daher, eine Reduktion des Gehaltes an reduzierenden Zuckern zu erreichen, um so die Bildung bitterer bzw. gesundheitsabträglicher Substanzen zu verhindern.

Projektbeschreibung

Die biochemischen Prozesse des Stärkeabbaus bis hin zu den reduzierenden Zuckern sind weitgehend bekannt und können an mehreren Stellen des Stoffwechselweges beeinflusst werden. Einen Angriffspunkt bietet die kälteinduzierbare saure, vakuoläre Invertase (svI bzw. β -Fructofuranosidase), die für die Hydrolyse von Saccharose in die reduzierenden Zucker Glucose und Fructose verantwortlich ist.

Ferner führt die Inaktivierung des Enzyms α -glucan-water dikinase (GWD) zu einem verlangsamten Abbau der Stärke und somit zu einer deutlichen Reduktion der Stärkeverzuckerung in kältegelagerten Knollen. Beide Gene (svI, GWD) sollen mithilfe einer als TILLING bezeichneten Methode inaktiviert werden. Hier wird eine chemische Mutagenese mit modernen Screening-Techniken kombiniert, um so inaktive Allele der Zielgene zu erzeugen und zu identifizieren.

Ergebnisse

Da zu Projektbeginn lediglich die cDNA-Sequenzen der Zielgene bekannt waren, wurden zunächst ihre genomischen Sequenzen bestimmt, zum Screening geeignete Genabschnitte identifiziert und zielführende Kreuzungseltern für die Herstellung der „TILLING-Populationen“ ausgewählt.

Die so erstellten Populationen konnten durch direkte Sequenzierung der ausgewählten Bereiche der Zielgene untersucht und neue, inaktive sowie voraussichtlich wenig aktive svI- und GWD-Allele identifiziert werden.

Fazit

Für beide Zielgene konnten mehrere vielversprechende Mutationen nachgewiesen werden, die aufgrund ihrer Natur (Stopcodon oder Splice-Stellen) eine inaktivierende Wirkung auf die Merkmalausprägung haben. Diese wurden züchterisch weiterbearbeitet und dienen nun zur Etablierung von neuen Hochleistungssorten mit reduzierter Stärkeverzuckerung während der Kaltlagerung.

Auftraggeber / Sponsor

BIOSOL – Forschungskoooperation Fraunhofer IME – Max Planck Institut für Pflanzenzüchtung



Background and aims

Potato-based products such as chips and fries are prepared from tubers that may need to be stored for up to a year before use, causing a significant loss of quality. To avoid the use of germination inhibitors such as chlorpropham the tubers are chilled to 4 °C for storage, which promotes the saccharification of starch and the accumulation of reducing sugars. During frying, the Maillard reaction between sugars and amino acids leads to the formation of various heterocyclic compounds known as melanoidins, resulting in brown, bitter-tasting products and the formation of the harmful substance acrylamide. One of our main objectives was therefore to reduce the content of reducing sugars thus preventing the formation of these harmful and bitter-tasting substances during processing.

Approach

The mechanism of starch degradation leading to the formation of reducing sugars is widely known and can be targeted at several steps. One possible intervention point is β -fructofuranosidase, also known as the cold-inducible acidic vacuolar invertase (SVI), which is responsible for the hydrolysis of sucrose to the reducing sugars glucose and fructose.

Inactivation of the enzyme α -glucan water dikinase (GWD) also reduces the rate of starch degradation and thus inhibits saccharification in chilled tubers. We attempted to inactivate the corresponding genes using a method known as TILLING, in which chemical mutagenesis is combined with modern screening techniques to identify inactive target gene alleles.

Results

Only cDNA sequences representing the target genes were available at the start of the project, so the corresponding genomic sequences were identified and suitable crossing parents were found to establish the TILLING populations. These populations were then screened by sequencing selected regions of the target genes, facilitating the identification of inactive or less active alleles representing SVI and GWD.

Conclusion

For each of the target genes, we have already detected several promising mutations, some of which (stop codon and splice site mutations) are likely to reduce enzyme activity. These alleles have been used for breeding and may facilitate the production of new high-yielding varieties in which cold sweetening is reduced during cold storage.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Jost Muth
Tel: +49 241 6085-12051
jost.muth@ime.fraunhofer.de

Prof. Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 251 8322-302
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Potato TILLING population in the greenhouse.

ZELLFREIES BY2-LYSAT: EIN ALTERNATIVES EUKARYOTISCHES *IN VITRO* TRANSLATIONSSYSTEM

BY2 CELL-FREE LYSATE: AN ALTERNATIVE EUKARYOTIC *IN VITRO* TRANSLATION SYSTEM

Hintergrund und Ziele

Die zellfreie Bioproduktion ist ein wichtiges Werkzeug für die biochemische Charakterisierung von Proteinen. Im Vergleich zu den herkömmlichen zellbasierten Expressionsmethoden bietet die zellfreie *in vitro* Proteinsynthese zahlreiche Vorteile wie einen geringeren Zeitaufwand, die Möglichkeit zur Expression toxischer Proteine, den Einbau artifizierender Aminosäuren oder die flexible Wahl der Reaktionsbedingungen. Während prokaryotische Extrakte höhere Proteinausbeuten liefern, versprechen eukaryotische Extrakte eine höhere Löslichkeit vieler Proteine sowie die Möglichkeit zur Expression korrekt gefalteter multimerer Proteine. Die meistgenutzten eukaryotischen Extrakte werden aus Weizenkeimen oder Kaninchen-Retikulozyten hergestellt. Extrakte bzw. Lysate aus verschiedenen Zelltypen können unterschiedliche zelluläre Bestandteile und Co-faktoren enthalten, welche die Proteinexpression sowie die Faltung und Modifizierung von Proteinen steigern. Je nach Zielprotein können unterschiedliche Systeme von Vorteil sein. Ausgehend von Tabak-BY2-Zellkulturen sollte daher ein alternatives kostengünstiges und effizientes System etabliert werden.

Projektbeschreibung

Zur Bestimmung der optimalen Voraussetzungen für die Herstellung des zellfreien Lysates wurden unterschiedliche Bedingungen für Wachstum und Prozessierung der BY2-Zellen getestet. Die Qualität der BY2-Lysate (BYL) wurde durch Vergleich mit einem kommerziellen Weizenkeimextrakt (WGE) überprüft. Hierfür wurden unterschiedliche Modellproteine im Batch- sowie im Dialyseverfahren produziert.

Ergebnisse

BY2-Lysate wurden aus BY2-Zellen in der exponentiellen Wachstumsphase hergestellt. Nach der Protoplastierung (Figure 1) wurden die Vakuolen, welche einen Großteil der Nukleasen und Proteasen enthalten, durch Zentrifugation über einen Percoll-Gradienten entfernt (Figure 2). Die hieraus resultierenden

sogenannten Miniprotoplasten (Figure 3) wurden unter Verwendung der Stickstoff-Dekompressionsmethode aufgeschlossen. Endogene Nukleinsäuren wurden durch Behandlung des Lysats mit einer Nuklease abgebaut, um die Translation anderer Proteine auf ein Minimum zu reduzieren.

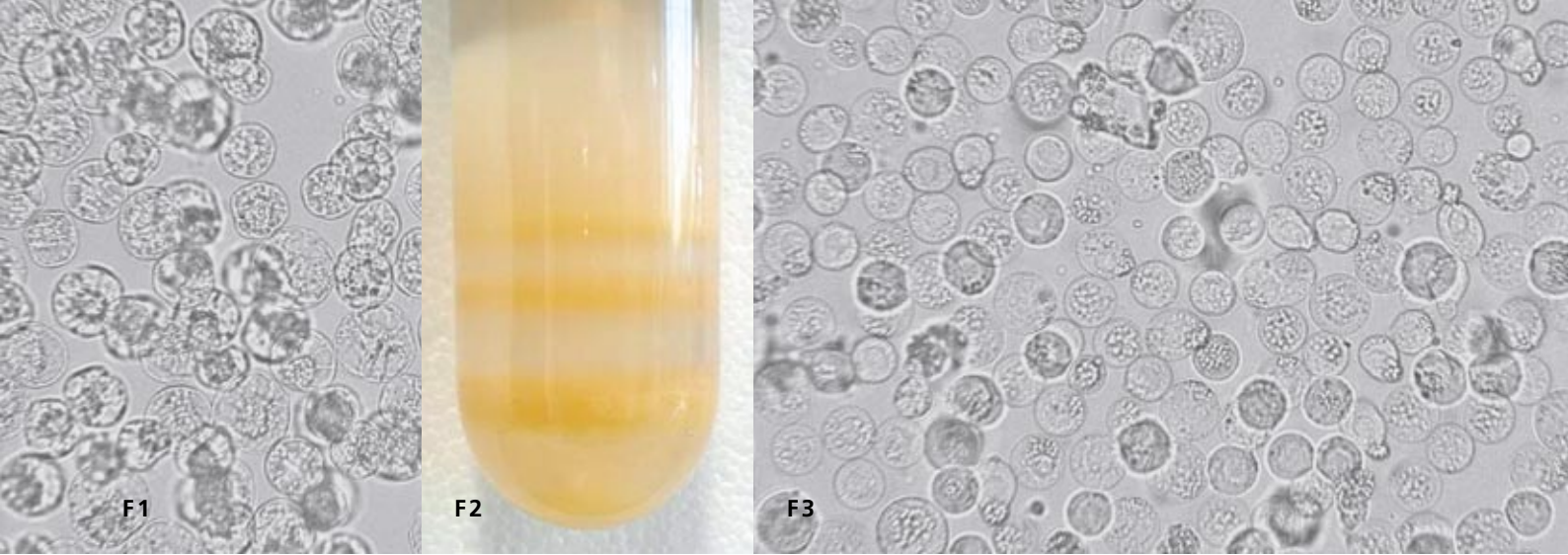
Die Expression des Reportergens eYFP führte bei BYL und WGE zu vergleichbaren Proteinmengen im Batch- (~60 µg eYFP/mL) sowie im Dialyseverfahren (~250 µg eYFP/mL). Für die Luciferase-Gene aus Leuchtkäfer und Seefeder konnten im Vergleich zum WGE sogar um 30 % höhere Produktausbeuten im BYL erzielt werden.

Fazit

Basierend auf BY2-Zellen konnte ein alternatives eukaryotisches *in vitro* Translationssystem etabliert werden, welches mit einem kommerziellen WGE konkurrieren kann. Das entwickelte BYL liefert sowohl im Batch- als auch im Dialyseverfahren vergleichbare Proteinausbeuten. Im Vergleich zum WGE ist die Herstellung des BYL deutlich weniger zeitaufwändig. Zudem lassen sich BY2-Zellen leicht genetisch modifizieren und bieten somit weitere Optimierungsmöglichkeiten.

Auftraggeber / Sponsor

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)
(FKZ 0315942)



Background and aims

Cell-free transcription and translation is an important tool which is used to investigate the biochemical characteristics of proteins. The advantages of cell-free *in vitro* protein synthesis over traditional cell-based expression methods include the shorter process times, the ability to express toxic proteins and incorporate artificial amino acids, and the flexible reaction conditions. Prokaryotic cell-free extracts provide larger amounts of target protein, whereas eukaryotic cell-free extracts increase the solubility of many proteins and favor the correct folding of multi-domain proteins. The most widely-used eukaryotic systems are prepared from wheat germ extracts and rabbit reticulocyte lysates. Different extracts contain diverse cellular components and co-factors that enhance protein expression, folding and modification in different ways, with the choice depending on the particular target protein. Therefore we aimed to establish an inexpensive and efficient alternative system based on tobacco BY2 cells.

Approach

By investigating different conditions for BY2 cell growth and processing, we were able to determine the requirements for optimal lysate preparation. The performance of the BY2 lysates was tested by comparing them to a commercial wheat germ extract for the production of different model proteins expressed in batch and dialysis mode.

Results

The BY2 lysate was prepared from BY2 cells in the exponential growth phase. After protoplastation (Fig. 1) the vacuoles, which contain large amounts of nucleases and proteases, were removed by Percoll gradient centrifugation (Fig. 2). The resulting so-called mini-protoplasts (Fig. 3) were disrupted using a N₂ minibomb. Nuclei and non-disrupted cells were removed by centrifugation. Endogenous nucleic acids were destroyed by

nuclease treatment to minimize the translation of endogenous transcripts. We expressed the reporter gene eYFP in BY2 lysates and wheat germ extracts, yielding comparable amounts of protein in batch mode (~60 µg eYFP/mL) and dialysis mode (~250 µg eYFP/mL). However, when the expressed luciferase from firefly (FFLuc) and *Renilla reniformis* (RRLuc), the BY2 lysates achieved 30% higher yields than the wheat germ extracts.

Conclusion

We have developed an alternative eukaryotic *in vitro* translation system based on BY2 cell lysates, which can compete with a commercial wheat germ extract. Our BY2 lysates provided comparable or higher target protein yields in batch and dialysis reactions. The preparation of the BY2 lysates was less time consuming than wheat germ extracts, and BY2 cells can be manipulated by genetic engineering enabling further optimization using molecular approaches.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Matthias Buntru
Tel: +49 241 6085-12262
matthias.buntru@ime.fraunhofer.de

Dipl. Biol. Holger Spiegel
Tel: +49 241 6085-12461
holger.spiegel@ime.fraunhofer.de

Prof. Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 241 6085-11050
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Figure 1: BY2 protoplasts before evacuation.

Figure 2: Vacuoles removed by Percoll gradient centrifugation.

Figure 3: Evacuated BY2 protoplasts.

AUTOMATISIERTE TIERISCHE ZELLKULTUR

AUTOMATED ANIMAL CELL CULTURE

Hintergrund und Ziele

Tierische Zellkulturen, darunter vor allem diejenige mit Chinese Hamster Ovary (CHO) Zellen, repräsentieren den „Goldstandard“ bei der Herstellung von komplexen Glykoproteinen wie zum Beispiel monoklonaler Antikörper (mAk) für therapeutische Anwendungen. Um den steigenden Anforderungen des Marktes gerecht zu werden, müssen allerdings Entwicklungs- und Produktionsprozesse im Hinblick auf Zeit und Kosten weiter optimiert werden. Die Bereitstellung robuster, hochproduzierender Elite-Zelllinien ist ein mit hohem Screeningaufwand verbundener und daher besonders arbeits- und zeitintensiver Schritt im Prozessablauf. Ziel des Projektes war daher eine weitgehende Automatisierung der bei der Zelllinienentwicklung anfallenden Arbeitsschritte beginnend bei der Kultivierung über die Monoklonalisierung bis hin zur Selektion.

Projektbeschreibung

Am Beispiel der Zelllinienentwicklung zur Produktion eines humanen, tumorantigenspezifischen monoklonalen Antikörpers (mAk-H10) sollte zunächst eine weitgehende Automatisierung der arbeitsaufwendigen Schritte Monoklonalisierung und Screening von rekombinanten, antikörperproduzierenden CHO-DG44-Zellen realisiert werden. In Zusammenarbeit mit dem Hersteller Tecan wurde dazu eine maßgeschneiderte, automatisierte Pipettier- und Inkubationsplattform mit einem integrierten Cellavista Bildgebungssystem (Innovatis/Roche) zur sterilen Kultivierung und Analyse von tierischen Zellkulturen entwickelt und in Betrieb genommen. Das flexible Konzept der Plattform ermöglicht neben Kultivierung und Screening von Produktionszelllinien unter anderem auch die automatisierte Durchführung von „Limiting Dilutions“ bei der Generierung monoklonaler Antikörper mittels Hybridoma-Technologie. Die Identifizierung und das Backtracking von Klonen erfolgen über eine barcodegestützte Steuerungs- und Archivierungssoftware.

Ergebnisse

Im Rahmen der Entwicklung einer hochproduzierenden mAk-H10-Zelllinie wurde die Plattform zur Herstellung und zum Screening von über 1200 aus einer Transfektion mit einem mAb-H10-Expressionsvektor stammenden, monoklonalen CHO-Zelllinien verwendet. Die Verteilung und Kultivierung der Zellen erfolgte automatisch über die Pipettiereinheit in 96-Well-Mikrotiterplatten. Die Identifizierung tatsächlich monoklonaler Zelllinien erfolgte über ein Backtracking unter Verwendung einer softwaregestützten Analyse der über den gesamten Kultivierungsprozess mittels eines Cellavista Imaging-Systems generierten Bilddaten. Die Produktivität der Zelllinien wurde über die Messung der Antikörperkonzentration in den Kulturüberständen im Mikrotiterplattenformat über Oberflächenresonanz-Spektroskopie auf einem Biacore T200-Instrument bestimmt. Das automatisierte Verfahren ermöglichte so die Selektion von seltenen und von zufälligen Integrationsereignissen abhängigen hochproduzierenden CHO-Zelllinien, die im Rahmen von manuellen Screeningansätzen mit geringerem Durchsatz nicht zuverlässig identifiziert werden können.

Fazit

Die erfolgreich umgesetzte Entwicklung und Implementierung einer Automatisierungslösung für die tierische Zellkultur ermöglicht die effiziente Etablierung und Selektion von neuen, hochproduzierenden Zelllinien für Forschung und Industrie, die Optimierung von Produktionsprozessen sowie einen erhöhten Durchsatz bei der Herstellung von monoklonalen Antikörpern durch Hybridoma-Technologie.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer MAVO Projekt „Zellpharm“



Background and aims

Animal cell cultures, especially Chinese hamster ovary (CHO) cells, are regarded as the gold standard for the manufacture of complex glycoproteins such as therapeutic monoclonal antibodies. However, to meet the demands of the pharmaceutical industry, process development and production must be optimized in terms of time and costs. The generation of robust, high-yielding elite cell lines involves labor-intensive and time-consuming screening during cell line development. The aim of this project was therefore to automate cultivation, monoclonalization and selection procedures.

Approach

We used CHO-DG44 cells expressing the tumor-specific human monoclonal antibody H10 as model of cell line development to automate the time-consuming screening procedures required during cultivation, monoclonalization and selection. In close cooperation with TECAN, we designed and implemented a customized liquid-handling and incubation robot combined with a Cellvista Imaging System (Innovatis/Roche) for sterile cultivation, screening and the analysis of cell cultures. The flexible concept of the platform allows both the cultivation and screening of production cell lines, and also carries out the limiting dilutions which are necessary for the generation of monoclonal antibodies using hybridoma technology. Clones were identified and tracked using barcode-assisted control and data-acquisition software.

Results

A high-yielding CHO cell line was selected by screening more than 1200 individual monoclonal cell lines derived by transfecting DG44 cells with the H10 expression vector. Seeding and cultivation were achieved by automatic pipetting into 96-well microtiter plates. The original monoclonal cell lines were identified by backtracking using software-assisted analysis of microscope images acquired automatically throughout

the cultivation process by the Cellvista Imaging System. The productivity of the cell lines was determined by measuring antibody concentrations in the culture supernatants, using surface plasmon resonance spectroscopy (BIAcore T200). This automated procedure facilitated the selection of rare high-yielding CHO cell lines resulting from random integration events, which cannot be identified reliably by lower-throughput manual screening approaches.

Conclusion

The successful development and implementation of an automated solution for animal cell cultivation allows the efficient development and selection of high-yielding elite cell lines for research and industry, as well as process optimization and the high-throughput generation of monoclonal antibodies by hybridoma technology.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Nicole Raven
Tel: +49 241 6085-12412
nicole.raven@ime.fraunhofer.de

Dipl.-Ing. Silke Quaglia
Tel: +49 241 6085-13011
silke.quaglia@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Automated animal cell culture platform with sterile housing.

Figure 2: Liquid handling within the automated cultivation and screening platform.

OPTIMIERUNG VON RESSOURCENVERWERTUNG UND BIOMASSEPRODUKTION IN NUTZPFLANZEN

IMPROVEMENT OF RESOURCE-USE EFFICIENCY AND PRODUCTIVITY IN CROP PLANTS

Hintergrund und Ziele

Die effiziente Bewirtschaftung landwirtschaftlich genutzter Flächen wird durch die wachsende Weltbevölkerung und die damit einhergehende Urbanisierung und alternative Nutzung vorhandener Flächen, z. B. zur Bioenergie-Gewinnung, immer wichtiger. Ein starker Fokus der gegenwärtigen Forschung liegt hierbei auf der Entwicklung von Nutzpflanzen mit verbesserter Produktivität. Da die Fixierung von Kohlenstoff in der Photosynthese einen wesentlichen Einfluss auf die Produktion von Biomasse besitzt, ist eine Steigerung dieses Stoffwechselvorganges ein erfolgversprechender Ansatz. In C3-Pflanzen führt die mit der Photosynthese konkurrierende Photorespiration zu Verlusten bei der Energiegewinnung durch CO₂-Fixierung. Ein verringerter Entzug von Kohlenstoffäquivalenten aus dem Calvinzyklus durch die Photorespiration konnte durch parallele Expression von Enzymen des bakteriellen Glykolatwegs in *Arabidopsis thaliana* bereits belegt werden und führte zu einer verbesserten CO₂-Fixierung und zu einem Biomassezuwachs. In diesem Projekt zeigen wir einen optimierten Ansatz zur spezifischen Reduktion der Photorespiration in Tabak und Kartoffel mittels der koordinierten Expression der Untereinheiten der bakteriellen Glykolat-Dehydrogenase als Fusionsprotein.

Projektbeschreibung

Die Glykolat-Dehydrogenase (GlcDH) ist das erste Enzym des bakteriellen Glykolatmetabolismus. Sie besteht aus drei Untereinheiten (D, E und F), so dass ein Transfer in Pflanzen die Einführung von drei Genen erfordert. Um eine koordinierte Expression von D, E und F zu gewährleisten und die Pflanzen-Transformation zu vereinfachen, wurden die betreffenden cDNAs *glcD*, *glcE* und *glcF* in einem kombinierten Konstrukt durch flexible Linkerregionen verbunden. Das rekombinante Polyprotein DEFp wurde zunächst im Bakterium *E. coli* exprimiert, um seine Aktivität zu verifizieren. Die funktionelle Analyse von DEFp *in planta* erfolgte zunächst in Tabak und nachfolgend in Kartoffel, einer Modellpflanze für Source-Sink-Interaktionen. Transgene Pflanzen wurden hinsichtlich ihres

Photosynthese- und Produktivitätsphänotyps unter unterschiedlichen Umweltbedingungen analysiert.

Ergebnisse

Die Funktionalität des DEFp-Polyproteins konnte durch Bestimmung der *in vitro*-Aktivität und Komplementationsversuche mit *E. coli*-Stämmen ohne GlcDH-Aktivität bestätigt werden. Auch *in planta* war das rekombinante Polyprotein aktiv. Die Produktion von DEFp in Plastiden von transgenen Tabak- und Kartoffelpflanzen führte zu reduzierter Photorespiration, verbesserter CO₂-Verwertung und zu einem veränderten Kohlenstoffmetabolismus. Linien mit starker DEFp-Proteinproduktion und -Aktivität zeigten eine bis zu dreifach erhöhte Akkumulation von Saccharose und Stärke im Blattgewebe sowie in Tabak eine verbesserte Nährstoffverwertung unter Stressbedingungen (Figure 1). Zusätzlich spiegelte sich die verbesserte Energiegewinnung im Blattgewebe der Kartoffel quantitativ auch in den Sink-Geweben durch eine verstärkte Knollenproduktion von bis zu 2,5-facher Biomasse wider (Figure 2).

Fazit

Durch die optimierte Einführung eines rekombinanten GlcDH-Fusionsproteins konnten die Effizienz der Kohlenstoffassimilation und in der Folge die Biomasseproduktion von Nutzpflanzen signifikant gesteigert werden. Der Vorteil unseres Ansatzes liegt in der vereinfachten Transformation und seiner Anwendbarkeit in einem breiten Sortenspektrum.

Auftraggeber / Sponsor

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), Förderungsschwerpunkt Genomanalyse im Biologischen System Pflanze (GABI) (FKZ 0315038C)



F1



F2

Background and aims

The combination of global population growth, an emerging bioenergy economy and the loss of agricultural land to urbanization means that greater agricultural productivity is required per hectare of land to meet demands for food. Although boosting productivity is a significant challenge in agricultural research, one straightforward approach is to enhance the efficiency of photosynthesis and thus the amount of fixed carbon. In C3 plants, photorespiration reduces the efficiency of photosynthesis by removing carbon from the Calvin cycle. Therefore, reducing metabolic flux through the photorespiration pathway would increase resource use efficiency, promote growth and increase yields. Greater CO₂ fixation and biomass production have previously been achieved in *Arabidopsis thaliana* by introducing the bacterial glycolate catabolic pathway to bypass photorespiration. We have improved this approach to increase photosynthetic carbon fixation in tobacco and potato crops by introducing a glycolate dehydrogenase multi-subunit fusion protein.

Approach

Glycolate dehydrogenase (GlcDH), the first enzyme in the bacterial glycolate catabolic pathway, comprises three subunits (D, E and F). Therefore, the introduction of GlcDH into plants requires multiple gene transfer. To ensure balanced expression in plants and to facilitate the transformation, the three corresponding bacterial genes (*glcD*, *glcE* and *glcF*) were fused via flexible linkers to create a multi-subunit expression construct. The activity of the engineered GlcDH polyprotein (DEFp) was initially verified by expression in *Escherichia coli*, and then by expression in the plastids of tobacco and potato plants to test the impact of DEFp on carbon metabolism, photosynthetic efficiency and biomass accumulation.

Results

The DEFp protein demonstrated GlcDH activity when expressed in *E. coli* by complementing glycolate oxidase mutants. Stable DEFp expression was achieved in the plastids of transgenic tobacco and potato plants, and the recombinant polyprotein achieved a significant impact on carbon metabolism. Transgenic tobacco lines with the highest DEFp levels and GlcDH activity contained up to 3-fold more sucrose and transitory starch, resulting in a significant increase in biomass and improved nutrient use efficiency under stress conditions (Fig. 1). The higher carbohydrate levels produced in potato leaves were utilized by the sink capacity of the tubers, resulting in up to 2.5-fold greater tuber yields (Fig. 2). This increase correlated with improvements in photosynthetic capacity and a reduction of metabolic flux through the photorespiration pathway.

Conclusion

We have established a powerful approach to increase the biomass of crop plants by improving photosynthetic carbon fixation using a glycolate dehydrogenase multi-subunit fusion protein.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Greta Nölke
Tel: +49 241 6085-12452
noelke.greta@ime.fraunhofer.de

Prof. Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 241 6085-11050
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Figures 1 and 2: Improved biomass and tuber yield in DEFp transgenic tobacco (F1) and potato (F2). The DEFp producing lines (right) are shown compared to wild-type controls (left).

OPTIMIERUNG VON TRANSIENTER PROTEIN-EXPRESSION IN TABAK DURCH MODELLE

OPTIMIZING TRANSIENT PROTEIN EXPRESSION IN TOBACCO USING PREDICTIVE MODELS

Hintergrund und Ziele

Die transiente Expression rekombinanter, biopharmazeutischer Proteine in Pflanzen bietet einige Vorteile, wie z. B. eine schnelle Produktion und hohe Expressionslevel. Allerdings schwanken diese zwischen verschiedenen Produktionsansätzen deutlich. Um robustere Prozesse zu entwickeln, ist es daher wichtig, die Parameter zu identifizieren, die für diese Schwankungen verantwortlich sind. Prozesse, die unter Berücksichtigung dieser Parameter entwickelt werden, haben zudem den Vorteil, dass sie besser mit den behördlichen Richtlinien zur Produktion von Biopharmazeutika in Einklang stehen. Des Weiteren kann für zukünftige Kampagnen die Grundlage eines „Quality-by-Design“-Ansatzes geschaffen werden, indem die verantwortlichen Parameter quantitativ durch vorhersagefähige Modelle beschrieben werden.

Projektbeschreibung

Der quantitative Einfluss verschiedener Parameter auf die Schwankung der Expressionslevel wurde ermittelt. Dabei wurde nach den Grundsätzen der statistischen Versuchsplanung (engl.: Design of Experiments, DoE) vorgegangen (Figure 1). Dies ermöglichte die koordinierte Zusammenfassung der erhobenen Daten in vorhersagekräftigen Modellen, die zur Optimierung der Pflanzenanzucht und zur Auswahl geeigneter Biomasse beitragen.

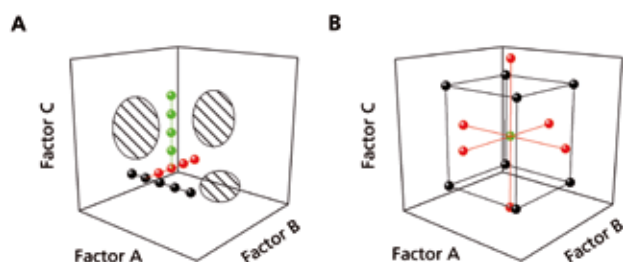


Figure 1: Comparison between a common one-factor-at-a-time (OFAT) design (A) and a DoE approach (B). The coverage of the design space is better when the DoE approach is chosen.

Ergebnisse

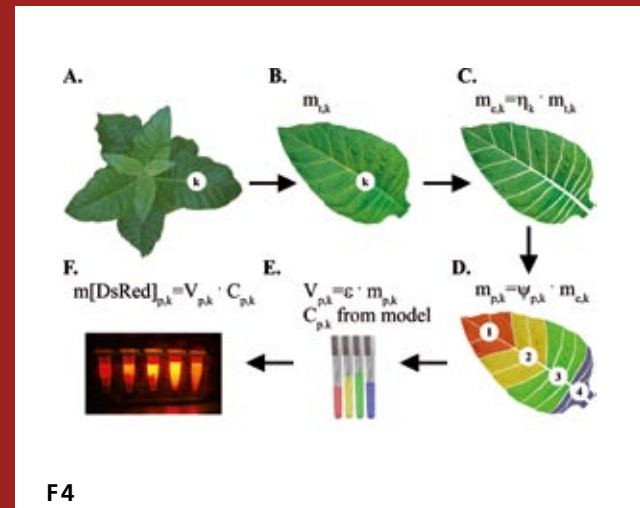
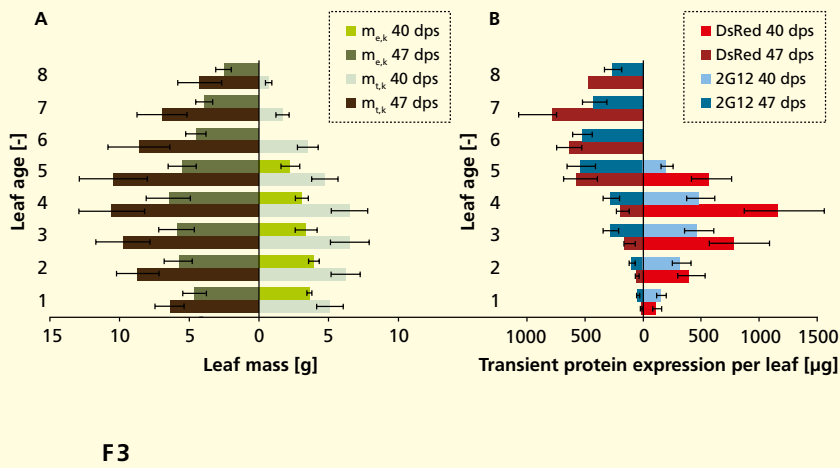
Inkubationstemperatur, Pflanzen- und Blattalter zeigten den größten Einfluss auf die Expressionslevel. Die Blattposition und die OD_{600nm} der zur Infiltration verwendeten Agrobakterien sind Parameter von nachrangiger Wichtigkeit. Die optimale Inkubationstemperatur war abhängig vom Zielprotein und betrug etwa 25 °C im Falle des Fluoreszenzproteins DsRed und etwa 22 °C für den monoklonalen Antikörper 2G12 (Figure 2). Die Proteinexpression nahm mit abnehmendem Blattalter zu und zeigte einen klaren Quellen-Senken-Übergang zwischen Blatt 4 und 5 (Figure 3). Im Vergleich zu alten Pflanzen (47 Tage alt zum Zeitpunkt der Ernte) wiesen junge Pflanzen (40 Tage alt zum Zeitpunkt der Ernte) höhere biomassespezifische Expressionsraten auf. Dieser Unterschied wurde bei alten Pflanzen jedoch durch die höhere Gesamtbiomasse ausgeglichen. In der Summe sind junge Pflanzen dennoch vorteilhaft, da sie (i) weniger Ressourcen für die Anzucht benötigten und (ii) eine größere Anzahl von Produktionszyklen pro Jahr erlauben, was den möglichen jährlichen Profit erhöht.

Fazit

Mit Hilfe einer statistischen Versuchsplanung können vorhersagekräftige Modelle für die transiente Proteinexpression erstellt werden. Sie erlauben die Optimierung der Herstellung von Biopharmazeutika in Pflanzen und damit eine Senkung der Produktionskosten.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer-Zukunftsstiftung



Background and aims

The transient expression of recombinant biopharmaceutical proteins in plants has several advantages, including rapid production and high expression levels. However, it is also thought to suffer from inter-batch variation, so identifying the parameters responsible for variation will help to design more robust processes that are more likely to achieve regulatory approval. Furthermore, describing the parameters in a quantitative manner using predictive models will set the standard for a Quality-by-Design (QbD) approach in future production campaigns.

Approach

The parameters responsible for the variability of transient protein expression were determined using a Design-of-Experiments (DoE) approach (Fig. 1). This resulted in the creation of quantitative predictive models that allowed the optimization of plant growth conditions and the selection of optimal biomass for processing.

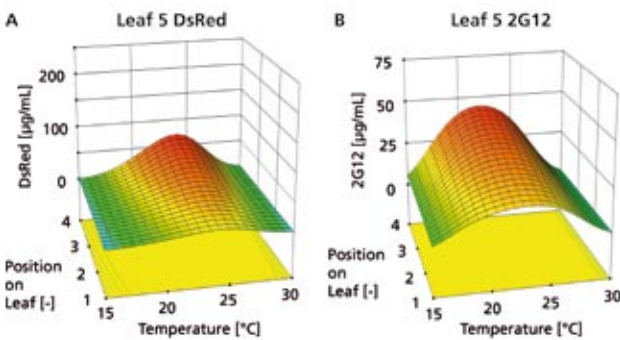


Figure 2: Comparison of expression levels for DsRed (A) and 2G12 (B) according to the incubation temperature and the position on the leaf.

Results

The parameters with the strongest impact on expression levels were the incubation temperature, the age of the plant and the age of the leaf, whereas the position within the leaf and the optical density of the infiltrated *Agrobacterium tumefaciens* suspension was less important. The optimal temperatures differed according to the target protein (~25°C for the fluorescent protein DsRed and ~22°C for the monoclonal antibody 2G12; Fig. 2). Protein expression levels were highest in young leaves and there was a clear sink-source transition between leaves 4 and 5 (Fig. 3). Young plants (40 days old at harvest) achieved higher biomass-specific expression levels than old plants (47 days at harvest) but this was offset by the higher total biomass of the older plants. Economically, the young plants were best because the growth period was shorter and thus (i) production was less expensive in terms of inputs, and (ii) the production cycle was shorter allowing more batches to be processed each year thus increasing the annual profit.

Conclusion

Predictive models of transient protein expression can be compiled from data generated in a DoE approach to allow the optimization of biopharmaceutical protein production in plants and thus reduce overall production costs.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 241 6085-13061
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Johannes Buyel
Tel: +49 241 6085-13162
johannes.buyel@ime.fraunhofer.de

Figure 3: Biomass (A) and transient protein expression (B) in leaves of young and old tobacco plants.

Figure 4: Sample preparation and analysis workflow.

HERSTELLUNG MIKROBIELLER MASTER-ZELLBÄNKE

MICROBIAL MASTER-CELL BANKS FOR BIOPHARMACEUTICAL PRODUCTION

Hintergrund und Ziele

Reproduzierbarkeit und Robustheit von Herstellungsprozessen sind zentrale Forderungen zur Sicherstellung der Qualität von Arzneimitteln. Bei der Herstellung von Biopharmazeutika mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen bedeutet dies, dass für den gesamten Lebenszyklus des Produkts, also u. U. für einen Zeitraum von 30 Jahren, sichergestellt werden muss, dass das Inokulum als Startpunkt und quasi Ausgangsmaterial in gleichbleibender Qualität verfügbar ist.

Dies wird in der Regel durch ein gestaffeltes System von sog. Master- und Working Cell-Banks erreicht, d. h. mit unter kontrollierten und dokumentierten Bedingungen gelagerten und charakterisierten Kryokulturen.

Bis zu einem bestimmten Punkt in der Entwicklung eines biopharmazeutischen Wirkstoffs sind sog. Research Cell-Banks ausreichend, aber schon in den Experimenten der präklinischen Phase, auf deren Ergebnisse später zurückverwiesen wird, ist die Verfügbarkeit qualifizierter Zellbanken wünschenswert. Spätestens für die ersten GMP-Prozesse zur Herstellung von Material für klinische Prüfungen sind diese erforderlich.

Projektbeschreibung

Um unseren Kunden bei der Prozessentwicklung und der Durchführung von Kampagnen zur Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen für präklinische und frühe klinische Phasen einen weiteren Baustein der GMP-gerechten Herstellung von Wirkstoffen anbieten zu können, wurden Verfahren und Protokolle entwickelt, die die Herstellung von Master-Zellbanken mit 250-1000 Vials im Reinraum des IME ermöglichen.

Ergebnisse

Generische Anweisungen für die Herstellung von Zellbanken in den Expressionswirten *Escherichia coli*, *Pichia pastoris* und *Hansenula polymorpha* wurden erzeugt und auf ihre Handhabbarkeit überprüft. Diese Anweisungen können unter Einbeziehung projektspezifischer Details (Medien, Temperaturen, Wachstumsbedingungen) angepasst oder auf andere Expressionsorganismen erweitert werden.

Die Durchführung der Herstellungsschritte von der Vereinzelung über die Kultivierung bis hin zur Abfüllung der Zellbank wird in einem Reinraum der Klasse C durchgeführt. Auswahl, Wareneingang sowie Verwendung von Rohstoffen und Verbrauchsmaterialien und zudem alle Herstellungsschritte erfolgen analog zur GMP-gerechten Herstellung von Wirkstoffen und werden entsprechend dokumentiert. Alle offenen Herstellungsschritte werden in einer Sicherheitswerkbank unter kontinuierlichem Partikelmonitoring durchgeführt. Einfrieren und Lagerung erfolgen in qualifizierten Geräten. Die Charakterisierung der Zellbanken kann auf Wunsch erfolgen.

Fazit

Verfahren und Protokolle zur Herstellung mikrobieller Master-Zellbanken wurden etabliert, und das Portfolio von Entwicklungsschritten rund um die GMP-gerechte Herstellung von biopharmazeutischen Wirkstoffen wurde um dieses Angebot erweitert.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer-Zukunftsstiftung



F 1

Background and aims

Manufacturing processes must be reproducible and robust to ensure the consistent quality of drugs. For biopharmaceuticals produced using genetically-modified organisms, this means that the quality of the inoculum (used as the raw material and starting point for production) must also remain consistent throughout the lifecycle of the product – potentially over a period of 30 years.

This is usually achieved by developing a hierarchical system of cryocultures known as Master and Working Cell Banks. The characterization, handling, storage and documentation of these cultures fall under the rules of Good Manufacturing Practice (GMP).

During the development of an active biopharmaceutical ingredient, so-called Research Cell Banks generated and stored under normal laboratory conditions are sufficient until pre-clinical data are used to draw conclusions for the clinical development phases. At this point, the use of qualified Master and Working Cell Banks becomes mandatory.

Approach

In order to provide our customers with another building block for their biopharmaceutical development programs and (GMP) production campaigns during the preclinical and early clinical phases, we have developed processes, routines and documentation for the production of microbial Master Cell Banks comprising 250–1000 vials in the IME cleanroom suite.

Results

Generic instructions for the production of *Escherichia coli*, *Pichia pastoris* and *Hansenula polymorpha* cell banks have been written and the corresponding unit operations have been established and tested. These instructions can be adapted rapidly to accommodate project-specific requirements (e.g. different media, growth conditions and temperatures) or different expression hosts.

The manufacturing steps from clonalization via propagation to formulation and vial filling are carried out in a class C cleanroom. Selection and handling of raw materials and consumables and all manufacturing operations are treated and documented according to Fraunhofer IME GMP standards. All open handling steps are carried out on a biological safety bench with continuous particle monitoring. Freezing and storage is carried out using qualified equipment. Cell bank characterization can also be carried out upon request.

Conclusion

Procedures and protocols have been established for the manufacture of microbial Master Cell Banks and these have now been added to the Fraunhofer IME portfolio of services offered to customers in the biopharmaceutical industry.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Stephan Hellwig

Tel: +49 241 6085 -13071

stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Cryostorage of samples.

ENTWICKLUNG UND EINFÜHRUNG EINES PFLANZEN-PRODUZIERTEN IMPFSTOFFES GEGEN GELBFIEBER

DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF A PLANT-PRODUCED VACCINE AGAINST YELLOW FEVER

Hintergrund und Ziele

Gelbfieber bildet weltweit immer noch eine erhebliche Bedrohung für die Gesundheit vieler Menschen, wobei die größte Gefährdung von den Hauptverbreitungsgebieten in Südamerika und Afrika ausgeht.

Der derzeit verfügbare Impfstoff ist zwar wirksam, führt jedoch oft zu unangenehmen Nebenwirkungen. Deshalb sind die Entwicklung und die Einführung eines optimierten Impfstoffes von Interesse. Ziel eines vom CMB in Zusammenarbeit mit Bio-Manguinhos, Brasilien, durchgeführten Projektes ist es daher, einen sicheren und effektiven Impfstoff zu entwickeln, der auf einem rekombinanten, in Pflanzen produzierten Antigen des Gelbfieber-Virus basiert.

Projektbeschreibung

Verschiedene Strategien für das Target-Design, die Target-Expression sowie für dessen Formulierung werden derzeit verfolgt und evaluiert.

Die Targets werden exprimiert als:

1. eigenständige lösliche Proteine,
2. Fusionsproteine mit Lichenase, einem thermostabilen bakteriellen Enzym, als Fusionspartner,
3. virusähnliche Partikel, die die Targets außen auf ihrer Oberfläche tragen.

Um die Immunogenität der gereinigten Targets zu erhöhen, wurden diese mit verschiedenen Adjuvantien versetzt. Neben dem Targetdesign und den Formulierungsstrategien wurden Reinigungsprozesse entwickelt, die eine höhere Ausbeute der Impfstoffkandidaten erlauben.

Ergebnisse

Alle Targets wurden auf Immunogenität und Stabilität getestet und anschließend zur Durchführung von Belastungsstudien an Tieren unserem Partner Bio-Manguinhos zur Verfügung gestellt. Dort stellten sich nach einer Reihe von *in vitro*- und *in vivo*-Tests zwei Gelbfieber-Vakzinkandidaten als vielversprechend heraus. Diese wurden zur Durchführung weiterer Untersuchungen ausgewählt.

Fazit

Die Entwicklung eines sicheren, effektiven und in Pflanzen produzierten rekombinanten Impfstoffs gegen Gelbfieber ist ein vielversprechender Ansatz zur Überwindung von Nachteilen bei einigen geläufigen Impfstoffen. Die Arbeiten in diesem Projekt werden weitergeführt mit dem Ziel, zusätzliche Verbesserungen bei den Reinigungsstrategien und -prozessen zu erreichen. Die Bestimmung der Immunogenität von zwei weiteren Targets ist derzeit ebenfalls in Arbeit. Am Ende eines erfolgreich abgeschlossenen Entwicklungsprozesses könnte die kommerzielle Verwertung eines weiteren pflanzenproduzierten Produkts durch unseren Projektpartner Bio-Manguinhos stehen.

Auftraggeber / Sponsor

Bio-Manguinhos, Brasilien



Background and aims

Yellow fever is an acute viral hemorrhagic disease which is considered a significant global health threat due to frequent major outbreaks in South America and Africa.

The current vaccine is effective but has severe side effects, so there is great interest in the development of safer alternatives. The goal of this Fraunhofer CMB project is to develop a safe and effective vaccine based on a recombinant, plant-derived Yellow fever virus antigen, in partnership with the Brazilian company Bio-Manguinhos.

Approach

Several approaches have been established for the design, expression and formulation of target antigens, including:

1. Stand alone soluble proteins
2. Genetic fusions with lichenase, a thermostable bacterial enzyme
3. Virus-like particles displaying antigens on their outer surface.

We have developed purification strategies to extract candidate vaccines from large amounts of plant biomass, and the immunogenicity of the purified targets has been enhanced by formulation with different adjuvants.

Results

All target antigens and formulations were evaluated to determine their immunogenicity and stability before delivery to Bio-Manguinhos for animal challenge studies. After a series of *in vitro* and *in vivo* tests, the two most promising yellow fever vaccine candidates were selected for further development.

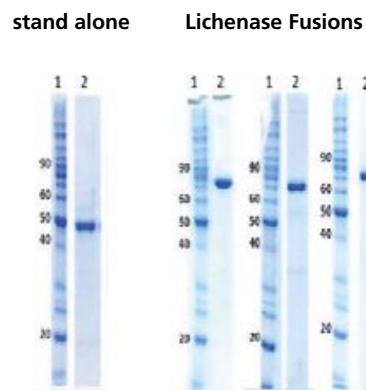


Figure 1: Purified plant-derived Yellow fever virus antigen produced as a standalone molecule and as a fusion with lichenase. Lanes: 1 – molecular weight markers, 2 – denatured/reduced Yellow fever virus antigen (1 mg/lane).

Conclusion

The development and deployment of a safe, efficacious recombinant yellow fever vaccine produced in plants is a promising approach to overcome the drawbacks of the current vaccine. We are currently refining our antigen purification strategies and have commenced immunogenicity testing with two additional targets. Further progress may result in the commercialization of the next, plant-derived vaccine by Bio-Manguinhos.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Vidadi Yusibov
 Tel: +1 302 369-3034
 vyusibov@fraunhofer-cmb.org

Figure 2: An automated plant growth racking system in Fraunhofer CMB's GMP-accredited pilot manufacturing facility.

INSEKTENANTENNEN ALS *IN SITU*-BIOSENSOREN

INSECT ANTENNAE AS *IN SITU* BIOSENSORS

Hintergrund und Ziele

Insektenantennen gehören zu den empfindlichsten Sinnesorganen zur Wahrnehmung von Düften, die die Evolution hervorgebracht hat. Mit diesen „Biosensoren“ können Insekten geringste Konzentrationen spezifischer Duftmoleküle registrieren und so über große Distanzen zielgerichtet z. B. Nahrung oder Geschlechtspartner finden. Bereits einzelne Moleküle führen zu elektrischen Impulsen, die zur Verarbeitung an das Gehirn weitergeleitet werden. Bei der Elektroantennografie wird die Summe der Nervenimpulse in der Insektenantenne mit feinen Elektroden zu einem Verstärkersystem geleitet und aufgezeichnet. Insekten nehmen von den komplexen Duftgemischen in der Natur nur die Substanzen wahr, die eine eindeutige Information übermitteln. Wenn bekannt ist, welche Substanzen von den Fühlern registriert werden, können dementsprechende biomimetische Messinstrumente gebaut werden, um diese flüchtigen Substanzen zu detektieren.

Projektbeschreibung

Zur Aufklärung und Auftrennung der komplexen Gemische, wie sie unter Umweltbedingungen vorkommen, wurde von drei Doktoranden (Figure 1) in einem Teilprojekt des LOEWE-Schwerpunkts AmbiProbe „Massenspektrometrische *in situ*-Analytik für die Problembereiche Gesundheit, Umwelt, Klima und Sicherheit“ die Elektroantennografie (EAD) mit der Gaschromatografie (GC) und Massenspektrometrie (MS) in einer tragbaren Einheit gekoppelt. Die Anbindung an die Massenspektrometrie ermöglichte einen enormen zusätzlichen Informationsgewinn über die Zusammensetzung der Substanzen. In Kombination mit einer neuartigen Anreicherungs-methode (Needle Trap Device, NTD) konnte das Detektionslimit des Systems weiter gesenkt werden. Mit dem erwähnten tragbaren Gerät wurden *in situ* (direkt vor Ort, in Weinbergen in Freiburg und Geisenheim bzw. im Kriminaltechnischen Institut Wiesbaden) Proben gemessen. Da unterschiedliche Insekten verschiedene morphologische und sensorische Eigenschaften bzgl. ihrer Antennen besitzen, wurde ein Screening einzelner

Insektenarten für die Erschließung spezifischer Anwendungsgebiete durchgeführt.

Ergebnisse

Mit den Antennen des Bekreuzten Traubenwicklers (*Lobesia botrana*, Figure 2), der im Weinbau großen Schaden anrichtet, aber mit Hilfe von Duftstoffdispensern bekämpft werden kann, wurden Pheromonkonzentrationen gemessen (3 ng/m^3), die 100-fach unterhalb der Nachweisgrenze kommerzieller Analysergeräte liegen. Die gewonnenen Ergebnisse werden weiterhin für die Entwicklung von biomimetischen Sensoren mittels Halbleiter-Gas-Sensoren (SOMMSA-Technik) genutzt. Des Weiteren wurde das tragbare Gerät verwendet, um Insektenarten zu identifizieren, die Substanzen wahrnehmen, die dem Betäubungsmittelgesetz unterliegen. Die gewonnenen Erkenntnisse zielen auf die Entwicklung von Drogensensoren auf Basis von Insektenverhalten ab.

Fazit

Die in diesem Projekt erfolgreich durchgeführte Entwicklung eines tragbaren NTD-GC-MS/EAD-SOMMSA-Gerätes ermöglicht zukünftig vielfältige Einsätze in den Bereichen Sprengstoff-, Drogen- und Leichendetektion, biologischer Pflanzenschutz, Waldbrandfrühwarnsysteme sowie medizinische Diagnostik.

Auftraggeber / Sponsor

Hessisches Ministerium für Wissenschaft und Kunst, Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz (LOEWE)



F1



F2

Background and aims

Insect antennae are highly-sensitive organs that can detect minimal amounts of particular scent molecules over enormous distances allowing the insects to home in on food or mates with great efficiency. Even single molecules can induce electric impulses that are transmitted to the brain for further processing. In electroantennography, the sum of nerve impulses in the insect antenna is directed from fine electrodes towards an amplifier, where the signals are recorded. Among the complex bouquet of scents in nature, insects sense only those substances that transmit unambiguous information. Therefore, if the particular substances that insects can perceive are known, corresponding biomimetic measuring devices can be constructed to detect and measure them.

Approach

To investigate the complex mixture of scent molecules found under environmental conditions, three PhD students working on a subproject of the LOEWE focus group AmbiProbe (Mass Spectrometric *in situ* Analytics for the Problem Areas of Health, Environment, Climate and Security) coupled electroantennography (EAD) to gas chromatography (GC) and mass spectrometry (MS) in a mobile unit (Fig. 1). The inclusion of mass spectrometry provided additional useful data concerning the composition of the scent molecules. In combination with a novel enrichment method (Needle Trap Device, NTD) it was possible to lower the detection limit of the system even further. The novel mobile device was also used to measure samples *in situ* (in the field, in the vineyards around Freiburg and Geisenheim, as well as in the Kriminaltechnisches Institut Wiesbaden). Because the morphological and sensory characteristics of antennae differ among insect species, individual species were screened to find the most suitable antennae for specific applications.

Results

The European grapevine moth (*Lobesia botrana*) is a significant vineyard pest but mating can be disrupted using pheromone dispensers (Fig. 2). We found that the antennae from this species could measure pheromone concentrations 100-fold lower (3 ng/m^3) than the detection limit of commercially-available instruments. Our results were used to develop biomimetic sensors based on semiconductive gas sensors (SOMMSA technique). The mobile device was also used to identify insect species with the ability to perceive substances governed by German narcotics legislation. Our results could therefore be used to develop drug sensors based on insect behavior.

Conclusion

Our mobile NTD-GC-MS/EAD-SOMMSA device has diverse potential applications in the fields of explosives, drugs, forensics, plant protection, forest fire warning systems and medical diagnostics.

Contact / Ansprechpartner

Fraunhofer Projektgruppe „Bio-Ressourcen“, Gießen
 Matthias Schott
matthias.schott@agr.uni-giessen.de

Tina Gasch, Christoph Wehrenfennig
 Tel: +49 641 9939 517

Prof. Dr. Andreas Vilcinskas
 Tel: +49 641 9939 - 500
andreas.vilcinskas@ime.fraunhofer.de

Figure 1: PhD students in front of the NTD-GC-MS/EAD-SOMMSA device.

Figure 2: *Lobesia botrana* antenna in an EAD holder.

GEMEINSAME & INDIVIDUELLE IMMUNABWEHR – IHR ZUSAMMENHANG IN *TRIBOLIUM CASTANEUM*

COMMUNAL AND INDIVIDUAL IMMUNITY – THEIR RELATIONSHIP IN *TRIBOLIUM CASTANEUM*

Hintergrund und Ziele

Im Nov. 2012 hat die Volkswagenstiftungsnachwuchsgruppe von Dr. Gerrit Joop (JLU-Gießen) in den Laboren des IME-BR ihre Arbeit aufgenommen.

Tribolium-Käfer geben Quinone in ihre Mehlumgebung ab. Quinone zeigen breite antimikrobielle Aktivität und werden daher als „externe“ Immunabwehr verstanden. Wir konnten zeigen, dass in *Tribolium castaneum* (Figure 1) die Quinonproduktion mit einem anderen Aspekt der internen Immunabwehr interagiert und dass die Abgabe zu hoher Quinonkonzentrationen einhergeht mit reduzierten Überlebenschancen für die Käferlarven. Im laufenden Projekt möchten wir ein tieferes Verständnis von Evolution und Funktionsweise der externen Immunabwehr erlangen. Unsere Schwerpunkte sind unter anderem die Fragen: (i) Kontrollieren die Käfer über die Quinonabgabe die mikrobielle Zusammensetzung in Umwelt und Darm und erhöhen darüber ihre Fitness? (ii) Was sind Gründe und Konsequenzen des Trade-offs zwischen externer Immunabwehr und anderen Aspekten von Immunität? (iii) Wie wird die Quinonproduktion reguliert? (iv) Ist diese externe Immunabwehr eine Gruppen-Immunabwehr? Mit diesem Projekt werden wir neue Einblicke in die Evolution der Immunabwehr gewinnen.

Projektbeschreibung

(i) Zunächst wurde ein 454-Screening der Bakterien und Pilze im Käfer durchgeführt. Parallel hierzu wurden Arten in Kultur genommen und identifiziert. Sobald wir bewerten können, wo diese kultivierten Arten gefunden werden, wird in Folgestudien getestet, ob die Mikroorganismen auf die externe Immunabwehr reagieren. (ii) Momentan arbeiten wir an der Frage, ob Parasiten die Immunabwehr der Käfer beeinflussen. Dies wird in der Folgestudie "Selective Pressure on Internal vs. External Immune Defence in *Tribolium castaneum* - Experimental Evolution Using a Microsporidian and a Fungal Parasite" untersucht. Mit einem korrelativen Ansatz testen wir, ob Unterschiede in der externen Immunabwehr mit Unterschieden

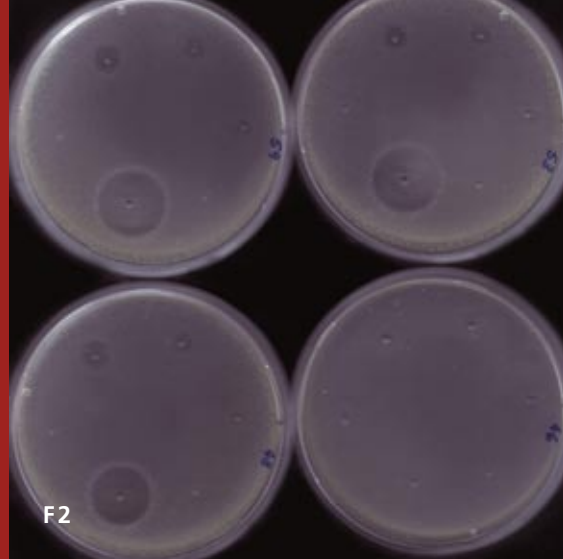
in anderen Aspekten der angeborenen Immunabwehr von Insekten einhergehen. (iii) Zudem betrachten wir verschiedene Aspekte der Immunregulation, zum Beispiel genetische und hormonelle, aber auch epigenetische Effekte. Insbesondere der letzte Aspekt wird in enger Kooperation mit der Gruppe von Prof. Andreas Vilcinskas stattfinden. (iv) Konzepte wie Verwandtenselektion und Spieltheorie helfen, die Evolution von sozialem Verhalten zu erklären. Wir testen, ob die Abgabe von Quinonen in die Umwelt ein soziales Verhalten zum Besten der Gruppe ist.

Ergebnisse

(i) Die Pilzflora von *T. castaneum* ist im Gegensatz zur bakteriellen Gemeinschaft vielfältiger. Erste Hemmhoftests zeigen jedoch die Hemmung einiger Isolate durch Quinone, aber nicht aller (Figure 2). Dies werten wir als erstes Anzeichen für eine quinonkontrollierte Mikrobenflora. (ii) Die Kutikula wird als erste Barriere betrachtet, die von Parasiten und Pathogenen überwunden werden muss. In rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen und histologischen Färbungen sehen wir einen Zusammenhang zwischen der Fähigkeit eines Käfers, Quinone zu produzieren, und der Struktur der Kutikula. (iii) Das Evolutionsexperiment, auf dem diese Evaluation aufbaut, wird im Mai 2013 nach 12 Käfergenerationen beendet werden. (iv) Quinone könnten in der Umwelt ein gemeinschaftliches Gut sein, das allen Populationsmitgliedern zur Verfügung steht. Da Larven und Puppen keine Quinone produzieren können, könnte dies auch eine Form von Brutpflege sein.

Auftraggeber / Sponsor

Volkswagenstiftung, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)



Background and aims

The University of Gießen Volkswagen Foundation Junior Research Group led by Dr. Gerrit Joop has been established at the TIG since November 2012, working in close collaboration with the Fraunhofer Group on Insect Biotechnology.

Tribolium beetles excrete quinones, which show broad antimicrobial activity and can be considered as an external immune defense. We have demonstrated a trade-off between the production of quinones and one component of the internal innate immune system in *T. castaneum* beetles (Fig. 1), and that the excretion of quinones comes at the cost of lower larval survival rates. Based on these findings, our project aims to investigate the evolution and function of external immunity in detail by addressing four major questions: (i) whether quinone excretion enhances beetle fitness by controlling microbial diversity in the flour and the beetle gut; (ii) the causes and consequences of the trade-offs between external immunity and innate immunity; (iii) the regulation of quinone production; and (iv) whether external immunity represents a communal trait that benefits groups of unrelated individuals. This project should also offer new insights into the evolution of immunity.

Approach

(i) We will initially screen bacteria and fungi present within the beetle by 454 screening and standard culture techniques, and once their presence and location is confirmed we will use them in follow-up studies to determine whether they respond to the quinone-based external defense system. (ii) We are currently investigating whether parasites influence immunity in the beetle, and in which direction. Further experiments will be carried out in our DFG-funded follow-up study. In a complementary series of experiments we will determine whether differences in the external defenses are matched by differences in other aspects of immunity. (iii) We will also evaluate different regulatory mechanisms such as genetic or hormonal regulation, but also epigenetic effects (the latter in collaboration with Prof. Vilcinskas). (iv) Concepts such as kin selection theory and

game theory will be used to explain the evolution of sociality and social behavior, particularly the secretion of quinones to the environment and whether this can be classified as a social behavior that benefits the group.

Results

(i) The fungal flora of *T. castaneum* is diverse whereas the bacterial community appears rather depleted. However, initial zone inhibition assays showed that some isolated bacteria *in vitro* are inhibited by quinones but others are not (Fig. 2), potentially indicating that the beetles control their microbiota. (ii) The cuticle is the first line of defense that needs to be crossed by parasites and pathogens. Raster electron microscopy and histological staining showed that the ability of a beetle to produce quinones correlates with the cuticle structure. (iii) The evolution experiment will run for 12 generations and will end in May 2013. (iv) The secretion of quinones into the environment may be a social behavior because it benefits community. Furthermore, larvae and pupae cannot produce quinones, so secretion by adults may represent a form of communal parental care to ward off harmful microbes.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Gerrit Joop

Tel: +49 641 9939-512

gerrit.joop@agrar.uni-gieBen.de

Figure 1: Tribolium castaneum, Raster electron microscopy image.
Figure 2: Inhibition zone assay of four isolated strains after application of beetle quinones.

EIN *DROSOPHILA*-MODEL FÜR ALTERUNG

A *DROSOPHILA* MODEL FOR AGING

Hintergrund und Ziele

Altersbedingte Krankheiten sind auf Grund der steigenden Lebenserwartung ein wachsendes Problem in industrialisierten Ländern. Das Alter ist ein Hauptrisikofaktor für Krankheiten wie Alzheimer, Parkinson, Schlaganfall, Diabetes Typ 2, Arteriosklerose und auch für viele Krebserkrankungen. Das Verständnis der molekularen Ursachen des Alterns ist die Grundlage für die Entwicklung von Therapien zur Behandlung von altersbedingten Krankheiten und für die Gesunderhaltung in einem langen Leben. In der Altersforschung haben Wirbeltier-Modelorganismen wie Maus oder Zebrafisch einen wertvollen Beitrag geleistet. Allerdings leben diese Tiere unter Laborbedingungen 3 Jahre und länger. Langlebige Versuche sind daher sehr zeitaufwändig und kostspielig. Im Gegensatz dazu ist die Taufliege *Drosophila melanogaster* klein, vermehrungsfreudig und mit ein paar Wochen Lebenszeit relativ kurzlebig.

Wir etablierten ein *Drosophila*-Testsystem für Alterung, um in High-Throughput-Drug-Screenings neue Gene und Substanzen zu identifizieren, die den Alterungsprozess positiv beeinflussen.

Projektbeschreibung

Um potentielle Anti-Aging-Substanzen zu finden, ist ein geeignetes Testsystem notwendig, in dem man Alterungsphänotypen induzieren kann. Wir etablierten ein solches Testsystem in *Drosophila*, indem wir die molekularen Mechanismen des humanen Progeroid-Syndroms Hutchinson-Gilford-Progerie-Syndrom (HGPS) in der Fliege imitieren. Bei HGPS-Patienten kommt es durch eine dominante Punktmutation im Gen für das Kernlaminprotein Lamin A zu einem beschleunigten alterungsähnlichen Krankheitsverlauf. Die betroffenen Kinder erscheinen gesund bei der Geburt, entwickeln allerdings bald Symptome, die typisch für die menschliche Alterung sind. Die betroffenen Kinder sterben in der Folge an Herzinfarkt oder Schlaganfall mit durchschnittlich 13 Jahren. In HGPS-Zellen wird die mutierte, dauerhaft farnesylierte Form von Lamin A, das sogenannte Progerin, in die Zellkernlamina eingebaut und

induziert dort abnorme, faltige Zellkerne, eine Änderung der Histonmodifikation sowie DNA-Schäden. Indem wir Progerin und andere farnesylierte Zellkernproteine in der Fliege exprimieren, haben wir ähnliche Alterungsphänotypen in *Drosophila* induziert.

Ergebnisse

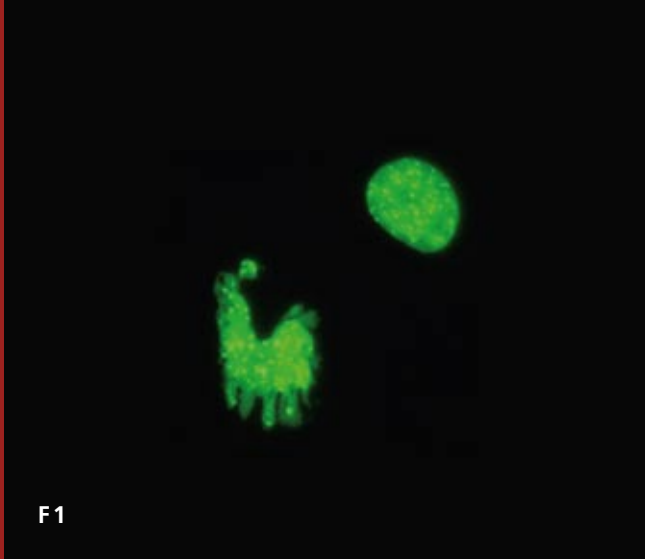
Wir können sowohl in Zellkultur als auch in adulten *Drosophila* alterungsähnliche Phänotypen induzieren, indem wir die farnesylierten Zellkernproteine Progerin, Lamin B und Kugelkern exprimieren. Neben den zellulären Alterungsphänotypen wie faltigen, lappigen Zellkernen (Figure 1 und 2), DNA-Schäden und Änderungen der Histon-Modifikationen sehen wir auch eine Verkürzung der Lebenszeit und alterungstypische motorische Einschränkungen in adulten *Drosophila*. Wir sind also in der Lage, alterungsspezifische Änderungen in einem Insekten-Modelorganismus vorzeitig auszulösen.

Fazit

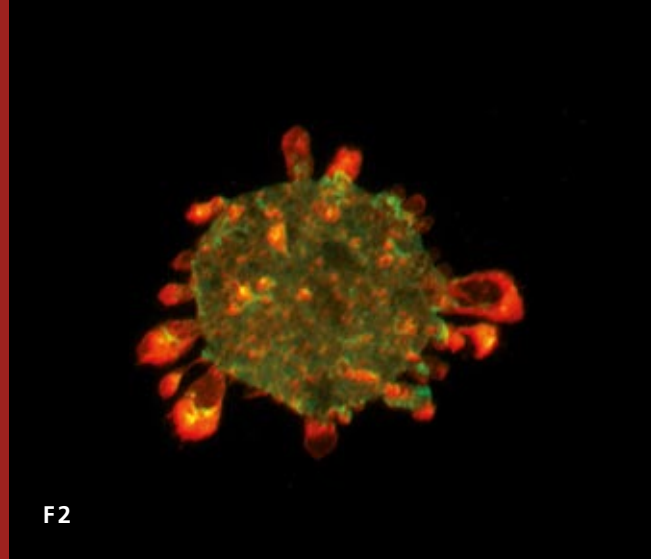
Aufgrund der hohen Konservierung genetischer und physiologischer Mechanismen zwischen Mensch und Insekt können Aspekte der menschlichen Alterung in der Taufliege *Drosophila melanogaster* nachgebildet werden. Die Verwendung von Insekten als Modellorganismen in High-Throughput-Drug-Screenings hat mehrere Vorteile. Vor allem der geringe Zeitaufwand bedingt durch die kurze Lebensdauer, die einfachen Haltungsansprüche und die dadurch reduzierten Kosten sprechen für die Verwendung von Insekten als Modellorganismen in der medizinischen Forschung und Arzneimittelentwicklung.

Auftraggeber / Sponsor

Hessisches Ministerium für Wissenschaft und Kunst,
LOEWE-Schwerpunkt: Angewandte Arzneimittelforschung



F1



F2

Background and aims

Age-related diseases are becoming more prevalent in industrialized societies because the average life expectancy is increasing. The aging process is one of the major risk factors in virtually all of the diseases common in developed societies, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, stroke, type 2 diabetes mellitus, arteriosclerosis, and most types of cancer. Understanding the detailed molecular events involved in normal aging and age-related diseases would allow the development of strategies and treatments that reduce their impact, thus improving human health and increasing longevity. Research using popular vertebrate model organisms such as mice and zebra fish has provided important insights into vertebrate aging. However, both species live for 3 years or longer under laboratory conditions, making longevity screens time-consuming and expensive. In contrast, the fruit fly *Drosophila melanogaster* is a small and prolific organism with a short lifespan of only few weeks. We have established a *Drosophila*-based test system for aging which allows us to carry out high-throughput screening for genes, chemicals and drug candidates that influence the aging process.

Approach

A test system suitable for the development of anti-aging therapies must allow the manipulation of the aging phenotype. We have modeled the molecular mechanisms underlying Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS), in which a dominant point mutation in the gene encoding Lamin A, a component of the nuclear lamina, causes a premature accelerated aging-like disorder in children. Affected children appear normal at birth, but soon develop symptoms and pathologies associated with normal human aging. Children with HGPS generally die from myocardial infarction or cerebrovascular accidents around the age of 13. In HGPS cells, the mutant form of Lamin A (called Progerin) is incorporated into the nuclear lamina and induces aging-like phenotypes such as lobulated wrinkled nuclei, histone modifications and DNA damage.

By expressing farnesylated nuclear proteins in fruit flies, we have attempted to induce similar aging-like phenotypes in *Drosophila*.

Results

We were able to induce aging-like phenotypes in cell cultures and in adult *Drosophila* flies by expressing the farnesylated nuclear proteins Progerin, Lamin B and Kugelkern. As well as the cellular aging phenotypes (Fig. 1 and 2), altered histone modification profiles and greater DNA damage, the lifespan of the flies was reduced, correlating with an early decline in age-dependent locomotor behavior. Thus we can model various aspects of human aging in an invertebrate model organism.

Conclusion

The genetic and physiological conservation between invertebrates and humans suggests that human aging can be modeled in flies, although anatomical differences mean that only a partial picture of the human aging process and aging-related diseases can be achieved. The use of model organisms such as the fruit fly facilitates rapid screening and thus significantly reduces the overall costs, allowing screens to be performed in whole animals as well as cell cultures, thus increasing drug discovery rates.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Annely Brandt
 Tel: +49 641 9939-502
 annely.brandt@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Nuclei of fibroblasts (green). The lower left nucleus shows a lobulated shape induced by progerin, whereas the wild-type nucleus (upper right) is round and evenly formed.

Figure 2: Nucleus of a cell that is transfected with the farnesylated nuclear protein Kugelkern (red) and Lamin A (green). Please note the anti-Kugelkern stained lobular protrusions of the nuclear envelope.

ANALYSE VON INSEKTENTRANSKRIPТОMEN

ANALYSIS OF INSECT TRANSCRIPTOMES

Hintergrund und Ziele

Durch die Produktion antimikrobieller Peptide (AMPs) verfügen Insekten über einen effektiven Schutz gegen potenziell pathogene Bakterien und Pilze. Wie in letzter Zeit zunehmend klar wird, beinhaltet die Hämolymphe jeder Insektenart typischerweise eine bemerkenswerte Vielzahl an AMPs, die auf Strukturebene sehr unterschiedlichen Klassen zuzuordnen sind. Die Erfassung des vollständigen AMP-Repertoires einer Insektenart mit Hilfe klassischer biochemischer Methoden ist deshalb kaum möglich. Ein wesentlich schnellerer und kosteneffizienterer Zugang besteht in der Transkriptomanalyse mit Hilfe neuer Sequenzierungstechniken (*next generation sequencing* – NGS). Mit dem Ziel, AMPs als Leitstrukturen für neue antimikrobielle Wirkstoffe aufzufinden, werden in der Fraunhofer-Projektgruppe Bio-Ressourcen die Transkriptome noch wenig untersuchter und zum Teil seltener Insektenarten vollständig sequenziert. Die damit anfallende enorme Datenmenge kann nur mit Methoden der Bioinformatik bewältigt werden.

Projektbeschreibung

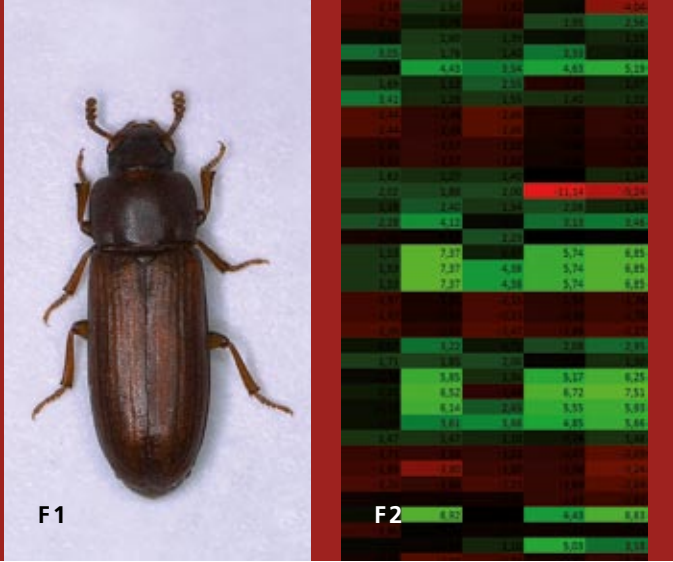
Zur Lösung dieser Aufgabe wurde eine Bioinformatikplattform etabliert, die ein beschleunigtes Auffinden antibakterieller Peptide ermöglicht. Als Basis dafür dient eine Kombination aus Hard- und Software, die eine Parallelisierung von Rechenschritten sowie das Bereitstellen umfangreicher und stets aktuell gehaltener lokaler Datenbanken erlaubt. Die eigentliche Analyse-Pipeline kombiniert sowohl grundlegende Programme wie z. B. BLAST, InterProScan und die Gene Ontology-Datenbank als auch eigene Anwendungen so miteinander, dass eine schnelle und effiziente Auswertung umfangreicher Datensätze durchgeführt werden kann. Das Zusammenführen der Analyseresultate durch eigene Programme eröffnet die Möglichkeit, die Auswerteroutinen jederzeit an eine veränderte Fragestellung anzupassen.

Ausblick

Die bisher aufgebaute Bioinformatikplattform wird fortlaufend durch das Einbinden zusätzlicher Analysetools erweitert, um eine vorläufige, automatisch erstellte Charakterisierung neuer AMP-Gene auf Sequenzbasis zu ermöglichen. Durch die angepasste *in silico*-Analyse können Kandidaten-AMPs gezielt ausgewählt und nach Darstellung in synthetischer oder rekombinanter Form biologisch charakterisiert werden.

Auftraggeber / Sponsor

Hessisches Ministerium für Wissenschaft und Kunst



Background and aims

Insects are protected against pathogenic bacteria and fungi by antimicrobial peptides (AMPs) produced in their hemolymph, but these peptides also show remarkable broad-spectrum activity against human pathogens. Recent evidence suggests that all insect species produce a large number of diverse AMPs which can be assigned to different classes based on their various structures. Therefore it is difficult to catalog the complete repertoire of AMPs from a given insect species using classic biochemical methods. Transcriptome analysis by next generation sequencing (NGS) is a much faster and more cost-efficient approach to access insect AMPs.

The Fraunhofer Bioresources Project Group aims to develop AMPs as chemical leads for new antimicrobials by sequencing the complete transcriptomes of rare and underinvestigated insect species and processing the enormous amounts of resulting data using sophisticated bioinformatics methods.

Approach

We have established a bioinformatics platform that allows AMPs to be identified more rapidly. The basis of this platform is hardware and software that permits the multithreading of programs and provides large and constantly updated databases. The virtual analysis pipeline interlinks fundamental resources such as BLAST, InterProScan and the Gene Ontology database with its own programs to achieve the rapid and efficient evaluation of extensive datasets, while maintaining the versatility to adapt analytical applications to novel challenges.

Outlook

The current bioinformatics platform will be enlarged continuously by integrating additional analysis tools that allow a temporary and automatic characterization of new AMP genes based on their sequence.

Candidate AMPs can be selected using this adapted form of *in silico* analysis and can then be prepared as synthetic or recombinant peptides for biological characterization.

Ansprechpartner / Contact

Dipl.-Biol. Rüdiger Lehmann

Tel: +49 641 9939-502

ruediger.lehmann@ime.fraunhofer.de

Prof. Dr. Andreas Vilcinskas

Tel: +49 641 9939-500

andreas.vilcinskas@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Red flour beetle (*Tribolium castaneum*).

Figure 2: Example of a gene expression value.

Figure 3: Pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*).

BIOKRAFTSTOFFE: PRODUKTION VON HEXANOL MIT CLOSTRIDIEN

BIOFUELS: HEXANOL PRODUCTION WITH CLOSTRIDIA

Hintergrund und Ziele

Der weltweite Energiebedarf steigt stetig. Schätzungsweise wird er bis 2030 um 44 % wachsen. Fossile Brennstoffe (Gas, Kohle, Öl) werden diesen Bedarf nicht decken können, da sie eine endliche Ressource darstellen. Auch ist ihre Nutzung mit hohen Emissionen an klimaschädlichen Treibhausgasen verbunden. Aus diesen Gründen gewinnt der Einsatz erneuerbarer Energien (z. B. Wind- und Solarenergie, Biomasse) immer mehr an Bedeutung. Für den Transportsektor sind Biokraftstoffe eine vielversprechende Alternative. Ziel dieses Projektes ist, die biotechnologische Produktion von länger-kettigen Alkoholen, welche sich aufgrund geringerer Korrosivität und höherer Energiedichte potentiell als Kraftstoffe eignen, zu etablieren. Sie bieten außerdem den Vorteil, dass bestehende Infrastrukturen weiterhin genutzt werden können.

Projektbeschreibung

Clostridien sind anaerobe, gram-positive, stäbchenförmige Bakterien. Sie wurden bereits zu Beginn des letzten Jahrhunderts für die Herstellung von Butanol und Aceton genutzt (Weizmann-Prozess). Die biotechnologische Produktion wurde später von kostengünstigeren, petrochemischen Verfahren abgelöst. Im Rahmen dieses Projektes werden Clostridien-Stämme zur nachhaltigen Produktion von Hexanol entwickelt. Dies erfolgt u. a. durch gezielte Modifikation des mikrobiellen Stoffwechsels. Dabei soll die Bildung von Hexanol durch Expression eines artifiziellen Biosyntheseweges ausgehend von den Stoffwechselintermediaten Acetyl-CoA und Butyryl-CoA ermöglicht werden. Unerwünschte Nebenproduktbildung soll reduziert und Stoffwechselengpässe sollen eliminiert werden. Neben der Auswahl geeigneter Enzyme ist auch deren Expression in einem ausbalancierten Verhältnis zueinander von Bedeutung.

Ergebnisse

Für die Produktion von Hexanol wurden zunächst eine 3-Ketoacyl-CoA-Thiolase, 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase, Trans-Enoyl-CoA-Reduktase sowie eine Aldehyd- und Alkohol-Dehydrogenase unter Kontrolle eines starken, konstitutiven Promotors heterolog in *Clostridium acetobutylicum* exprimiert. Als Stammhintergrund wurde eine degenerierte Mutante gewählt, welche die Fähigkeit zur Sporen- und Lösemittelproduktion verloren hat.

Nach 24-stündiger Kultivierung konnte neben Acetat, Butyrat und Butanol auch Hexanol im Kulturüberstand nachgewiesen werden (Figure 1). Die Analyse der Proben erfolgte mittels GC-MS.

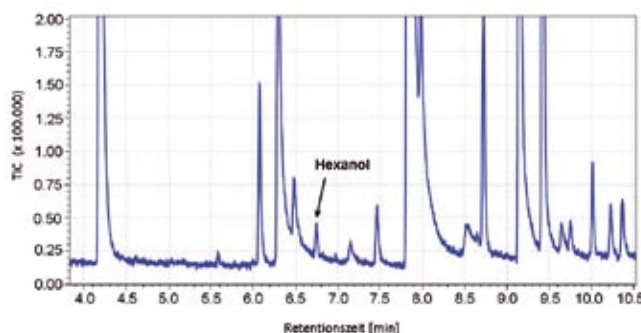


Figure 1: GC-MS Chromatogramm.

Fazit

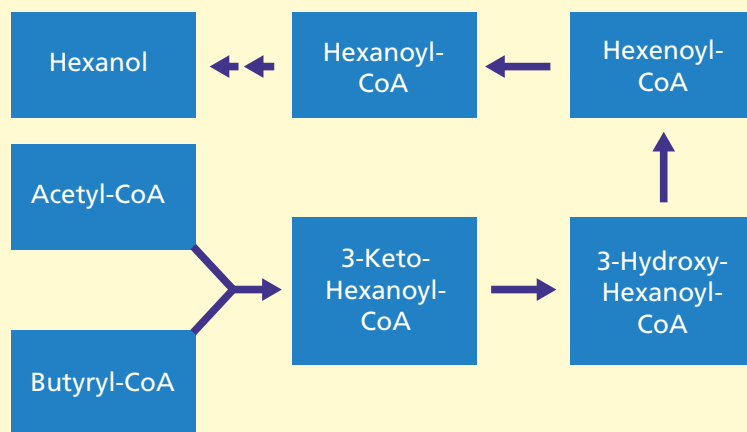
Die Ergebnisse zeigen erstmalig, dass die Produktion von Hexanol mit *Clostridium acetobutylicum* über den gewählten Ansatz möglich ist. Momentane Arbeiten befassen sich mit dem Metabolic Engineering zur Steigerung der Produktivität und mit der Übertragung dieses Ansatzes in weitere Clostridien-Arten.

Auftraggeber / Sponsor

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)



F2



F3

Background and aims

The global demand for energy is rising, and will increase another 44% by the year 2030. Fossil fuels (gas, coal and oil) will not be able to meet this demand because they are finite resources. They also produce significant greenhouse gas emissions, contributing to global warming and climate change. Renewable energy (wind, solar energy and biomass) is therefore becoming more important. Biofuels offer a promising alternative in the transport sector.

The aim of this project is to produce longer-chain alcohols using biotechnology. The higher energy content and lower corrosiveness of longer-chain alcohols makes them more suitable as fuels than ethanol and allows the existing fuel distribution infrastructure to be maintained.

Approach

Clostridia are anaerobic, Gram-positive, spore-forming bacteria that were used for the production of acetone and butanol at the beginning of the last century (Weizmann process). Later on the biotechnological production has been supplanted by more cost-effective petrochemical processes. In this project, Clostridia will be used for the sustainable production of hexanol. This can be achieved by targeted metabolic engineering approaches for example. The strategy to be employed herein is to express an artificial hexanol pathway using acetyl-CoA and butyryl-CoA as building blocks. Moreover the reduction of unwanted by-product formation and the elimination of bottlenecks will be addressed. The choice of appropriate enzymes and pathway balancing is important as well.

Results

The production of hexanol was achieved by expressing genes encoding 3-ketoacyl-CoA thiolase, 3-hydroxy-acyl-CoA dehydrogenase, trans-enoyl-CoA reductase, aldehyde dehydrogenase and alcohol dehydrogenase in *Clostridium acetobutylicum* under the control of a strong, constitutive promoter.

A degenerate mutant that is unable to form spores and solvents was chosen as the host strain.

After 24 hours of cultivation, hexanol was detected in the culture supernatants by GC-MS (Fig. 1). Byproducts included acetate, butyrate and butanol.

Conclusion

Our results show for the first time that hexanol can be produced by *Clostridium acetobutylicum* using the approach described above. Additional metabolic engineering experiments are currently underway in order to improve yields and also to transfer the engineered pathway to other *Clostridium* species.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Andrea Veit
 Tel: +49 241 6085-13271
 andrea.veit@ime.fraunhofer.de

Dr. Stefan Jennewein
 Tel: +49 241 6085-12121
 stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de

Figure 2: Agar plate with colonies of *Clostridium acetobutylicum*.

Figure 3: Hexanol biosynthesis pathway.

ANWENDUNG VON TARGETED PROTEOMICS IM METABOLIC ENGINEERING VON CLOSTRIDIEN

APPLICATION OF TARGETED PROTEOMICS FOR METABOLIC ENGINEERING OF CLOSTRIDIA

Hintergrund und Ziele

Einige Bakterien der Gattung *Clostridium* zeichnen sich durch ihr großes Potential in der biotechnologischen Produktion von erneuerbaren Kraftstoffen und Chemikalien aus. So wurde z. B. *C. acetobutylicum* bereits schon für die technische Herstellung von Aceton und Butanol verwendet. Neue Entwicklungen zielen auf den Einsatz von *C. autoethanogenum* für die Produktion von Ethanol auf Basis von Syngas. Für den technischen Einsatz von Mikroorganismen sind jedoch oftmals gezielte genetische Veränderungen sowie ein generelles gutes Verständnis der involvierten Biosynthesewege notwendig.

Projektbeschreibung

Für die Erstellung leistungsfähiger rekombinanter Fermentationsstämme ist eine qualitative und quantitative Analyse der heterolog exprimierten wie auch relevanter endogener Enzyme notwendig. Bis heute waren jedoch die Methoden zur quantitativen Analyse im Bereich des Metabolic Engineerings äußerst limitiert bzw. nicht existent. Aktuelle Arbeiten der Abteilung Industrielle Biotechnologie befassten sich somit mit der Etablierung einer Targeted Proteomics-Plattform, die eine schnelle qualitative und quantitative Beurteilung einer Vielzahl von Enzymen/Proteinen in einer Zelle erlaubt. Die Entwicklung der Targeted Proteomics-Methode erfolgte unter anderem für das Metabolic Engineering eines Clostridien-Stamms zur syngas-basierten Acetonfermentation.

Ergebnisse

Im Gegensatz zu *C. acetobutylicum* synthetisieren die syngas-verwertenden Clostridien wie z. B. *C. autoethanogenum* und *C. ljungdahlii* kein Aceton. Somit muss für die Acetonsynthese in diesen Organismen der Acetonbiosyntheseweg heterolog exprimiert werden. Die hierfür notwendigen Gene wurden aus *C. acetobutylicum* und *C. beijerinckii* kloniert. Zur heterologen Expression wurde ein Operon konstruiert. Zur Überprüfung der Funktionalität des konstruierten Operons und zur Analyse

der Expressionsstärke der Enzyme des Biosyntheseweges im Vergleich zu zelleigenen Kontrollproteinen (z. B. ribosomales Protein S10) wurde eine Methode zur absoluten Peptidquantifizierung (Targeted Proteomics) erstellt. Diese Multiplex-Methode ermöglicht im Vergleich zu Standardproteindetektions- und Quantifizierungsverfahren wie Immunoblot und ELISA eine präzise und reproduzierbare relative sowie absolute Quantifizierung multipler Proteine in einer Analyse mittels LC/MS/MS. Für den gezeigten Biosyntheseweg und die Kontrollproteine aus *Clostridium* wurde eine Methode mit neun Zielproteinen nach Durchmusterung zur Auffindung geeigneter proteotypischer Peptide entwickelt (Figure 3).

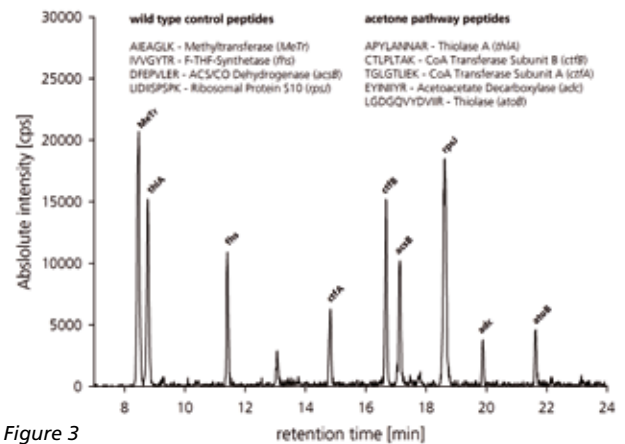


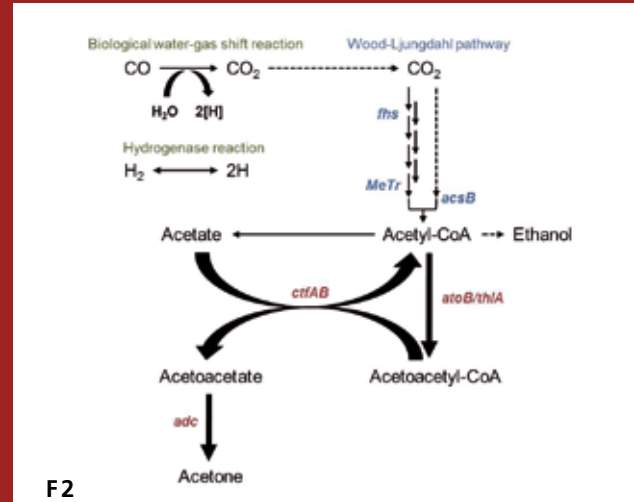
Figure 3

Fazit und Ausblick

Erstmals wurde eine Targeted Proteomics-Methode für die Analyse von hinsichtlich ihres Metabolismus modifizierten Clostridien entwickelt. Dieses leistungsstarke Werkzeug und die entwickelte Methode können auf jedes Expressionssystem übertragen werden. Nach Integration der Biosynthesegene des funktionalen Operons wird die Analyse der verschiedenen erzeugten Produktionsstämme durchgeführt und die Identifikation möglicher Engpässe unterstützt.

Auftraggeber / Sponsor

Das Projekt wurde aus Eigenmitteln finanziert.



Background and aims

Several species in the bacterial genus *Clostridium* are potentially useful for the production of renewable chemicals and fuels. *Clostridium acetobutylicum* has already been used for the commercial production of acetone and butanol, and syngas-fermenting species such as *C. autoethanogenum* and *C. ljungdahlii* have recently been developed to produce ethanol. The commercial use of micro-organisms often requires specific genetic modifications and a detailed understanding of the underlying metabolic pathways.

Approach

The engineering of efficient recombinant microbial strains requires qualitative and quantitative analysis of the relevant heterologous and endogenous enzymes, but few quantitative analysis methods have been reported. The IME Department of Industrial Biotechnology has introduced a targeted proteomics platform that will allow the absolute and parallel quantitation of multiple enzymes in a cell. The targeted proteomics platform was developed in the context of a metabolic engineering project focusing on the fermentation of syngas to produce acetone.

Results

Whereas *C. acetobutylicum* produces acetone naturally, syngas-fermenting species such as *C. autoethanogenum* and *C. ljungdahlii* do not. Therefore, acetone synthesis is achieved by transferring the biosynthesis pathway into the syngas-fermenting bacteria. The genes required for acetone biosynthesis have been isolated from *C. acetobutylicum* and *C. beijerinckii* and arranged into a synthetic operon. The functionality of the operon and the expression levels of the encoded enzymes were compared to endogenous reference proteins (such as ribosomal protein S10) by establishing an absolute quantitation method based on targeted proteomics using LC/MS/MS analysis. In contrast to well-established relative quantitation

methods such as immunoblotting and ELISA, our targeted proteomics approach enables the absolute parallel quantification of multiple target proteins simultaneously. For the acetone biosynthesis pathway, we simultaneously measured the absolute levels of nine proteins, including the pathway enzymes and *Clostridium* reference proteins (Figure 3).

Conclusion and outlook

We have established the first targeted proteomics method to support metabolic engineering in *Clostridium* spp. Targeted proteomics is an extremely powerful tool, which is universally applicable to other expression platforms. Following genomic integration of the acetone biosynthesis pathway, targeted proteomics will be used to identify bottlenecks, allowing us to develop strategies to improve the efficiency of metabolic engineering.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Stefan Jennewein
Tel: +49 241 6085-12121
stefan.jennewein@ime.fraunhofer.de

Dr. Bendikt Engels
Tel: +49 241 6085-12241
benedikt.engels@ime.fraunhofer.de

Figure 1: 3200 QTRAP LC/MS/MS system.

Figure 2: Simplified overview of the acetone biosynthesis pathway in *C. ljungdahlii* with CO as the carbon source. Selected *C. ljungdahlii* reference proteins (blue) and heterologous proteins (red), which control the metabolic pathway, are revealed by targeted proteomics.

Figure 3: LC/MS/MS analysis of the peptide mix following a tryptic digest of *C. ljungdahlii* crude protein extract and spiking with acetone pathway peptides obtained by screening for proteotypic peptides.

DAS MALARIAPROJEKT DER FRAUNHOFER-ZUKUNFTSSTIFTUNG

THE FRAUNHOFER FUTURE FOUNDATION MALARIA PROJECT

Hintergrund und Ziele

Malaria ist eine verheerende Infektionskrankheit, die durch Parasiten der Gattung *Plasmodium* hervorgerufen wird. Sie betrifft jährlich mehr als 200 Millionen Menschen weltweit und fordert über 700.000 Todesopfer, insbesondere Kinder in Entwicklungsländern. Bis heute sind keine Malariimpfstoffe auf dem Markt verfügbar, und existierende medikamentöse Behandlungen verlieren aufgrund zunehmender Resistenzbildung der Erreger ihre Wirksamkeit. Um den weltweiten Kampf gegen Malaria voranzutreiben, sind daher dringend neue Forschungsansätze erforderlich, die neben der Entwicklung innovativer Malariimpfstoffkandidaten ebenfalls deren GMP-gerechte Produktion sicherstellen.

Projektbeschreibung

Im Rahmen der internen, patentrelevanten Vorlauftforschung fördert die Fraunhofer-Zukunftsstiftung seit August 2009 das Malariaprojekt des Fh-IME Aachen. Durch die Beteiligung der Fraunhofer-Institute für Integrierte Schaltungen (Fh-IIS, Erlangen) und für Produktionstechnologie (Fh-IPT, Aachen) vereint das Projekt synergistisch Expertise aus den Lebenswissenschaften, den Ingenieurwissenschaften und der Medizintechnologie. Das Fh-IME ist hierbei für die Entwicklung neuartiger Malariimpfstoffkandidaten (aktiver Impfansatz) und therapeutischer Antikörper (passiver Impfansatz) gegen den gefährlichsten Malariaerreger *Plasmodium falciparum* verantwortlich. In Vorbereitung auf die klinische Testung werden am Fh-IME ebenfalls die notwendigen Prozesse für die GMP-konforme Produktion der Impfstoffkandidaten im mikrobiellen und pflanzlichen System entwickelt. Als Grundlage für die pflanzenbasierte Produktion wird in Kooperation mit dem Fh-IPT eine wegweisende Pflanzenproduktionsanlage errichtet. Diese Anlage wird die automatisierte Herstellung der Malaria-Impfstoffkandidaten und jedes anderen Biopharmazeutikums im Großmaßstab ermöglichen.

Ergebnisse

Innerhalb der ersten Projektphase gelang dem Fh-IME die Entwicklung neuartiger Mehrstufen-Malariimpfstoffkandidaten, die mit nur einem rekombinanten Fusionsprotein alle drei Phasen (präerythrozytäre, Blut- und geschlechtliche Phase) des Malariaerregers *P. falciparum* abdecken. In Bindungsstudien und Immunfluoreszenzassays konnte eine native Konformation der im Impfstoffkandidaten enthaltenen *Plasmodium*-Antigene bestätigt werden. Die Evaluierung der inhibitorischen Aktivität zeigte, dass Kaninchenantikörper, die spezifisch gegen die Impfstoffkandidaten generiert wurden, jede der drei *P. falciparum* Lebensphasen inhibieren. Ergänzend zu diesem aktiven Impfansatz wurde am Fh-IME eine neue Technologieplattform zur Generierung humaner monoklonaler Antikörper gegen Malariantigene etabliert (siehe S. 40), auf deren Basis erste inhibitorische Antikörper isoliert wurden.

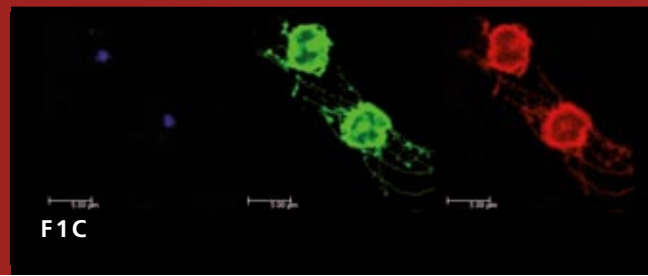
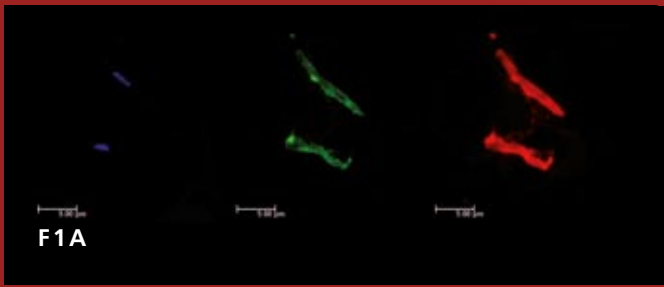
Nach erfolgreicher Projektevaluierung und Übergang in die zweite Projektphase in 2012 wird aktuell der GMP-Prozess für einen Impfstoffkandidaten im Hefesystem *P. pastoris* entwickelt. Ein weiterer GMP-Prozess wird für einen zweiten Kandidaten im pflanzenbasierten Expressionssystem (*N. tabacum* / *N. benthamiana*) folgen. Das Produktionsgebäude für die automatisierte Pflanzenproduktion wurde bereits am Fh-IME errichtet und wird bis Mitte 2014 vom Fh-IPT mit allen notwendigen Produktionsmodulen ausgestattet.

Fazit

Das Fraunhofer Malaria-Stiftungsprojekt verfolgt ein ganzheitliches Konzept zur Entwicklung neuartiger Malariimpfstoffkandidaten und GMP-gerechter Herstellungsprozesse in wegweisenden Produktionssystemen als Grundlage für zukünftige klinische Studien am Menschen.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer-Zukunftsstiftung



Background and aims

Malaria is a devastating infectious disease caused by parasites of the genus *Plasmodium*. It affects more than 200 million people worldwide and causes approximately 700,000 deaths every year, primarily children in developing countries. Effective vaccines against malaria are not yet available and anti-malarial drugs are becoming less effective because the parasites develop resistance. Urgent research is therefore required to address the global burden of malaria, ensuring not only the development of innovative malaria vaccine candidates but also economical cGMP-compliant production.

Approach

The Fraunhofer Future Foundation has promoted the malaria project since August 2009 through its internal, IP-focused funding program. The project combines synergistic expertise from the life sciences, engineering and medical technology fields through the participation of three Fraunhofer Institutes: the Fh-IME (Molecular Biology and Applied Ecology), Fh-IIS (Integrated Circuits) and Fh-IPT (Production Technology). The Fh-IME is responsible for generating novel malaria vaccine candidates (active vaccination approach) and therapeutic antibodies (passive vaccination approach) against the most dangerous malaria parasite *Plasmodium falciparum*. In preparation for clinical testing, the Fh-IME is also developing processes for cGMP-compliant production of the vaccine candidates in microbial and plant-based systems, the latter benefiting from a groundbreaking production facility currently under construction in cooperation with the Fh-IPT. This facility will permit the automated large-scale manufacturing of the malaria vaccine candidates and any other biopharmaceutical product that may be required in the future.

Results

During the first project phase, Fh-IME has succeeded in the development of novel multi-stage malaria vaccine candidates

covering all three of the *P. falciparum* life-cycle stages (pre-erythrocytic, blood and sexual) in a single recombinant fusion protein. Binding studies and immunofluorescence assays have confirmed that the combined *Plasmodium* antigens retain their native conformations. The evaluation of inhibitory activity revealed that rabbit antibodies specifically generated against the vaccine candidates inhibit each of the three *P. falciparum* life stages. In addition to this active vaccination approach, Fh-IME has established a novel technology platform for the generation of human monoclonal antibodies against malaria antigens (see p. 41), on the basis of which first inhibitory antibodies have been isolated.

After successful evaluation of the project and transition to the second project phase in 2012, a cGMP process based on the yeast *P. pastoris* is currently under development for one vaccine candidate. A further cGMP process will follow for a second candidate using the plant-based expression system (*N. tabacum* / *N. benthamiana*). The plant production facility has already been constructed and the equipment is currently being installed by Fh-IPT with operations to commence in 2014.

Conclusion

The Fraunhofer malaria project has introduced a unique holistic concept for the development of novel malaria vaccine candidates and cGMP-compliant manufacturing processes using groundbreaking production systems as a basis for the production of pharmaceutical products for future human clinical trials.

Contact / Ansprechpartner

Dipl.-Biol. Andreas Reimann
Tel: +49 241 6085-11272
andreas.reimann@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Immunofluorescence assays of different *P. falciparum* forms (A: sporozoite, B: schizont, C: activated gametocyte) with IME malaria vaccine candidate specific pAbs in red.

CHARAKTERISIERUNG & VALIDIERUNG PRÄDIKTIVER HUMAN-EXPERIMENTELLER SCHMERZMODELLE

CHARACTERIZATION & VALIDATION OF PREDICTIVE HUMAN EXPERIMENTAL PAIN MODELS

Hintergrund und Ziele

Schmerzen sind der häufigste Grund für einen Arztbesuch. Noch immer sind vor allem chronische Schmerzpatienten oft nur unzureichend therapiert. Schmerz ist nicht nur ein medizinisches, sondern auch ein sozioökonomisches Problem. Der globale Markt für Schmerzmittel ist daher ein Wachstumsmarkt, der 2009 auf über 50 Mrd. US \$ geschätzt wurde. Die Entwicklung neuer bzw. die Reformulierung bekannter Wirkstoffe ist in der Regel langwierig und teuer. Der Aufwand ließe sich verringern, wenn die klinische Wirksamkeit von Schmerzmitteln frühzeitig abgeschätzt werden könnte. Zur präklinischen und klinischen Charakterisierung potenziell analgetischer Substanzen stehen experimentelle Schmerzmodelle zur Verfügung, deren Relevanz für klinische Schmerzzustände auf Grund einiger misslungener Versuche, die klinische Relevanz von Grundlagenforschungsergebnissen vorherzusagen, aber zurzeit eher kritisch gesehen wird. Ziel unserer Arbeit ist es, klinisch validierte und aussagekräftige humanexperimentelle Modelle der Analgetikumwirkung zu erarbeiten und damit ein Instrumentarium zur Verfügung zu stellen, das es ermöglicht, die Entwicklungsdauer und -kosten von Analgetika signifikant zu verringern.

Projektbeschreibung

Im Projekt verfolgen wir einen retrospektiven und einen prospektiven Ansatz. Im retrospektiven Ansatz sollte die Wirksamkeit von Schmerzmitteln in Schmerzmodellen mit der klinischen Wirkung von Schmerzmitteln bei verschiedenen Schmerzzuständen verglichen werden. Dadurch soll der aktuelle Stand der Aussagekraft von Schmerzmodellen bzw. ihrer Kombinationsmöglichkeiten festgestellt werden. Im prospektiven Teil soll der Schmerzphänotyp von 300 Schmerzpatienten und 200 gesunden Probanden mittels Quantitativer Sensorischer Testung (QST), einem Instrumentarium der neurologischen Diagnostik und Begutachtung, sowie mittels weiterer Schmerzmodelle charakterisiert werden.

Ergebnisse

Der retrospektive Teil des Projekts ist mit der Publikation Oertel & Lötsch (Br J Pharmacol 168 (2013): 534-53) weitgehend abgeschlossen. In dieser Analyse zeigte sich, dass die mittels experimenteller Schmerzmodelle am Menschen erhobenen Testergebnisse die klinische Wirksamkeit am Patienten durchaus erfolgreich abbilden können; Voraussetzung ist aber eine evidenzbasierte Auswahl und Kombination von Schmerzmodellen. Dies ermutigt die weitere Entwicklung von prädiktiven Schmerzmodellen. Der prospektive Teil des Projekts befindet sich im Stadium der Datenerhebung.

Fazit

Der gegenwärtige Kenntnisstand weist darauf hin, dass eine Verwendung validierter Sets experimenteller Modelle gut geeignet ist, kostengünstige und zugleich aussagefähige Studien für die Entwicklung von Schmerzmitteln bereit zu stellen.

Auftraggeber / Sponsor

Hessisches Ministerium für Wissenschaft und Kunst, LOEWE-Schwerpunkt: Angewandte Arzneimittelforschung



F1

Background and aims

Pain is the most frequent reason for a visit to the doctor, yet chronic pain, in particular, is still not treated satisfactorily. Quite apart from being a medicinal challenge, pain is also a socio-economic problem. The global market for pain-relieving drugs, thus, continues to grow, and was estimated in 2009 to be over US\$ 50 billion.

The development of novel or reformulated therapeutic agents is usually protracted and associated with high costs. These could be reduced if the clinical efficacy of the pain-killers could be determined early in development. A variety of experimental pain models is available for preclinical and clinical characterization of potential analgesic compounds. However, in the light of several contradictory results, the relevance of these models has been questioned. The aim of our research is to establish a panel of clinically validated and reliable human experimental models for evaluation of the efficacy of analgesics which can be used to reduce significantly the duration and cost of their development as new drugs.

Approach

The project includes, initially, a retrospective study of the efficacy of pain-killers in experimental pain models, in comparison to their clinical benefit in various pain conditions, based on results in the published literature. This should provide an overview of the therapeutic relevance of the experimental pain models and their various combinations.

In a subsequent prospective approach, the pain phenotypes of 300 patients and 200 healthy volunteers will be characterized using Quantitative Sensory Testing (QST), involving a panel of neurological diagnostic and observational tests.

Results

The retrospective part of the project has essentially been completed with the recent publication of the findings (Oertel & Lötsch, *Br J Pharmacol* 168 (2013): 534-53). This analysis revealed that the results of the tests in experimental pain models reflect to a large extent the clinical benefit of the drugs in patients, provided an evidence based selection and combination of models predicting particular clinical pain states. Currently, data are being collected for the prospective study of pain phenotypes.

Conclusion

On the basis of the current state of knowledge, the use of a validated set of experimental models is well-suited for a low cost and reliable evaluation of the clinical potential of pain-killers under development.

Contact / Ansprechpartner

Prof. Dr. Jörn Lötsch
Tel: +49 69 6301-4589
j.loetsch@em.uni-frankfurt.de

Dr. Bruno Oertel
Tel: +49 69 6301-87818
bruno.oertel@ime.fraunhofer.de

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger
Tel: +49 69 6301-7619
gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Electrical and pressure pain model.

DAS FRC-CENTER FÜR SYSTEMBIOTECHNOLOGIE (CSB): GESCHÄFTSFELDER UND PROJEKTBERICHT

FCR CENTER FOR SYSTEMS BIOTECHNOLOGY (CSB): BUSINESS AREAS PROGRESS REPORT

Nanobiotechnologie

Der Geschäftsbereich Nanobiotechnologie des CSB besitzt in der Nahrungs- und Getränkeindustrie sowie in Landwirtschaft und Medizin zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten. Zunächst fokussiert das CSB die Entwicklung seiner Dendrimertechnologie auf einen Einsatz in der Wein- und Fruchtsaftindustrie, wo die entwickelten Systeme zur Qualitätsverbesserung des Endprodukts spezifisch unerwünschte Substanzen aus Weinen und Fruchtsäften entfernen sollen.

Dendrimere sind hochverzweigte Gebilde im Nanomaßstab. Sie besitzen einen symmetrischen Kern mit einer kugelförmigen Symmetrie, wobei Oberflächeneigenschaften wie Löslichkeit oder Chelatbildung durch eine geeignete Wahl der äußeren Gruppen genau eingestellt werden können.

Unsere Projekte auf diesem Gebiet laufen in drei Stufen ab. Zunächst werden mit Hilfe eines umfassenden Computermodellings und einer ausführlichen Datenbanksuche Dendrimersstrukturen mit einer hohen Affinität zu vorgegebenen Zielstrukturen entworfen. Zu diesem Zweck haben wir eine „virtual high-throuput screening cascade-“ Plattform etabliert. In einem zweiten Schritt wird das jeweilige Dendrimer auf Basis der berechneten Daten chemisch synthetisiert. Nach der Reinigung erfolgt eine Charakterisierung des Produkts mittels diverser analytischer Methoden wie Massenspektrometrie oder hochauflösender Mikroskopieverfahren. Schließlich werden die hergestellten Dendrimere in Abhängigkeit von ihrer Verwendung mittels verschiedener Assays auf ihre Funktionalität geprüft. Parallel dazu erfolgt mittels zellbasierter Tests die Bewertung eventuell vorhandener toxischer Eigenschaften am IME in Deutschland.

Als Beispiel für dieses Konzept kann das Design von Nanopartikeln dienen, die spezielle Phenole, welche die sensorischen Eigenschaften von Wein beeinträchtigen, binden. Der Vorteil der vorgestellten Methode liegt in einer Reduktion der ansonsten eingesetzten synthetischen Polymere sowie möglicherweise allergener Proteine. Zusammen mit chilenischen Winzern entwickelt das CSB derzeit die betrieblichen Einsatzmöglichkeiten.

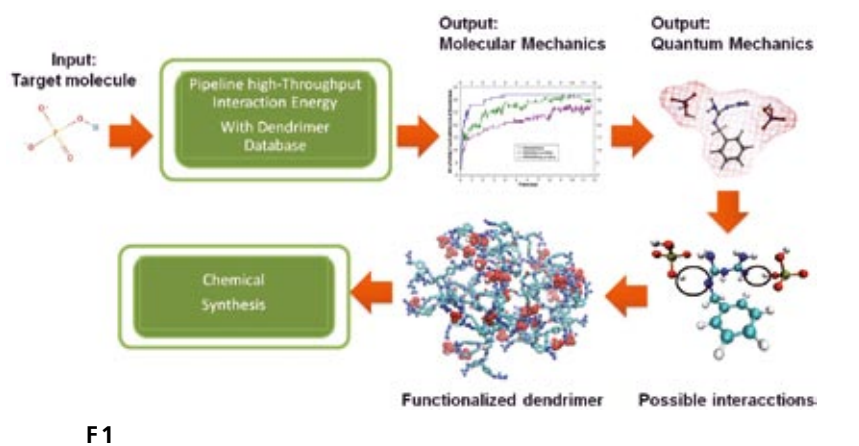
Bioenergie und erneuerbare Rohstoffe

Das Geschäftsfeld Bioenergie und erneuerbare Rohstoffe konzentriert sich auf die Erschließung und Entwicklung von alternativen erneuerbaren Biokraftstoffquellen. Hier stehen die Verbesserung der Eigenschaften von Pflanzen und Mikroalgen sowie die Entwicklung effektiverer Extraktionsprozesse im Vordergrund unter besonderer Berücksichtigung der Faktoren Wirtschaftlichkeit und Nachhaltigkeit. Unsere Projekte wurden nun ausgeweitet auf die Suche nach diversen werthaltigen Nebenprodukten aus diesen Organismen. Durch die Nutzung solcher Nebenprodukte kann ein Bioraffinerie-System mit einer einzigen erneuerbaren Energiequelle entwickelt werden unter maximaler Verwertung der verwendeten Rohstoffquelle. Dies kann exemplarisch an dem mit den Partnern PUCV (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso) und Clean Energy S.A. durchgeführten Mikroalgenprogramm des CSB gezeigt werden. Clean Energy ist eine chilenische Firma, die Mikroalgen zur Verwertung des in einem großen Kohlekraftwerk der Küstenstadt Ventanas anfallenden CO₂ einsetzt. Die Mikroalgen wachsen in speziell ausgelegten Bioreaktoren, so dass das aus den Rauchgasen der kohlegefeuerten Anlage stammende CO₂ von diesen eingefangen und verwertet werden kann. Die Mitarbeiter des Projekts entwarfen und testeten Protokolle, die den CO₂-Einfang sowie Wachstum und Biomasseproduktion maximieren. In der Folge ist es Clean Energy S.A. möglich, Biodiesel aus der Biomasse zu produzieren. Das CSB sucht nun nach werthaltigen Nebenprodukten wie Pigmenten, Vitaminen oder essenziellen Ölen, die mit Hilfe der Plattform zusätzlich produziert werden können.

Auftraggeber / Sponsor

In Deutschland: Fraunhofer-Gesellschaft

In Chile: InnovaChile CORFO, Code #09CEII-6991



F1



F2

Nanobiotechnology

The CSB Nanobiotechnology Business Area has a potentially wide range of applications in the food and beverage industries, agriculture and medicine. CSB is currently applying its dendrimer technology in the wine and juice industries by designing systems that can selectively trap and retain target substances from wine or fruit juices, thus improving the final product quality.

Dendrimers are highly branched nanoscale materials with a symmetrical core and a spherical three-dimensional morphology. The exterior surface can be modified with different chemistries to control properties such as solubility and chelation.

Our projects are divided into three stages. First, we use extensive computer modeling and database searches to select and design dendrimers with high affinity for target molecules. We have established a 'virtual high-throughput screening cascade' as a platform for these investigations. Second, we produce the dendrimer by chemical synthesis based on the computer model. CSB scientists have now synthesized a number of novel dendrimers which are being tested for target-binding efficacy. Once purified, the dendrimers are characterized using a range of analytical techniques such as mass spectrometry and high resolution microscopy. Third, we assess the dendrimers for their functional efficacy. These tests vary according to the application. We also evaluate the potential toxicity of the dendrimers using cell-based assays at Fraunhofer IME.

An example of this work is the design of nanoparticles that can capture selected phenols that affect the organoleptic characteristics of wines. The advantage of nanomaterials for purification is the reduction in the use of other synthetic polymers and potentially allergenic proteins. CSB is currently working with Chilean wine companies to develop these applications.

Bioenergy and Renewable Resources

The CSB Bioenergy and Renewable Resources Business Area focuses on the development and improvement of alternative renewable biofuel sources, particularly plants and microalgae,

and the development of more efficient, cost-effective and sustainable extraction processes. Our R&D projects have now expanded to include the use of use of high-value byproducts from these organisms. By producing multiple added-value products, a biorefinery system can be developed to produce a single renewable energy source and intermediates while maximizing the value derived from the renewable biomass feedstock. This is best demonstrated in our Microalgae Program, which involves PUCV (*Pontificia Universidad Católica de Valparaíso*) and the Chilean company Clean Energy S.A. which uses algal biomass to capture CO₂ generated by a major energy supplier at the coastal town of Ventanas, in Chile's 5th region. Microalgae grow in dedicated bioreactors that capture CO₂ from venting chimneys of the coal-fired power plant, and use it as a carbon source for growth. CSB, together with researchers at PUCV, have designed and tested different conditions that maximize carbon capture, algal growth and biomass generation. This allows Clean Energy S.A. to produce biodiesel from the biomass. CSB has now started to investigate added-value byproducts such as pigments, vitamins and essential oils which can be generated using this platform.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Leonardo S. Santos – Nanobiotechnology R&D Line Leader
Tel: +56 71-200 448
lssantos@utalca.cl

Dr. Rolando Chamy – Bionenergy R&D Line Leader
Tel: +56 32-2273640
rchamy@ucv.cl

Cooperation partner /Kooperationspartner

Clean Energy S.A., Chile
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Figure 1: Dendrimer design and synthesis workflow.

Figure 2: Microalgae bioreactors at Clean Energy S.A., Ventanas, Chile.

TRANSFORMATIONS- UND LÖSUNGSVERHALTEN VON SILBERNANOPARTIKELN

TRANSFORMATION/DISSOLUTION TESTING OF SILVER NANOPARTICLES

Hintergrund und Ziele

Zur Bewertung der ökotoxikologischen Relevanz von Metallen und Metallverbindungen kann es notwendig sein, diese Materialien gemäß OECD-Leitlinie 29 „Guidance Document on Transformation/Dissolution of Metals and Metal Compounds in Aqueous Media“ (2001) zu untersuchen.

Am Fraunhofer IME werden diese Untersuchungen an verschiedenen Testmaterialien im Rahmen von Industrieaufträgen regelmäßig durchgeführt. In einer Masterarbeit in Kooperation mit der Justus-Liebig-Universität Gießen findet aktuell eine Studie mit Silbernanopartikeln (Testmaterial NM-300K) in Anlehnung an die OECD-Leitlinie 29 statt. Die Versuche sollen das Transformations- und Lösungsverhalten von Silbernanopartikeln in entsprechenden Medien erfassen und eine Bewertung hinsichtlich potenzieller Wirkungen auf Organismen ermöglichen.

Projektbeschreibung

Die Leitlinie zum Transformations- und Löslichkeitstest beschreibt ein Testsystem, mit dem erfasst werden kann, in welchem Ausmaß Metalle und schwer lösliche Metallverbindungen in lösliche Ionen oder andere metallhaltige Spezies übergehen. Die Testbedingungen sollen dabei repräsentativ für die aquatische Umwelt sein. Das Testmedium basiert deshalb auf rekonstituiertem Wasser nach ISO 6341. Gemäß OECD-Leitlinie soll der pH-Bereich von 5,5 bis 8,5 abgedeckt werden. Aus den in den Testansätzen verwendeten Glaskolben mit Testmedium und den gelösten Nanopartikeln werden zu definierten Zeitpunkten Proben entnommen und über 0,2 µm-Membranen filtriert. Die Silber-Konzentrationsbestimmung erfolgt anschließend mittels ICP-OES oder ICP-MS. Im Allgemeinen wird angenommen, dass die aktive Spezies bei Silbernanopartikeln das freigesetzte Silberion ist. Zur Erfassung der freien Silberionen werden diese von den Nanopartikeln mittels der Zentrifugationsfiltrationsmethode separiert und wie oben beschrieben analysiert. Diese Methode wurde in früheren Untersuchungen entwickelt, validiert und erfolgreich implementiert.

Fazit

Nach den ersten abgeschlossenen Versuchen können bereits Hinweise auf das Transformations-/Lösungsverhalten von Silbernanopartikeln (NM-300K) gegeben werden. Zum Beispiel zeigt Figure 1 die Mittelwerte und die Standardabweichungen der Silberkonzentration nach 24 Stunden bei pH 6 und 8 in den entsprechenden OECD 29-Medien in der Fraktion < 0,2 µm sowie die Konzentration der aus den Nanopartikeln freigesetzten Silberionen. Bei pH 6 werden in beiden Fraktionen höhere Silber-Konzentrationen gemessen, wobei der relative Silberionenanteil bei pH 6 ebenfalls höher liegt. Insgesamt zeigt sich, dass die Untersuchung der Nanopartikel in Anlehnung an die OECD 29-Leitlinie verlässliche Ergebnisse liefert.

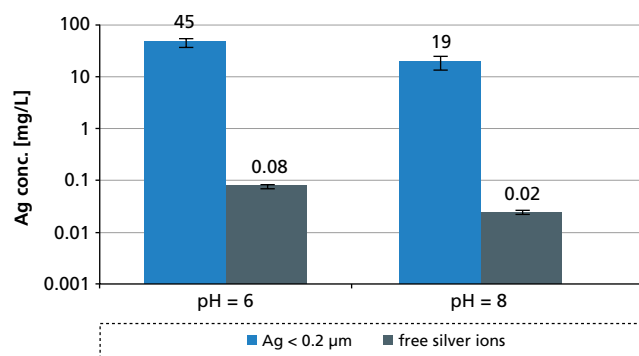


Figure 1: Concentrations of silver in the fraction < 0.2 µm and of free silver ions (after 24 h for a loading of 100 mg/L at pH 6 and 8).

Kooperationspartner / Cooperation partner

Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Bodenkunde und Bodenerhaltung

Auftraggeber / Sponsor

Die Masterarbeit wird aus Mitteln der Fraunhofer-Gesellschaft finanziert.



Background and aims

For assessing the ecotoxicological potential of metal and metal compounds it is often necessary to test these compounds according to OECD Chemicals Testing Monograph No. 29: Guidance Document on Transformation/Dissolution of Metals and Metal Compounds in Aqueous Media (2001).

Fraunhofer IME provides expertise in such tests and routinely tests various materials for industry clients. To investigate the transformation/dissolution of silver nanoparticles (test material NM-300K) following the OECD guidance document, Fraunhofer IME initiated a master thesis in collaboration with Justus Liebig University Giessen. This approach will provide a better insight into the dissolution kinetics of silver nanoparticles in aqueous media and their potential impact on organisms.

Approach

The transformation/dissolution test protocol specifies a test system that determines the rate and extent to which metals and sparingly-soluble metal compounds can produce soluble, available ionic and other metal-bearing species in aqueous media. The test conditions should be representative of the aqueous environment.

The test media were therefore based on reconstituted water according to ISO 6341, a pH range of 5.5 to 8.5 has to be covered, and media containing silver nanoparticles were sampled at different points and filtered through 0.2 μm membranes as stated in the OECD guidance document. The silver in the filtrate was quantified by ICP-OES or ICP-MS.

The free silver ion is assumed to be the active species released from silver nanoparticles. Therefore, silver ions were separated by applying centrifugal filtration in additional samples. This method was developed, validated and successfully implemented in our prior work on nanoparticles.

Conclusion

Although work is still ongoing, the transformation/dissolution behavior of silver nanoparticles (NM-300K) in the reconstituted water following the OECD guidance document can already be assessed. Fig. 1 shows as an example the mean silver concentrations in the fraction $< 0.2 \mu\text{m}$ as well as the amount of released silver ions after 24 h for a loading of 100 mg/L at pH 6 and 8, respectively. At pH 6, larger amounts of silver are detected in both fractions. The relative silver ion fraction is also higher at pH 6 than pH 8.

Our data shows that when the tests are carried out according to the OECD 29 guidance, reliable results can be achieved.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Thorsten Klawonn

Tel: +49 2972 302-119

thorsten.klawonn@ime.fraunhofer.de

Dr. Heinz Rüdell

Tel: +49 2972 302-301

heinz.ruedell@ime.fraunhofer.de

Figure 2: Transformation/dissolution testing of silver nanoparticles in glass test vessels on orbital laboratory shakers under controlled conditions.

WIRKUNG VON SILBERNANOPARTIKELN BEI LANDWIRTSCHAFTLICHER KLÄRSCHLAMMVERWERTUNG

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES IN THE CONTEXT OF SEWAGE SLUDGE USED IN AGRICULTURE

Hintergrund und Ziele

Silbernanopartikel werden wegen ihrer antibakteriellen Eigenschaften unter anderem in zahlreichen Produkten des täglichen Lebens, wie beispielsweise Körperpflege- und Kosmetikartikel oder Kleidung, eingesetzt. Eine Reihe von Studien belegen, dass die Silbernanopartikel in Textilien häufig nicht dauerhaft eingebunden sind, sondern während des Waschvorganges freigesetzt werden können und zu einem hohen Prozentsatz an den Klärschlamm sorbieren. Etwa 30 % des in Deutschland anfallenden Klärschlamm wird landwirtschaftlich verwertet. Aussagen zum längerfristigen Verhalten von Silbernanopartikeln unter Berücksichtigung realistischer Nutzungsszenarien liegen bislang nicht vor.

Ziel der Studie war es, den Weg von Silbernanopartikeln von der Kläranlage bis zur landwirtschaftlichen Verwertung von Klärschlamm in Laborexperimenten zu simulieren und Aussagen zur Wirkung auf Mikroorganismen zu treffen.

Projektbeschreibung

Die Untersuchungen wurden exemplarisch mit einem von der OECD ausgewählten Referenzmaterial (NM-300K, Figure 1) durchgeführt. Dieses wurde mit dem Abwasserstrom kontinuierlich in eine Modellkläranlage (Aufbau gemäß OECD-Test-Richtlinie 303A) eingespeist. Dabei wurden die Wirkung auf die Abbauprodukte der Mikroorganismen sowie der Austrag des Silbers über den Auslauf und die Sorption an Klärschlamm untersucht. Nach zehn Tagen wurde der Belebtschlamm entnommen, praxisgerecht entwässert und mit einem sandigen Boden vermischt. Dabei wurden die Vorgaben der deutschen Klärschlammverordnung berücksichtigt, wonach 5 t TS-Klärschlamm je Hektar in drei Jahren auf einen landwirtschaftlich genutzten Boden aufgebracht werden können. Dieser Boden wurde über einen Zeitraum von 140 - 180 Tagen bei 20 °C unter aeroben Bedingungen inkubiert. Zu verschiedenen Zeiten wurden Proben entnommen und unter anderem die mikrobielle Aktivität und Biodiversität untersucht.

Ergebnisse

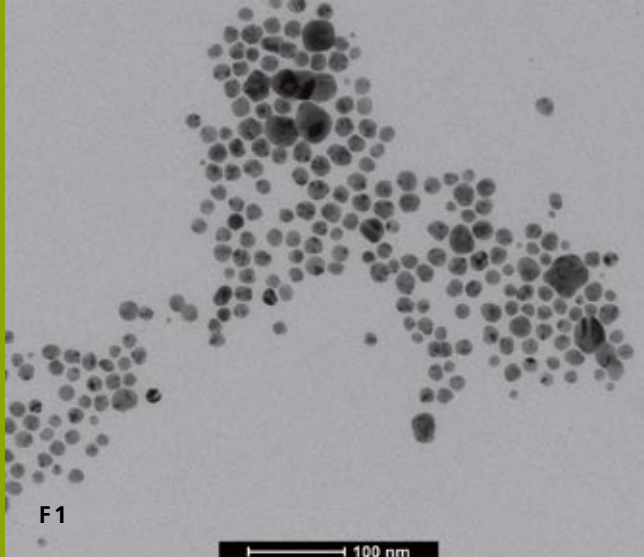
Mehr als 90 % des zugegebenen Silbers sorbierte an Klärschlamm. Eine Beeinträchtigung des Abbaus von organischer Substanz durch Mikroorganismen in der Modellkläranlage konnte bis zu einer kontinuierlichen Einlaufkonzentration an Silber von 4 mg/L nicht festgestellt werden. Bei der unrealistisch hohen Konzentration von 16 mg/L erfolgte eine kurzzeitige Reduktion der mikrobiellen Abbauleistung. Bei Einarbeitung des mit Silber beladenen Klärschlamm in Boden trat zunächst kein Unterschied in der mikrobiellen Aktivität zu dem Ansatz auf, der nur aus Klärschlamm-Boden-Gemisch bestand. Mit Abbau des Klärschlamm wurden Unterschiede offensichtlich, die am Ende der Versuchslaufzeit der Wirkung von reinem Referenzmaterial NM-300K entsprachen. Der Vergleich von PEC-Werten (PEC = predicted environmental concentration) aus Modellrechnungen für Boden, auf den mit Silbernanopartikeln belasteter Klärschlamm ausgebracht wurde, mit den in dieser Arbeit abgeleiteten PNECs (PNEC = predicted no effect concentration) für NM-300K zeigt, dass ein Risiko für terrestrische Organismen mittelfristig nicht auszuschließen ist.

Fazit

Die Produktion und Anwendung von Silbernanopartikeln steigt, wodurch sich auch ihr Anteil im Klärschlamm erhöhen wird. Eine mittelfristige nicht tolerierbare Beeinträchtigung der Bodenqualität ließe sich vermeiden, wenn zu den in der AbfKlärV angegebenen Prüfparametern für Klärschlamm auch der Silbergehalt aufgenommen würde.

Auftraggeber / Sponsor

Das Projekt wird durch Mittel des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF), FKZ 03X0091C, finanziert.



Background and aims

Silver nanoparticles are used in many hygiene products, cosmetics and clothes because of their antimicrobial properties. Several studies have shown that silver can be released from textiles during washing, and significant amounts adsorb to sewage sludge. Approximately 30% of the sewage sludge produced in Germany is used in agriculture, but there is little information available concerning the long-term behavior of silver nanoparticles in realistic environmental scenarios. The aim of this investigation was to simulate the path of silver nanoparticles from their introduction into wastewater treatment plants through to the agricultural use of sewage sludge, and to investigate their effects on microbes in the environment.

Approach

We tested the NM-300K silver nanoparticles selected in the framework of the “OECD Sponsorship Programme for the Testing of Manufactured Nanomaterials” (Fig. 1). The particles were added continuously with sewage into a model wastewater treatment plant using the device described in the OECD test guideline 303A. We measured the amounts of nanoparticles present in the effluent and in the sewage sludge and determined their impact on microbial degradation activity. After an incubation period of 10 days the sludge was sampled, dewatered and mixed with a sandy agricultural soil based on the requirements of the German Sewage Sludge Ordinance. This states that up to 5 t of sewage sludge may be applied to agricultural soils every three years. The soil was incubated aerobically at 20°C for 140-180 days with periodic sampling to determine microbial activity and biodiversity as well as other parameters.

Results

More than 90% of the added silver adsorbed to the sewage sludge. There was no effect on the biodegradation of organic substances in the wastewater treatment plant when silver

nanoparticles were added continuously at a rate of 4 mg/L. A short-term reduction in microbial degradation capacity was observed when the dose increased to 16 mg/L. The application of silver-contaminated sewage sludge to the soil initially had no impact on soil microbial activity (compared to uncontaminated sewage sludge). However, degradation of the sewage sludge resulted in differences between the test designs. At the end of the incubation period, we observed an effect comparable to that of the pure reference material NM-300K. For the risk assessment, the predicted no effect concentration (PNEC) for NM-300K was compared with the predicted effect concentration (PEC) derived from model calculations for soil treated with sewage sludge contaminated with silver nanoparticles. This states that a medium-term risk for terrestrial organisms caused by the repeated application of sewage sludge contaminated with silver cannot be excluded.

Conclusion

One consequence of the increasing production and use of silver nanoparticles is the appearance of larger amounts of silver in sewage sludge. A medium-term non-acceptable effect on soil quality can be avoided by adding a silver threshold value to the test parameters already stated in the Sewage Sludge Ordinance.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Karsten Schlich
Tel: +49 2972 302 -457
karsten.schlich@ime.fraunhofer.de

Dr. Kerstin Hund-Rinke
Tel: +49 2972 302 -266
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Transmission electron micrograph of the silver nanomaterial NM-300K in mineral salt solution.

Figure 2: Sewage treatment plant.

ANWENDBARKEIT VON BIOLIGANDENMODELLEN IM ROUTINE-MONITORING

FEASIBILITY OF BIOTIC LIGAND MODELS FOR ROUTINE MONITORING

Hintergrund

Bioligandenmodelle (BLM) wurden entwickelt, um den Einfluss von Gewässereigenschaften auf die biologische Verfügbarkeit und Wirkung von Metallen wie Kupfer (Cu), Nickel (Ni) und Zink (Zn) zu beschreiben. Hierbei werden die gemessenen gelösten Metallkonzentrationen unter Berücksichtigung lokaler Wasserparameter (insbesondere pH-Wert, gelöster organischer Kohlenstoff (DOC), Calcium-Konzentration) bewertet. Auf diese Weise sollen in der Risikobewertung abgeleitete Umweltqualitätsnormen an lokale Wassereigenschaften angepasst werden.

Projektbeschreibung

Ziel eines im Auftrag des Umweltbundesamtes erstellten Gutachtens war, die Möglichkeit des Einsatzes sogenannter benutzerfreundlicher Versionen von BLM in Monitoring-Programmen der Wasserbehörden im Kontext der europäischen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) zu prüfen. Getestet wurde die auf Basis einer Standardsoftware programmierte BLM-Version Bio-met (www.bio-met.net), die 2011 im Rahmen eines EU-Workshops mit Akteuren aus dem Routine-Monitoring vorgestellt worden war. Der Schwerpunkt der Projektarbeiten lag auf der Untersuchung der Plausibilität der BLM-abgeleiteten Qualitätsnormen (QN), der Praktikabilität des BLM-Konzepts und der Eignung für die Umsetzung im Routine-Monitoring.

Ergebnisse

Eine Sensitivitätsanalyse ergab beispielsweise, dass die pH-Abhängigkeit der berechneten QN für Cu, Ni und Zn unterschiedlich ist. Dagegen stieg die QN für alle Metalle mit zunehmender DOC-Konzentration an. Da die getestete BLM-Version Nachschlagetabellen statt kontinuierlicher Funktionen verwendet, können kleinere Änderungen der Wasserparameter deutliche Sprünge der QN verursachen. Weitere Untersuchungen ergaben auch, dass ein relevanter Anteil der hier betrachteten Gewässer nicht angemessen bewertet werden kann. In Beispieldatensätzen für deutsche Flüsse, die von

Untersuchungsstellen aus drei Bundesländern zur Verfügung gestellt wurden, hatten teilweise über 40 % der Proben pH-Werte oder Calcium-Konzentrationen oberhalb der oberen BLM-Validitätsgrenzen (Übersicht: Table 1, Beispiel: Figure 1).

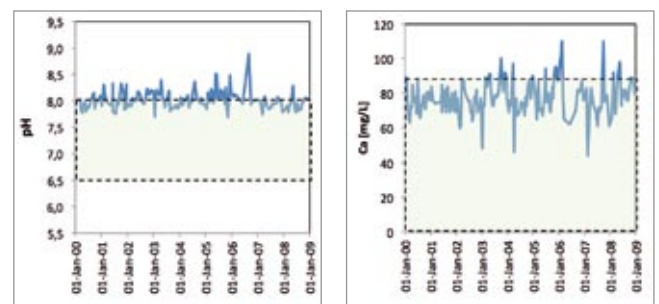


Figure 1: pH values and calcium (Ca) concentrations measured in the river Rhine at Kleve-Bimmen. The shaded areas indicate the range where BLMs for Cu, Zn and Ni are valid. Monitoring data were kindly provided by LANUV NRW, Düsseldorf.

Fazit

Auf Grundlage der Untersuchungen wurde die Empfehlung abgeleitet, für die Routineanwendung benutzerfreundlicher BLM-Versionen detaillierte Anleitungen zur Verfügung zu stellen sowie europaweit harmonisierte Ansätze für die Anwendung bei Wassereigenschaften außerhalb der bisherigen Validitätsgrenzen der BLM zu entwickeln. Die verwendeten BLM sollten transparent beschrieben sein. Es wird außerdem empfohlen zu prüfen, ob zur umfassenden Bewertung des Risikos von Metallen in Gewässern auch die Auswirkungen von Konzentrationsspitzen berücksichtigt werden müssen. Generell werden auch zusätzliche Messungen der Gesamtfractionen der Metalle im Wasser für Emissions- und Immissionsbilanzen als weiterhin notwendig erachtet.

Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt, FKZ 363 01 352



Background

Biotic ligand models (BLM) were developed to describe the influence of surface water properties on the biological availability and effects of metals such as copper (Cu), nickel (Ni) and zinc (Zn). This is conducted on basis of measured dissolved metal concentrations taking local water parameters into consideration, particularly pH, dissolved organic carbon (DOC) and calcium concentrations. This approach allows generic environmental quality standards derived from risk assessments to be adapted for local water conditions.

Approach

The major aim of this project, carried out on behalf of the German Federal Environment Agency, was to investigate the potential to apply so-called user-friendly BLM versions in water authority monitoring programs under the European Water Framework Directive (WFD). We therefore tested the Bio-met BLM tool (www.bio-met.net) programmed with standard software, which was introduced in 2011 during an EU workshop with stakeholders. The project focused on assessing the plausibility of BLM-derived quality standards (QS), the practicality of the BLM approach and its suitability for implementation in monitoring programs.

Table 1: Comparison of monitoring data for pH, calcium (Ca) and DOC with the validity ranges of the Bio-met BLM tool (Version of June 2011) for Cu, Ni and Zn. Percentage values represent the fraction of data beyond the corresponding boundary. For DOC no validity range is defined.

	North Rhine-Westfalia	Saxony-Anhalt*	Baden-Württemberg
Number of samples	10732	266	2597
pH range	4.6 - 10.3	6.8 - 8.6	4.7 - 9.0
pH < 6.5	1.5 %	0 %	1.3 %
pH > 8.0	21.7 %	40.5 %	44.5 %
Ca range (mg/L)	1.4 - 676	94 - 910	1.5 - 188
Ca < 5.0 mg/L	2.9 %	0 %	3.1 %
Ca > 88 mg/L	15.9 %	100 %	42.8 %
DOC range (mg/L)	0.4 - 55.0	2.2 - 5.8	0.3 - 16.1

* Not representative (salt-rich waters)

Results

Sensitivity analysis revealed that, for example, the pH-dependence of the calculated QS was different for Cu, Ni and Zn. However, the QS for all metals increased in line with the DOC concentration. Because the tested BLM tool applies look-up tables instead of continuous functions, small changes in the water parameters can introduce significant step changes in the QS. Further investigations showed that it is not possible to evaluate a relevant proportion of waters adequately. In sample data sets from rivers provided by water authorities in three German federal states, partly more than 40% of the samples had pH values or calcium concentrations above the upper BLM validity boundary (overview in Table 1, example in Fig. 1).

Conclusion

Based on the project results, we recommended the preparation of detailed manuals as well as Europe-wide harmonized approaches for the application of user-friendly BLM versions in water conditions beyond their current validity boundaries. The BLM should be documented transparently. Furthermore, we recommend that the effects of concentration peaks should also be considered to provide a comprehensive risk assessment for metals in waters. Generally, additional measurements of total metal fractions in water samples are deemed as necessary for emission and immission balances.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Heinz Rüdel
Tel: +49 2972 302 - 301
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Dr. Udo Hommen
Tel: +49 2972 302 - 255
udo.hommen@ime.fraunhofer.de

Figure 2: River Weser.

BERECHNUNG SINNVOLLER APPLIKATIONSTERMINE MIT BEZUG ZUR BBCH-KULTURENTWICKLUNG

ESTIMATING REASONABLE APPLICATION DATES RELATED TO BBCH CROP DEVELOPMENT STAGES

Hintergrund und Ziele

Im Rahmen des Zulassungsverfahrens für Pflanzenschutzmittel werden zurzeit Simulationsrechnungen mit dem Computerprogramm FOCUS PELMO durchgeführt, um zu bewerten, ob der jeweilige Wirkstoff bzw. seine beim Abbau im Boden entstehenden Metabolite in das Grundwasser gelangen können. Es gibt allerdings derzeit keine eindeutige Vorschrift, wie ausgehend vom Entwicklungsstadium der Kultur, für das eine Zulassung beantragt wird, der passende Anwendungstermin gefunden wird. Das ist kritisch, weil der Applikationszeitpunkt einen signifikanten Einfluss auf das Simulationsergebnis haben kann.

Projektbeschreibung

In dem Projekt wurden zunächst verschiedene Tabellen mit repräsentativen Terminen für entscheidende Entwicklungsstadien von Kulturen zusammengestellt. Berücksichtigt wurden sowohl traditionelle Kulturen in PELMO als auch Spezialfälle (z. B. Wein, Hopfen). Zusätzlich wurde die Software AppDate entwickelt, die auf Basis der Tabellen und unter Berücksichtigung aller offiziellen europäischen Standorte automatisch sinnvolle Applikationstermine für jedes Kulturstadium findet. Für die Berechnung werden folgende kulturunabhängige Makrostadien verwendet, die ursprünglich von den drei Organisationen Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie (BBCH) vorgeschlagen wurden:

- 00 Keimung / Austrieb
- 10 Blattentwicklung (Hauptspross)
- 20 Bildung von Seitensprossen / Bestockung
- 30 Längen- bzw. Rosettenwachstum des Hauptsprosses
- 40 Entwicklung vegetativer Pflanzenteile (Erntegut)
- 50 Erscheinen der Blütenanlage (Hauptspross)
- 60 Blüte (Hauptspross)
- 70 Fruchtentwicklung
- 80 Frucht- und Samenreife
- 90 Absterben bzw. Eintreten der Vegetationsruhe.

Zwischen den verschiedenen Makrostadien berechnet AppDate durch Interpolation einen sinnvollen Termin.

Ergebnisse

Ergebnisse von AppDate werden für eine Substanz vorgestellt, die in Wintergetreide bei einem BBCH von 12 in Hamburg eingesetzt werden soll.

Wie in Figure 1 zu sehen ist, ist der vorgeschlagene Termin für die Simulation mit dem Computerprogramm PELMO der 10. November. Um auch die Anforderungen alternativer Computerprogramme zu berücksichtigen, gibt AppDate das Ergebnis auch als Julianisches Datum (Tag Nr. 314) oder relativ zu dem Termin für den Feldauflauf (+9 Tage) sowie der Ernte (-273 Tage) an. Um gleichzeitig die Entwicklung der Kultur für verschiedene BBCH-Stadien zu illustrieren, werden entsprechende Zeichnungen der Kulturen eingeblendet. Schließlich berechnet das Programm noch die voraussichtliche Wirkstoffmenge, die den Boden erreicht, wobei allgemein akzeptierte Werte für die Kulturinterzeption verwendet werden (z. B. 2 % für Getreide beim BBCH 12).

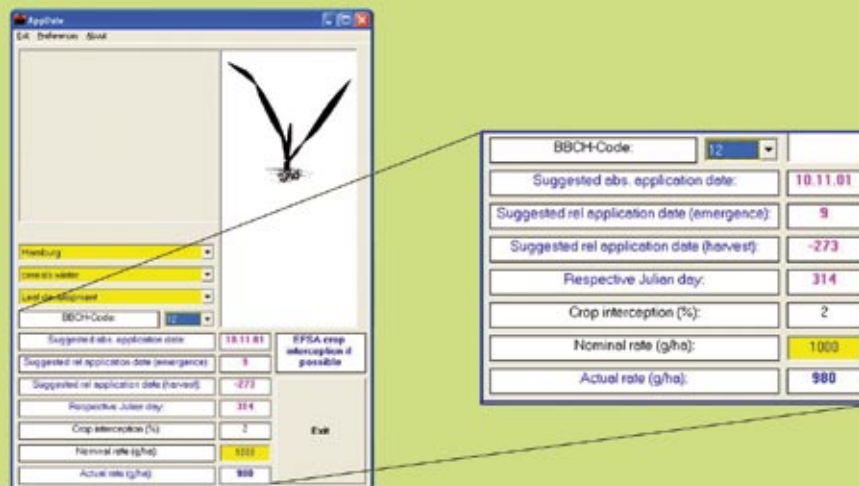
Fazit

AppDate ist eine neue benutzerfreundliche Software, die auf Basis des BBCH-Stadiums sinnvolle Applikationstermine für insgesamt 30 verschiedene Kulturen an neun über Europa verteilten Standorten findet.

AppDate schließt damit eine Lücke in der aktuellen Pflanzenschutzmittelzulassung. Das Programm kann dadurch helfen, die Akzeptanz und Qualität von Computersimulationen zum Verhalten dieser Stoffe in der Umwelt zu erhöhen.

Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt (UBA)



F1

Background and aims

The computer model PELMO is currently used to assess the leaching potential of pesticides and their soil metabolites, taking into account the application pattern (rate and date of application) and the physicochemical properties of the compounds. However, it is currently unclear how the application date should be defined in PELMO when the available data are based on the development stages of crops intended for pesticide registration rather than the actual application date. This is a crucial aspect of the model because the timing of application has a significant impact on fate predictions.

Approach

We compiled tables in PELMO containing representative dates for the important development stages of traditional crops and several more specialized crops such as grapevine and hop. The AppDate software was developed to automatically calculate reasonable application dates for any BBCH codes based on the tables considering all official FOCUS locations (e.g. Hamburg, Sevilla). For the calculation, AppDate uses crop-independent principal growth stages that were originally established by three organizations: **B**iologische Bundesanstalt, **B**undessortenamt and **C**hemische Industrie (BBCH). The stages are:

- 00 Germination / sprouting / bud development
- 10 Leaf development (main shoot)
- 20 Formation of side shoots / tillering
- 30 Stem elongation or rosette growth / shoot development
- 40 Development of harvestable vegetative plant
- 50 Emergence of the inflorescence (main shoot) / heading
- 60 Flowering (main shoot)
- 70 Development of fruit
- 80 Ripening or maturity of fruit and seed
- 90 Senescence, beginning of dormancy.

AppDate will interpolate suitable application dates within these principal growth stages.

Results

As an example, AppDate results are presented for a compound intended for application in winter cereals at BBCH 12 (location Hamburg). The suggested application date to be used for simulations with PELMO is 10 November (Fig. 1). To consider also the input requirements of alternative computer models, AppDate presents the result as Julian day 314 or +9 days relative to the date of emergence or -273 days relative to harvest. Drawings are presented to illustrate the development of the crop for different BBCH stages.

Finally, the program calculates the amount of test substance that presumably reaches the soil surface, taking into account generally accepted crop interception percentages (e.g. 2% for cereals at BBCH 12).

Conclusion

AppDate is a new user-friendly software platform that finds appropriate application dates for 30 different crops at nine locations throughout Europe based on BBCH crop stages. AppDate closes a current gap in pesticide registration which is the missing link between crop development stages and application timing. It may therefore help to increase the acceptance and improve the quality of simulations within environmental fate models.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Michael Klein
 Tel: +49 2972 302 - 317
 michael.klein@ime.fraunhofer.de

Figure 1: AppDate screenshot showing the timing for an application in winter cereals at BBCH 12 in Hamburg.

BIOKONZENTRATIONSTUDIEN MIT DEM MEXIKANISCHEN FLOHKREBS *HYALELLA AZTECA*

BIOCONCENTRATION STUDIES WITH THE FRESHWATER AMPHIPOD *HYALELLA AZTECA*

Hintergrund und Ziele

Das maßgebliche Kriterium zur Bewertung der Bioakkumulation von Chemikalien im Rahmen der REACH-Regulation (Annex XIII) ist der Biokonzentrationsfaktor (BCF), der die Aufnahme einer Substanz aus dem umgebenden Medium (Wasser) reflektiert. BCF-Werte werden üblicherweise anhand von Durchflussstudien mit Fischen nach OECD 305 (2012) bestimmt. Fisch-Bioakkumulationsstudien sind zeitaufwendig, teuer, und haben einen hohen Bedarf an Versuchstieren. Ziel dieser Studie war es, die Eignung des Mexikanischen Flohkrebse *Hyalella azteca* für Biokonzentrationsstudien zu untersuchen.

Projektbeschreibung

Die Biokonzentration einer hoch lipophilen Testsubstanz wurde untersucht. Um den Einsatz von Lösungsvermittlern zu vermeiden, wurde eine durch Säulenelution generierte Testlösung verwendet. Während der Studie aus dem Versuchsbecken entnommene Tierproben wurden auf ihren Gehalt an Testsubstanz untersucht. Der kinetische Versuchsaufbau ermöglichte die Bestimmung der Aufnahme- und Eliminationsrate, die zur Bestimmung eines kinetischen BCF verwendet wurden. Das Ergebnis wurde mit den Daten aus einer Fisch-Biokonzentrationsstudie mit Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) verglichen, die zuvor mit der gleichen Testsubstanz gemäß der revidierten Richtlinie OECD 305 (2013) durchgeführt worden war. In beiden Studien wurden zusätzlich Tierproben entnommen, um den Lipidgehalt der Tiere zu bestimmen. Die ermittelten Gewebskonzentrationen wurden auf einen Lipidgehalt von 5 % hin normalisiert, um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Ergebnisse

Die Entnahme von 3 x 10 Flohkrebse (männliche Tiere) zu den unterschiedlichen Samplingzeitpunkten ergab eine ausreichende Probenmenge zur Untersuchung der Gewebskonzentrationen.

Die Gewebsegehalte der Versuchstiere erreichten das Konzentrationsgleichgewicht nach einer wesentlich kürzeren Zeit im Vergleich zur Fischstudie. Ebenso wurde eine wesentlich kürzere Eliminationsphase benötigt, um eine 90 %ige Abnahme der zuvor akkumulierten Gewebskonzentration zu erzielen. Aufnahme- und Eliminationsraten wurden bestimmt. Der in der Durchflussstudie mit *H. azteca* ermittelte Biokonzentrationsfaktor stimmt mit dem Ergebnis der Fischstudie weitgehend überein (Figure 1).

Fazit

H. azteca hat ein hohes Potenzial, Fische als Versuchstiere für Bioakkumulationsstudien zu ersetzen. Biokonzentrationsstudien mit den wirbellosen Tieren sind durchführbar und führen zu vergleichbaren Ergebnissen wie Studien mit Fischen. Der Einsatz von *H. azteca* würde den Aufwand und die Kosten zur Durchführung von BCF-Studien erheblich senken. Die Untersuchung weiterer Substanzen ist erforderlich, um die Eignung des BCF-Tests mit *H. azteca* für die regulatorische Stoffbewertung zu bestätigen.

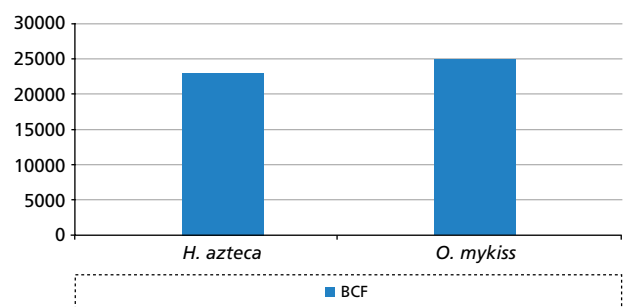


Figure 1: Bioconcentration of a highly lipophilic test substance in the amphipod *H. azteca* and the rainbow trout *O. mykiss*. Steady-state BCF values are presented.

Auftraggeber / Sponsor

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Fraunhofer-Gesellschaft finanziert



Background and aims

The ultimate decisive bioaccumulation criterion as part of the REACH regulations (Annex XIII) is the bioconcentration factor (BCF) reflecting the uptake of a test substance from the contaminated surrounding medium. Bioconcentration factors for regulatory purposes are usually determined by fish flow-through tests according to TGD OECD 305. Fish bioaccumulation studies are time-consuming, expensive and use many animals. Alternative methods that replace the use of fish for BCF testing would therefore be valuable. The aim of this study was to investigate whether the freshwater amphipod *Hyalella azteca* can be used as an alternative test organism for the measurement of bioconcentration factors.

Approach

We investigated the uptake and accumulation of highly lipophilic test substances from water using column-generated concentrations to avoid the use of solvents. Animals collected during the bioaccumulation study were analyzed for tissue concentrations of these substances. Based on the kinetic study design, the depuration and uptake rates were determined and used to calculate a kinetic BCF estimate. The results were compared with BCF values obtained from a fish bioconcentration study in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which was previously carried out according to the revised TGD OECD 305. In both studies, additional animals were collected for lipid analysis. Tissue concentrations were normalized to a lipid content of 5% so that the results from bioaccumulation tests using fish and *H. azteca* were comparable.

Results and Discussion

Bioconcentration factors determined in the *H. azteca* bioaccumulation study were similar to those obtained in the fish test (Fig. 1). However, the steady-state tissue concentration of each substance was reached in the *H. azteca* study within a significantly shorter uptake period. The collection of 3 x 10 adult

amphipods (male) at each sampling point resulted in a pooled biomass that was sufficient to quantify tissue concentrations. Therefore the uptake and elimination rates could be determined in *H. azteca* in the same manner as bioconcentration testing in rainbow trout, but the depuration period required to achieve 90% elimination of the accumulated test substances was significantly shorter.

Conclusion

H. azteca can be used to investigate the bioaccumulation of test substances from water (bioconcentration) and appears to be a suitable alternative test organism for bioaccumulation studies. The estimated BCF obtained in the *H. azteca* study was similar to that obtained in a fish test. Bioaccumulation studies in *H. azteca* promote animal welfare by using an invertebrate species while improving the efficiency and reducing the costs for BCF testing. Investigations using additional substances will be required to verify the suitability of BCF tests with *H. azteca* for regulatory purposes.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Christian Schlechtriem
Tel: +49 2972 302-186
christian.schlechtriem@ime.fraunhofer.de

Figure 2: *Hyalella azteca*.

LEBENSZYKLUSSTUDIEN MIT FISCHEN: STATISCHE VS. DURCHFLUSSEXPOSITION

FISH LIFE CYCLE TESTS STATIC VS. FLOW-THROUGH EXPOSURE

Hintergrund und Ziele

Die Belastung aquatischer Systeme mit Schadstoffen ist charakterisiert durch zeitliche und räumliche Variabilität von Substanzkonzentrationen. In der Risikoabschätzung versucht man dies durch zeitlich gewichtete Durchschnittskonzentrationen zu adressieren. Bei endokrin wirksamen Substanzen ist das oftmals problematisch, da die gegenüber der Belastung empfindlichsten Lebensphasen und die Phasen, in denen sich der Effekt ausprägt, verschieden sein können. Im beschriebenen Projekt wurden zwei Lebenszyklusstudien (Life Cycle Test, LCT) mit dem Zebraquarienfisch (*Danio rerio*) durchgeführt. Als Prüfsubstanz diente Fulvestrant (anti-östrogenes Krebstherapeutikum). Die Studien hatten das Ziel, die empfindlichen populationsrelevanten Endpunkte gegenüber einem Anti-Östrogen zu detektieren und die Dauer und Schwere einer Wirkung nach Kurzzeitexposition zu charakterisieren.

Projektbeschreibung

Um die Empfindlichkeit nach einmaliger Applikation mit einer bewusst hoch gewählten Konzentration (Peak) des Anti-Östrogens zu untersuchen, wurde zunächst ein LCT in einem statischen Wasser-Sedimentsystem (Figure 1) durchgeführt. Bei Testbeginn wurden drei verschiedene Lebensstadien (befruchtete Eier, juvenile sowie adulte, laichfähige Tiere) gleichzeitig mit einer Peak-Konzentration von Fulvestrant belastet. Die Verwendung von künstlichem Sediment gewährleistete die Stabilität der Wasserqualität über den gesamten Testzeitraum von ca. 140 Tagen. Ein weiterer LCT wurde unter kontinuierlicher Belastung in einem Durchflusssystem (Figure 2) durchgeführt. Auf Basis der Ergebnisse aus dem statischen Test wurden mit Hilfe von Betrachtungen zur Bioakkumulationsfähigkeit der Substanz die Testkonzentrationen für den Durchflusstest abgeleitet. Hierzu wurden Daten zur Abnahme der Substanz aus der Wasserphase und Daten zur Lipophilie der Testsubstanz verwendet. In einem abschließenden Vergleich wurde die Empfindlichkeit der populationsrelevanten Endpunkte unter den verschiedenen Expositionsbedingungen untersucht.

Ergebnisse

Bezogen auf die Initialkonzentration war die Durchflusstudie hinsichtlich der Wirkschwelle etwa 50fach empfindlicher als die Studie mit Peak-Belastung (DT_{50} : 16 h). Über gemittelte Konzentrationen und Einbeziehung der Bioakkumulation wurden die Wirkschwellen unter kontinuierlicher Exposition dennoch sehr gut abgeschätzt. Unter Peak-Belastung waren die Überlebensrate der frühen Lebensstadien und die Befruchtungsrate die empfindlichsten Endpunkte (Figure 3); im Durchfluss kam die Eizahl hinzu. Wachstum und Entwicklungsgeschwindigkeit waren nicht beeinträchtigt. Eine Verschiebung des Geschlechterverhältnisses, wie in einer Studie des Fraunhofer IME für das Anti-Östrogen Tamoxifen beobachtet, trat unter den getesteten Expositionsbedingungen nicht auf.

Fazit

Anti-Östrogene wirken intrinsisch am stärksten auf die Befruchtungsrate und die larvale Überlebensrate der Folgegeneration. Wirkungen auf die Befruchtungsrate erholen sich nach Abklingen der Exposition schnell. Das statische Versuchssystem eignet sich allgemein gut für einen Vergleich der Endpunktrelevanz bei Peak-Belastungen, etwa durch Passage von Kläranlagenabflüssen oder infolge Pflanzenschutzmittelapplikationen. Endokrine Wirkungen durch Kurzzeit- und Dauerbelastungen sind über die Einbeziehung der Akkumulation gut miteinander vergleichbar.

Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt, FKZ 3709 65 405

Ansprechpartner / Contact

Dipl.-Ing. Matthias Teigeler

Tel: +49 2972 302 -163

matthias.teigeler@ime.fraunhofer.de



Background and aims

The impact of substances on aquatic systems is characterized by temporal and spatial changes in concentration. Such changes must be taken into account in risk evaluations by comparing intrinsic toxicity data with time-weighted average exposure concentrations. This is challenging, particularly when evaluating endocrine-effective substances, because the time windows of effect setting (relevant exposure) and the expression of effects (relevant endpoint observation) may vary. We therefore carried out two zebrafish (*Danio rerio*) life cycle tests (LCTs) using the model anti-estrogen fulvestrant to determine the most sensitive population-relevant endpoints and to characterize the exposure time and manifestation of effects. Fulvestrant, which is used in cancer therapy, was selected as a model substance based on pre-test results and extensive literature research.

Approach

The sensitivity of zebrafish to a single, high-dose application of the model substance was determined in a LCT set up in a static water sediment system (Fig. 1). Fish at three different life stages (fertilized eggs, 4-week-old juveniles and spawning adults) were simultaneously exposed to different peak concentrations of fulvestrant. Artificial sediment was used to ensure the stability of both physical and chemical parameters during the study, which lasted for approximately 140 days. Another LCT was then carried out under continuous exposure in a flow-through system (Fig. 2), to focus on the intrinsic toxicity of the anti-estrogen. The concentrations used in the flow-through test were derived by considering the results of the static test and the bioconcentration kinetics of the test substance, including dissipation from the water body and lipophilicity. The sensitivity of the population-relevant endpoints under different exposure conditions was assessed in the final evaluation.

Results

When related to the initial concentrations, the effect thresholds were more sensitive by a factor of 50 under flow-through conditions than after peak exposure (dt_{50} : 16 h). However, by using time-weighted average concentrations and taking the bioconcentration into account, it was possible to predict the effect thresholds accurately under continuous exposure. After peak exposure, the survival rates of the early life stages and the fertilization rate were the most sensitive endpoints (Fig. 3). Fecundity was also a sensitive endpoint under flow-through conditions. Growth and development time were not affected. A shift in the sex ratio, as previously observed for the anti-estrogen Tamoxifen citrate, was not observed within the fulvestrant concentration range we tested.

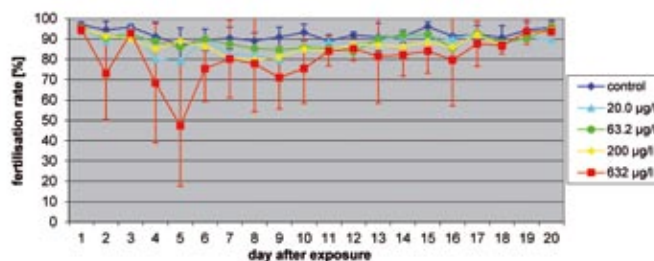


Figure 3: Fish Full Life Cycle Test in a static water sediment system: Effect on fertilization rate after peak exposure to fulvestrant.

Conclusion

Anti-estrogens intrinsically affect fertility in adults and larval survival in the filial generation. Effects on the fertilization rate recover quickly when exposure declines. Generally, a static study design is appropriate when comparing the relevance of different endpoints after peak exposure, e.g. following pesticide application or passage through sewage treatment plant effluents. By including kinetic data it is possible to compare endocrine effects caused by short-term and continuous exposure.

Figure 1 and 2: Fish exposure devices at the Fraunhofer IME: Static water sediment system (1), Flow-through system (2).

RELEVANTE FISCHARTEN FÜR DIE RISIKOBEWERTUNG VON PFLANZENSCHUTZMITTELN IN DER EU

VULNERABLE FISH SPECIES FOR RISK ASSESSMENT OF PESTICIDES IN EUROPE

Hintergrund und Ziele

Im Rahmen der Pflanzenschutzmittelzulassung in Europa wird die mögliche toxische Wirkung auf Fische mit Standardtestarten untersucht. Welche Populationen jedoch im Freiland gefährdet sind, hängt neben der intrinsischen Toxizität auch von der Wahrscheinlichkeit der Exposition im Freiland und der ökologischen Empfindlichkeit einer Art ab.

In einem Promotionsprojekt werden diese beiden Aspekte für einheimische Fische genauer betrachtet, um dann ein Populationsmodell erstellen zu können, mit dem von Standardtoxizitätstests auf Populationen vulnerabler Arten im Freiland extrapoliert werden kann.

Projektbeschreibung

Bei der Expositionsabschätzung von Pestiziden in Europa werden kleine Gewässer (Bach, Graben, Teich) in unmittelbarer Nähe einer landwirtschaftlichen Fläche betrachtet. Im ersten Schritt wurden daher anhand von Standardliteratur diejenigen europäischen Fischarten identifiziert, die in solchen Gewässern leben. Um für mehrere EU-Mitgliedsstaaten relevant zu sein, sollten diese Fische zumindest in einer der drei Zulassungszonen (Nord, Zentral, Süd) weit verbreitet sein. Die Auswahl der Fische wurde durch den Vergleich mit den Ergebnissen von Monitoringstudien überprüft.

Im nächsten Schritt wurden Altersklassenmodelle erstellt, um die ökologische Empfindlichkeit der Arten vergleichen zu können. Diese Modelle berechnen die Wachstumsrate einer Population aus altersabhängigen Reproduktions- und Überlebensraten. Eine Elastizitätsanalyse gibt Auskunft darüber, wie stark die einzelnen Raten das Populationswachstum beeinflussen.

Ergebnisse

Von insgesamt 579 Süßwasserfischarten in Europa wurden 27 verbreitete einheimische Arten identifiziert, welche potenziell von Pflanzenschutzmitteleinträgen direkt vom Feld in benachbarte Gewässer betroffen sind. Für 21 Arten konnten Alters-

klassenmodelle entwickelt und damit die ökologische Empfindlichkeit verglichen werden (Figure 1 und 2). Von den analysierten Arten war die Elritze (*Phoxinus phoxinus*) am empfindlichsten gegenüber Effekten auf die Fortpflanzung. Das Bachneunauge (*Lampetra planeri*) dagegen ist wegen seines besonderen Lebenszyklus besonders empfindlich gegenüber erhöhter Sterblichkeit der Larvenstadien (Figure 2).

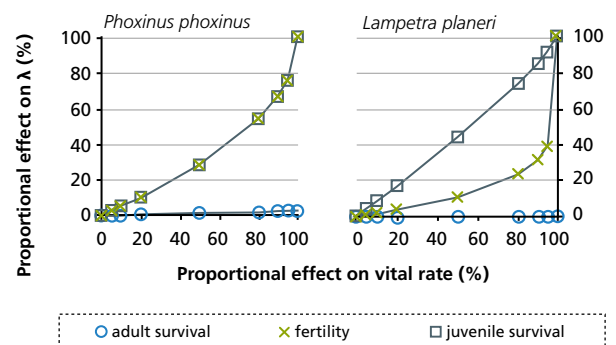


Figure 1: Population responses of representative vulnerable species.

Fazit

Es konnte eine Reihe von Fischarten identifiziert werden, die durch Einträge von Pflanzenschutzmitteln in kleine Gewässer der Agrarlandschaft gefährdet sein können. Durch die Altersklassenmodelle ist eine erste Extrapolation von Effekten von Organismusebene auf die Populationen möglich. Eine genauere Analyse soll mit einem detaillierten Populationsmodell erfolgen.

Auftraggeber / Sponsor

CREAM: Marie Curie ITN, EC 7th Framework Program
<http://cream-itn.eu>

Kooperationspartner / Cooperation partner

Cream consortium, Dr. T.G. Preuss (RWTH Aachen)



F3



F4

Background and aims

The vulnerability of a species to pesticides in the environment is characterized by intrinsic sensitivity, potential exposure and population resilience. Intrinsic sensitivity in the environmental risk assessment (ERA) of pesticides for fish in Europe is evaluated using surrogate test species. The results are then extrapolated to other species in the field using safety factors associated with a high degree of uncertainty.

The aim of this PhD project is to investigate potential exposure and population resilience and thus identify representative fish species for the extrapolation of test results to provide an ecologically more relevant risk assessment.

Approach

We listed freshwater fish species that are native to Europe and widespread in the European Union, and which inhabit streams, ditches or ponds on agricultural land representing a high risk of exposure to pesticides. The list was validated on the basis of monitoring studies carried out in agricultural environments. We developed age-based matrix models for the listed species and elasticity analysis was used to determine the relative influence of juvenile survival and fertility on the multiplication rate of populations (λ).

Results

Among the 579 European freshwater fish species we considered, 27 species were potentially exposed to pesticides in edge-of-field water bodies. It was possible to model and analyze 21 of the listed species (Fig. 1, Fig. 2).

Two representative vulnerable species were identified:

Phoxinus phoxinus (Eurasian minnow) for effects on fecundity, and *Lampetra planeri* (European brook lamprey) for effects on juvenile survival. Adult survival was not considered because visible mortality caused by plant protection products should be avoided if possible for vertebrates such as fish.

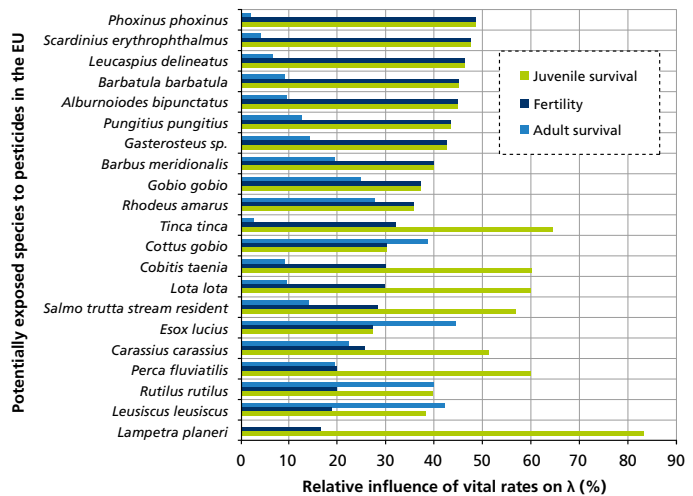


Figure 2: Population responses of species exposed to pesticides, reflecting changes in their life history parameters.

Conclusion

We were able to identify representative vulnerable European fish species based on their potential exposure to plant protection products and their life history. These representatives can be modeled in more detail to achieve more ecologically relevant extrapolation in ERA.

Contact / Ansprechpartner

Lara Ibrahim, M. Sc.
Tel: +49 241 802 - 3693
lara.ibrahim@ime.fraunhofer.de

Dr. Udo Hommen
Tel: +49 2972 302 - 255
udo.hommen@ime.fraunhofer.de

Figure 3: *Phoxinus phoxinus* – Eurasian minnow.

Figure 4: *Lampetra planeri* – European brook lamprey.

ÖKOTOXIKOLOGISCHE TESTUNG VON WASSERBAUSTEINEN IN MESOKOSMEN

ECOTOXICOLOGICAL TESTING OF ARMOR STONES IN MESOCOSMS

Hintergrund und Ziele

Im Rahmen eines breit angelegten Untersuchungsprogramms zum umweltverträglichen Einsatz von Eisensilikatgestein im Wasserbau wurden die Freisetzung von Metallen aus der Kupfergewinnung und Wasserbausteinen sowie deren Effekte auf die Entwicklung der Lebensgemeinschaft in aquatischen Freilandmodellökosystemen (Mesokosmen) über ein Jahr erfasst. Ziel war die Bestimmung der Sand- oder Steinmenge, die ohne ökologisch schädliche Auswirkungen in ein Gewässer eingetragen werden kann.

Projektbeschreibung

Die Studie wurde in insgesamt 25 Edelstahlzylindern von je 2 m³ Volumen durchgeführt, die im Sommer 2009 in einen großen künstlichen Teich mit einer etablierten aquatischen Lebensgemeinschaft eingesetzt worden waren. Fünf dieser Zylinder dienten als Kontrolle, in die 25 g/L Brechsand und 100 g/L Wasserbausteine aus Basanit, einem natürlichen Alkaligestein, eingebracht wurden. In acht Zylindern wurden 3.25, 6.25, 12.5 und 25 g/L Eisensilikat-Brechsand mit jeweils zwei Replikaten und in weiteren zwölf Zylindern 12.5, 25, 50 und 100 g/L Eisensilikat-Wasserbausteine mit jeweils drei Replikaten eingesetzt (Figure 1 und 2). Dabei wurde jeweils noch so viel Basanitbrechsand und -wasserbaustein zugegeben, dass in allen Zylindern dieselbe Gesamtmenge an Brechsand und Wasserbaustein vorlag. Im Versuchsverlauf wurden die Metallgehalte mehrfach in Wasser- und Sedimentproben und bei Versuchsende in den Biota bestimmt. Zur Effektabschätzung wurde die Entwicklung der Population der Algen, Wasserpflanzen, des Zooplanktons und der Makroinvertebraten erfasst.

Ergebnisse

In Abhängigkeit von der eingebrachten Menge Eisensilikat wurde ein leichter Anstieg der Kupfer-, Nickel-, Zink-, Blei-, Mangan- und Eisenkonzentration im Wasser beobachtet

(z. B. Figure 3). Für die Steine wurden im März 2010 maximale Gesamt-Kupferkonzentrationen von 14 µg/L gefunden, während das Maximum von 13 µg/L bei Sand eine Woche nach Beginn der Exposition gemessen wurde. Nach einem Jahr waren die Kupferkonzentrationen in der höchsten Behandlungsstufe mit Sand auf 3 µg/L und mit Stein auf 5 µg/L gefallen. Im Sediment wurden verglichen mit der Kontrolle keine erhöhten Metallgehalte gefunden. In Biota wurde Kupfer um maximal den Faktor fünf im Vergleich zu Organismen der Kontrollen angereichert. Andere Metalle wurden gar nicht oder weniger stark angereichert (Ausnahme Mn im Periphyton oder Sn in Schnecken mit Anreicherungsfaktoren von maximal 7 bzw. 10). Hinweise auf Metallanreicherung in der Nahrungskette gab es nicht.

Bei bis zu 12,5 g Brechsand/L oder 50 g Wasserbaustein/L wurden insgesamt keine länger anhaltenden oder starken Effekte auf die Biozönose gefunden. Bei 25 g Brechsand/L und 100 g Wasserbaustein/L konnten dagegen Effekte über acht Wochen oder bis zum Ende der Studie auf Algen, Makrophyten, und teilweise Insekten nicht ausgeschlossen werden.

Fazit

Insgesamt werden in dieser Studie 12,5 g Brechsand/L (1:80) und 50 g Wasserbaustein/L (1:20) als ökologisch akzeptable Einträge angesehen.

Ansprechpartner / Contact

Dr. Udo Hommen
Tel: +49 2972 302 - 255
udo.hommen@ime.fraunhofer.de

Dr. Burkhard Knopf
Tel: +49 2972 302 - 208
burkhard.knopf@ime.fraunhofer.de

Kooperationspartner / Cooperation partner
MESOCOSM GmbH, Homberg (Ohm)



Background and aims

The potential leaching of metals and their impact on the aquatic community in outdoor mesocosms was monitored for one year as part of a large research project considering the ecological risk assessment of sludge from copper production, particularly iron silicate stones used for hydraulic engineering, e.g. as armor stones. We measured the amount of crushed stone fines or armor stones that could be added to the mesocosms without ecologically adverse effects.

Approach

We used 25 stainless steel enclosures (2 m³ each) installed in a large artificial pond with an established aquatic community (Fig. 1 and 2). Five enclosures served as controls, including 25 g/L basanite crushed stone fines and 100 g/L basanite armor stones as a natural reference material. Crushed fine iron silicate stones were introduced into eight enclosures (3.25, 6.25, 12.5 and 25 g/L with two replicates each) and iron silicate armor stones were introduced into 12 enclosures (12.5, 25, 50 and 100 g/L with three replicates each). The appropriate amount of basanite stone fines and stones were also introduced to achieve the same amount stone fines and stones in all enclosures including the controls. We measured the concentrations of metals in the water and the sediment throughout the experiment, and determined metal concentrations in the biota at the end point. The effect of the armor stones was assessed by monitoring the populations of algae, macrophytes, zooplankton and macroinvertebrates.

Results

The concentrations of Cu, Ni, Zn, Mn and Fe in the water increased in concert with the amount of iron silicate (Fig. 3). For example, the maximum Cu concentration was 14 µg/L in mesocosms treated with the highest doses of armor stones (March 2010) whereas the maximum total Cu concentration in the sand enclosures was approximately 13 µg/L seven days

after the stones were introduced. After one year of exposure, the Cu concentration in the water had fallen to 3 µg/L in the mesocosms treated with the highest dose of fines, and to 5 µg/L in those treated with the highest dose of stones. There was no dose-related increase in sediment metal concentrations. The Cu levels in the biota increased by up to a factor of five compared to the controls, whereas there were only small increases in the other metals (in some cases no increase at all). There was no evidence for biomagnification in the food chain. At doses of up to 12.5 g of fines/L or 50 g stones/L there were no long-term or pronounced effects on the biocoenosis, but at doses of 25 g fines/L or 100 g stones/L effects on algae, macrophytes and insects over more than 8 weeks or at the end of the study could not be excluded.

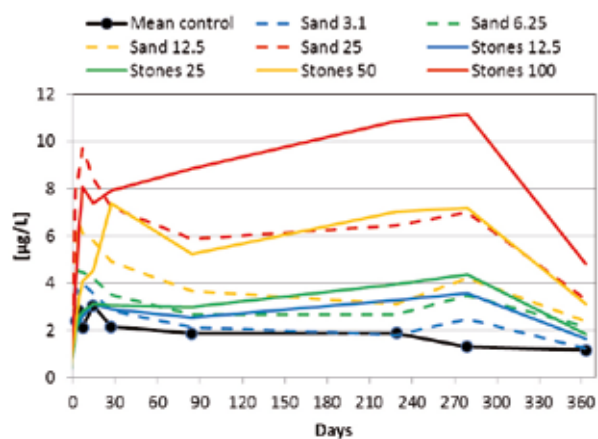


Figure 3: Mean dissolved copper concentration per treatment level.

Conclusion

We consider 12.5 g fines/L (1:80) or 50 g armor stones/L (1:20) ecologically acceptable doses of iron silicate in this study.

Sponsor / Auftraggeber

Aurubis Group, Hamburg, Germany

Figure 1 and 2: Introduction of the test items.

DER EFFEKT VON WILDHEFEN IN TRADITIONELLEN WEINEN

THE EFFECT OF WILD YEAST IN TRADITIONAL WINES

Hintergrund und Ziele

Traditionelle Weine, die durch spontane Fermentation verschiedener Arten von Wildhefen hergestellt werden, haben eine komplexe Zusammensetzung, die sich auf Geschmack und Aroma auswirkt. Dies spiegelt die vielen unkontrollierbaren Aspekte der Fermentation wider. Obwohl das endgültige Produkt unvorhersagbar ist, wird die Qvevri-Weinproduktion (unter Benutzung von Tongefäßen, Figure 1) immer populärer, da sich Produzenten darum bemühen, ihre Produkte abzugrenzen und sich auf den Kundenwunsch nach Weinen mit neuen Charakteristika zu fokussieren. Unser Ziel war die Charakterisierung der Wildhefen und ihrer Wirkung auf Geschmack und Aroma von Qvevri-Wein durch die Identifizierung der dominanten Hefearten während spontaner Fermentation sowie die Entwicklung eines halbquantitativen Hefedetektor-Biochips basierend auf Antikörpern, die zwischen Arten unterscheiden können. Dies würde Winzern eine frühe Entscheidung über die Eignung von Trauben und Most für eine erfolgreiche spontane Fermentation erlauben.

Projektbeschreibung

Die Hefepopulation der Winzerei unseres Kooperationspartners *Winery Albert Mathier et Fils* (Umweltproben, Trauben und Most) wurde durch Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus-Analyse (PCR-RFLP) charakterisiert, außerdem wurden polyklonale Antikörper für den Einbau in einen halbquantitativen Hefedetektor-Biochip entwickelt. Erstmals wurde das dynamische Verhalten von Hefen in Qvevris mit Hilfe einer sensitiven und quantitativen Echtzeit-PCR (qPCR) untersucht, um deren Einfluss auf die Komposition und das Aroma von Weinen zu bestimmen. Das Aroma wurde über Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie (HS-GC-MS), bewertet. Ebenfalls erstmalig wurden Qvevri-Weine unterschiedlicher Winzereien aus ganz Europa chemisch analysiert.

Ergebnisse

Nicht-*Saccharomyces*-Hefen wurden während des gesamten Fermentationsprozesses gefunden, dominante Arten waren *Rhodotorula mucilaginosa* und *Pichia anomala*. Sogenannte „spoilage“-Hefen wurden ebenfalls in allen Fermentationen gefunden. Problematische Fermentationen mit hohen Mengen an Essigsäure traten aber nur auf, wenn die Fermentations-Lag-Phase verlängert war. Die Bildung von Ethylacetat, einem potenziellen off-Flavor, wurde durch Nicht-*Saccharomyces*-Hefen in Mikrofermentationsversuchen im Labormaßstab begünstigt (Figure 2).

Fazit

Die Ergebnisse bilden die Basis zur Etablierung eines halbquantitativen Hefedetektor-Biochips basierend auf der Eignung von Antikörpern, verschiedene Wildhefen zu unterscheiden. Die vorherrschenden Hefen aus Winzereien (d. h. *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula mucilaginosa* und einige *Pichia* Arten) können in das System eingebunden werden.

Auftraggeber / Sponsor

Fraunhofer-Doktorandinnenprogramm

Kooperationspartner / Cooperation partner

Winery Albert Mathier et Fils, Salgesch, Schweiz



Background and aims

Traditional wines produced by spontaneous fermentation with different species of wild yeast have a complex composition that influences their flavor and aroma, reflecting the many aspects of fermentation that cannot be controlled. Although the final product is unpredictable, qvevri wine production (using clay vessels, see Fig. 1) is becoming more popular as producers seek to differentiate their products and focus on consumer demand for wines with novel characteristics. Our objective was to characterize the wild yeasts and their effects on the aroma and flavor of qvevri wines by identifying the major yeast species present during spontaneous fermentation and developing a semi-quantitative yeast-detection biochip based on antibodies that can distinguish between species. This would allow winemakers to make early decisions about the suitability of grapes and musts to achieve successful spontaneous fermentation.

Approach

The yeast population of the *Winery Albert Mathier et Fils* (environmental samples, grapes and musts), our cooperation partner, was characterized by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis, and polyclonal antibodies were developed for incorporation into a semi-quantitative yeast-detection biochip. The dynamic behavior of the yeasts in qvevris was investigated, for the first time, using a sensitive quantitative real time PCR (qPCR) assay to determine their impact on the wine composition and aroma. The aroma was evaluated by gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS GC-MS) and qvevri wines from different wineries throughout Europe were chemically analyzed also for the first time.

Results

Non-*Saccharomyces* yeasts were found to be present during the entire fermentation process, with *Rhodotorula mucilaginosa* and *Pichia anomala* the most abundant. So-called spoilage

yeasts were also found in all fermentations, but problematic fermentations with high levels of acetic acid were only observed when the fermentation lag phase was extended. The production of ethyl acetate, which is a potential off-flavor, was favored by non-*Saccharomyces* yeasts in laboratory microfermentation experiments (Fig. 2).

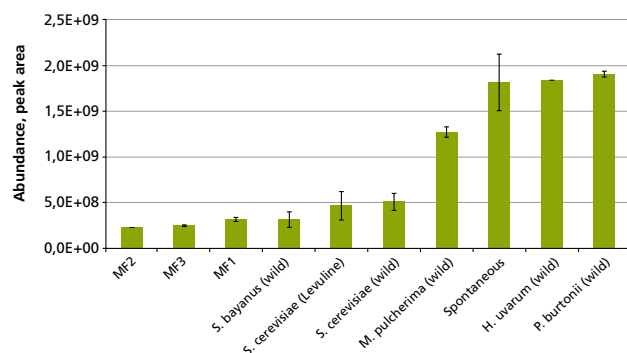


Figure 2: Ethyl acetate produced in micro-scale fermentations inoculated with individual or mixed yeast species, or spontaneous fermentation.

Conclusion

Our results provide the basis to establish a semi-quantitative yeast-detection biochip based on the ability of antibodies to distinguish different wild yeast species. The predominant yeasts found in the winery (i.e. *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula mucilaginosa* and some *Pichia* species) can be incorporated to this system.

Contact / Ansprechpartnerin

Cecilia Diaz N.

Tel: +49 2972 302-138

cecilia.diaz@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Qvevri vessels buried in the ground.

TIERMETABOLISMUSSTUDIEN AM FRAUNHOFER IME

LIFESTOCK METABOLISM STUDIES AT FRAUNHOFER IME

Hintergrund und Ziele

Im Rahmen der Zulassung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) sind Studien vorgesehen, die den Verbleib und Metabolismus der Substanzen in repräsentativen Produkten tierischer Herkunft (Fleisch, Eier oder Milch) untersuchen, um eine unmittelbare Gefährdung des Verbrauchers durch kontaminierte Lebensmittel zu vermeiden. Metabolismusstudien werden in der Regel mit Geflügel und Wiederkäuern durchgeführt. Studien mit Süßwasserfischen (Karpfen und Regenbogenforelle) sind in Zukunft für die Registrierung erforderlich, wenn PSM zur Behandlung von Nutzpflanzen eingesetzt werden, die bei der Herstellung von Fischfutter Verwendung finden. Die Voraussetzung für eine Risikobewertung im Hinblick auf den Verbraucherschutz sind Methoden zur Erfassung oder Abschätzung des Verbleibs von Substanzen in der Umwelt. Bei begründetem Verdacht einer Exposition von Nutztieren durch Futter oder andere Faktoren ist die Erforschung der Aufnahme-, Verteilungs- und Transformationsprozesse unerlässlich.

Projektbeschreibung

Das Fraunhofer IME führt bereits seit mehr als zehn Jahren Metabolismusuntersuchungen von Pestiziden in Pflanzen in speziellen Versuchsanlagen und unter Verwendung einer hochspezifischen chemischen Analytik durch.

Die Durchführung von Metabolismusuntersuchungen in Tieren ist im IME derzeit auf Untersuchungen zur Akkumulation von Substanzen in Fischen beschränkt. Das Interesse liegt dabei in der Aufnahme (Resorption) von Substanzen aus kontaminiertem Futtermittel über den Verdauungstrakt und der anschließenden Anreicherung im Filet. Als Mitglied in einer Expertengruppe hat das IME zur Entwicklung einer Richtlinie zur Durchführung von Fischmetabolismusstudien beigetragen, die im Frühjahr 2013 in die Pflanzenschutzmittelregulation gemäß EC 1107/2009 aufgenommen werden soll.

Im Forschungszentrum Neu-Ulrichstein in Homberg (Ohm) entsteht momentan in Kooperation mit dem Fraunhofer IME eine

Versuchsanlage für Metabolismusstudien mit landwirtschaftlichen Nutztieren. Auf einer Stallfläche von mehr als 800 m² können zukünftig Studien gemäß OECD-Richtlinie mit Geflügel und Wiederkäuern durchgeführt werden. Legehennen, Schafe, Ziegen und Kühe stehen als Versuchstierarten zur Verfügung. Zentraler Bestandteil der Versuchsanlage ist der Radionuklid-Stallbereich. Weitere Stallungen und Freiflächen für Fütterungsstudien ohne Radiotracer ergänzen das Angebot und bieten Möglichkeiten für eine Vielfalt von Studientypen, die über die normalen OECD-Routinetests hinausgehen. So können neben den vorgeschriebenen Tests für Pflanzenschutzmittel auch Studien mit Bioziden oder persistenten organischen Schadstoffen (PCBs) durchgeführt werden, welche die vollständige Untersuchung des Bodeneintrags und Transfers in Nahrungspflanzen und Tiere zum Ziel haben.

Tiermetabolismusstudien sollten unter möglichst stressfreien Haltungsbedingungen durchgeführt werden, um eine Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse zu vermeiden. Die neue Versuchsanlage ermöglicht die Durchführung von Studien unter den von den Tieren bereits gewohnten optimalen Haltungsbedingungen und gewährleistet, dass die Tiere vor, während und nach den Tests geringstmöglichem Stress ausgesetzt werden. Die Tiere werden von erfahrenem Personal betreut und stehen unter ständiger Kontrolle einer Tierärztin. Das Forschungszentrum Neu-Ulrichstein setzt damit Maßstäbe für die Durchführung von Tiermetabolismusstudien.

Auftraggeber / Sponsor

Die Forschungsaktivitäten werden durch Mittel der Fraunhofer-Gesellschaft, des Forschungszentrums Neu-Ulrichstein und der Mesocosm GmbH finanziert.



Background and aims

Information provided for the authorization of plant protection products (PPPs) must be sufficient to permit the evaluation of risks to humans arising from active substance residues and relevant metabolites remaining in animal-derived foods such as meat, milk and eggs. Metabolism studies are necessary whenever PPP residues are likely, and are usually carried out using poultry (laying hens) and ruminants (goats). Metabolism studies in freshwater fish (rainbow trout or common carp) will be necessary in the future for the authorization of PPPs used in crops that are fed to farmed fish.

The risk assessment of PPPs in the context of consumer protection requires methods that predict the fate and behavior of active substances in the environment. If there is reasonable suspicion that farmed animals are exposed to PPPs through feed or other routes, it will be necessary to investigate the uptake, distribution and transformation of these substances.

Approach

Fraunhofer IME has carried out metabolism studies focusing on pesticides in plants for more than 10 years using its dedicated experimental facilities and state-of-the-art analytical methods.

Metabolism studies with animals are currently limited to investigations in fish, specifically the uptake of PPPs from contaminated feed leading to the accumulation of active substances in filets. As a member of an expert group, Fraunhofer IME has contributed to the development of a guidance document for the implementation of fish metabolism studies. The document will be published in spring 2013 to support EU Directive EC 1107/2009.

New test facilities for livestock metabolism studies are under construction at the Research Centre Neu-Ulrichstein in Homberg (Ohm) in partnership with Fraunhofer IME. The facilities include large stables with a ground-plan area of more than 800 m² which is suitable for studies using poultry

and ruminants according to OECD guidance documents. Laying hens, sheep, goats and cows are available as experimental animals. The central part of the new stable facilities is a radionuclide area. Additional buildings and open space will be available for feeding studies without radiotracers, providing opportunities for a broad range of studies exceeding the standard OECD tests. These will include investigations concerning the fate of biocides and persistent organic pollutants (e.g. PCBs) focusing on the transfer of such compounds to soil, crops and livestock.

Animal metabolism studies must be carried out under stress-free conditions to avoid experimental artifacts. The new experimental facilities will allow metabolism studies to be carried out under optimal husbandry conditions to guarantee that the animals are maintained without stress before, during and after the experiments. Experienced stockmen and a veterinarian will monitor the well-being and health of the animals. With these new test facilities, the Research Centre Neu-Ulrichstein and Mesocosm GmbH will set performance benchmarks for livestock metabolism studies.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Christian Schlechtriem
Tel: +49 2972 302-186
christian.slechtriem@ime.fraunhofer.de

Dr. Dieter Hennecke
Tel: +49 2972 302-209
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Forschungszentrum Neu-Ulrichstein / Mesocosm GmbH
Prof. Dr. Klaus Peter Ebke
Tel: +49 6633 642-740
ebke@neu-ulrichstein.de

SÄULENAPPLIKATION ZUR HERSTELLUNG VON TESTLÖSUNGEN HOCH LIPOPHILER SUBSTANZEN

COLUMN GENERATED CONCENTRATIONS OF HIGHLY-LIPOPHILIC TEST SUBSTANCES

Hintergrund und Ziele

Hoch lipophile Testsubstanzen (HLS; $\log K_{ow} > 5$) sind gekennzeichnet durch eine niedrige Wasserlöslichkeit und ein hohes Adsorptionspotential. Spezielle Methoden zur Herstellung von Testmedien sind daher erforderlich, wenn HLS im Rahmen von ökotoxikologischen Studien untersucht werden. Der Einsatz von Lösungsvermittlern zur Steigerung der Löslichkeit dieser Substanzen kann die Ergebnisse der Studien beeinflussen und sollte daher vermieden werden. Testlösungen mit HLS können durch die Herstellung von Water Accommodated Fractions (WAF) erzielt werden. Entsprechende Methoden wurden durch CONCAWE (1992) und ASTM (1997), und modifiziert durch Schäfers *et al.* (2009), beschrieben. Die Herstellung von WAFs erfolgt durch langsames Rühren der Testsubstanz im Testmedium bis stabile Konzentrationen erreicht werden. Die kontinuierliche Produktion von WAFs ist auf diese Weise jedoch nicht möglich, wodurch der Einsatz auf semi-statische Tests begrenzt wird. Ziel dieser Studie war es zu prüfen, ob Testlösungen mit konstanten HLS-Konzentrationen durch eine modifizierte Säulenelutionstechnik gemäß OECD 105 (1995) erzielt werden können, die im Rahmen von Durchflussstudien (z. B. nach OECD 305) eingesetzt werden können.

Projektbeschreibung

Glassäulen (Höhe: 60 cm, Innendurchmesser: 5 cm; Figure 4) wurden mit einer adsorptiven Matrix (Florisil) gefüllt, die zuvor mit Hexachlorbenzol (HCB, $\log K_{ow} = 5,2$) oder PCB 153 ($\log K_{ow} = 7,8$) angereichert wurde. Die Wasserflussrate wurde in Abhängigkeit von der Testsubstanz zwischen 1 und 10 mL/min eingestellt. Die durch die Säulentechnik generierten Konzentrationen wurden regelmäßig gemessen (GC/MS) und über einen Zeitraum von 56 Tagen erfasst. Die aus der Säule austretende Lösung wurde mit Leitungswasser in einer Mischkammer verdünnt, um die Einstellung gewünschter Testkonzentrationen für eine Durchflussstudie nach OECD 305 zu erzielen.

Ergebnisse

Testmedien mit konstanten Konzentrationen konnten mit der Säulenelutionstechnik über einen Zeitraum von acht Wochen für HCB (0,4 µg/L) und PCB 153 (30 ng/L) erzielt werden (Figure 1, 2). Die Produktionsmenge von zwei Glassäulen erlaubte dabei den siebenfachen täglichen Austausch der Testmedien in 80 L fassenden Versuchsbecken. Die gemessenen Abweichungen von der Durchschnittskonzentration der Testmedien waren dabei stets kleiner als $\pm 20\%$.

Fazit

Die Säulenelutionstechnik ermöglicht die Herstellung konstanter HLS-Konzentrationen über einen langen Versuchszeitraum und eignet sich daher für den Einsatz im Rahmen von Durchflussstudien. Die Lösungskonzentrationen liegen stets unterhalb der substanzspezifischen Wasserlöslichkeit. Der Einsatz von Lösungsvermittlern ist nicht erforderlich.

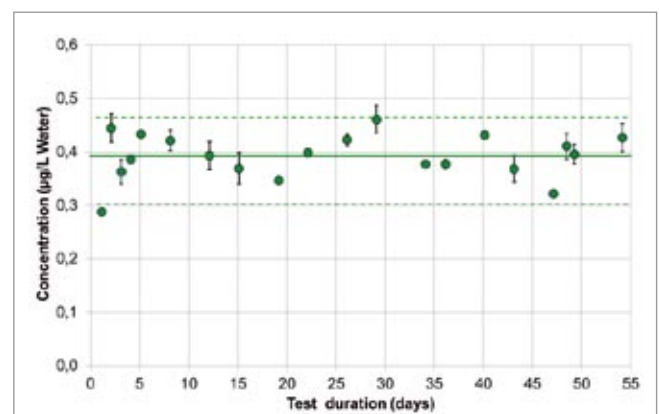
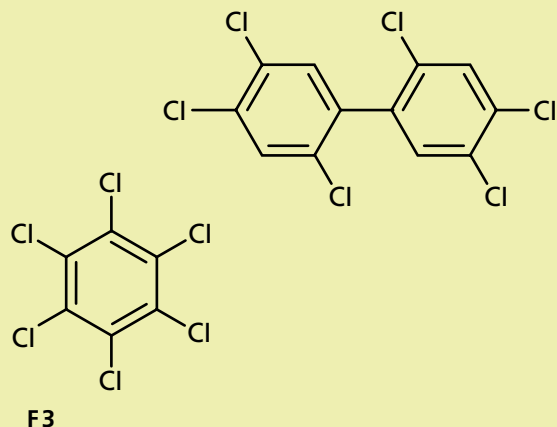


Figure 1: Constant HCB concentrations (mean $\pm 20\%$) generated using the column-elution technique, and verified by GC-MS after SPME.

Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt (UBA), FKZ 3710 63 402 2



Background and aims

Highly-lipophilic test substances (HLS) are characterized by $\log K_{ow}$ values >5 , poor solubility in water and a high potential for adsorption. Aqueous ecotoxicology studies of such substances for regulatory purposes therefore require specific methods for the preparation of test media. The use of solvents and solubilizing agents for the preparation of concentrated stock solutions is not recommended because these may cause test artifacts. Alternatively, HLS test solutions can be prepared using water-accommodated-fraction (WAF) methods according to CONCAWE (1992) and the ASTM standard D6081-97 (ASTM, 1997), with possible modifications as described by Schäfers et al. (2009). WAFs are prepared by stirring the test substance in test media under slow-stir conditions until stable concentrations are reached. However, this only allows the batch preparation of test solutions and is not suitable for flow-through tests where a continuous supply of test media is required. The aim of this study was to determine whether constant concentrations of HLS can be generated and maintained using a column-elution technique similar to OECD 105 (1995).

Approach

Glass columns (height: 60 cm; inner diameter: 5 cm) as shown in Fig. 4 were filled with a carrier material (Florisil) loaded with hexachlorobenzene (HCB; $\log K_{ow} = 5.2$) or PCB 153 ($\log K_{ow} = 7.8$) and the water flow rate was adjusted to 1–10 mL/min, depending on the compound. HLS concentrations generated on the column were measured regularly by GC/MS over a period of 56 days. The column outlet was diluted with fresh water in a mixing chamber to achieve the desired HLS concentrations.

Results

Constant concentrations were achieved for HCB (0.4 $\mu\text{g/L}$) and PCB 153 (30 ng/L) over a period of 8 weeks (Fig. 1, 2). The diluted outlet of two columns was sufficient to achieve a seven-fold replacement of test medium in experimental tanks with a

volume of 80 L, with a deviation in the measured concentrations of $\pm 20\%$ compared to the estimated time-weighted average concentration.

Conclusion

The column-elution technique is suitable for delivering constant concentrations of HLS at low ppb levels and below water solubility for flow-through tests, without the need for solvents or solubilizing agents.

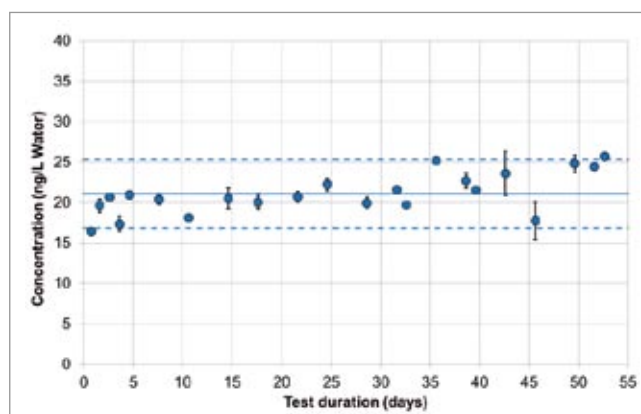


Figure 2: Constant PCB 153 concentrations (mean $\pm 20\%$) generated using the column-elution technique, and verified by GC-MS after SPME.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Christian Schlechtriem
 Tel: +49 2972 302-186
 christian.slechchtriem@ime.fraunhofer.de

Dr. Josef Müller
 Tel: +49 2972 302-216
 josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Figure 3: HCB (left) and PCB 153 molecules.

Figure 4: Glass columns filled with carrier material.

PROJEKTGRUPPE TRANSLATIONALE MEDIZIN UND PHARMAKOLOGIE

PROJECT GROUP TRANSLATIONAL MEDICINE AND PHARMACOLOGY

Hintergrund

Trotz exponentiell steigender Ausgaben für die Entwicklung neuer Arzneimittel und wachsender wissenschaftlicher Erkenntnisse ist die Zahl der Zulassungen neuer Arzneimittel in den letzten 10 Jahren stetig gesunken. Vor allem bei innovativen Wirkstofftargets sind hohe Investitionen und Ausfallraten in der klinischen Entwicklung zu verzeichnen, da Modelle zur Vorhersehbarkeit von Wirksamkeit und Sicherheit oft fehlen. Künftige wegweisende Fortschritte in der Arzneimittelforschung sind abhängig von einem umfassenden Verständnis der komplexen klinischen Grundlagen von bisher nicht oder nur unzureichend behandelbaren Erkrankungen.

Die Fraunhofer-Gruppe TMP ist mit Unterstützung der Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz (LOEWE) im Rahmen des Schwerpunkts „Anwendungsorientierte Arzneimittelforschung“ in Frankfurt angesiedelt worden. Die Gruppe verfolgt das Ziel, prädiktive pharmakologische Modelle zu entwickeln, um frühestmögliche Aussagen über die Wirksamkeit und Sicherheit von Arzneistoffen treffen zu können, um Fehlentwicklungen und Nebenwirkungen schon vor Beginn kostenintensiver klinischer Phasen zu erkennen. Die Indikationsschwerpunkte der Projektgruppe sind Entzündung inkl. Rheumatologie und Schmerz sowie neurodegenerative Erkrankungen.

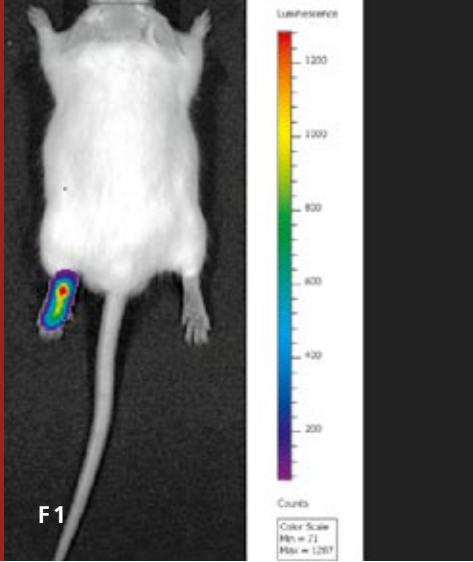
Neue Analgetika als potentielle antientzündliche Wirkstoffe mit geringeren Nebenwirkungen

Nicht-steroidale antientzündliche Wirkstoffe (NSAIDs) sind lange bekannt und werden vielfach zur Behandlung von Schmerzen, Fieber und entzündlichen Erkrankungen verschrieben. Alle Wirkstoffe dieser Substanzklasse inhibieren den Arachidonsäuremetabolismus. Somit wird die Synthese von Prostaglandinen (PGs) gehemmt, sowohl jene, die Entzündungen sowie Schmerzempfindung fördern, als auch von Thromboxanen (Tx), welche die Plättchenaggregation und Thrombose stimulieren. Traditionelle NSAIDs inhibieren u. a. das Enzym Cyclooxygenase (COX)-1 und dadurch die Bildung proinflammatorischer

PGs bei akuter Entzündung, aber auch in anderen Geweben wie Niere und Magen, was zu unerwünschten Nebenwirkungen führt. Andererseits kann die Hemmung von COX-1 in Thrombozyten auch einen therapeutischen Nutzen haben. Während die meisten Stoffe dieser Klasse kompetitive COX-Hemmer sind, führt die Acetylierung des Enzyms durch Aspirin zu irreversibler Hemmung. Dies dient dem kardiovaskulären Schutz, da Thrombozyten COX-1 nicht regenerieren können. Das ist die Grundlage für die Anwendung von niedrig dosiertem Aspirin in der Prophylaxe bei kardiologischen Erkrankungen. Neuartige COX-2-selektive Inhibitoren wie Celecoxib hemmen die Produktion pro-inflammatorischer PGs, wenn COX-2 bei Entzündungen induziert wird, jedoch nicht COX-1 und führen deshalb zu geringeren Schädigungen des Magens. In der klinischen Praxis erhöhen COX-2-Hemmer allerdings das Herzinfarkt- und Schlaganfallrisiko. In den Blutgefäßen exprimiertes COX-2 erzeugt PGI₂, das als Hemmer der Plättchenaggregation wirkt. Längere Behandlung mit COX-2-Hemmern erhöht deshalb das Thromboserisiko. Fraunhofer IME-TMP untersucht neue Substanzklassen mit anti-entzündlichen Eigenschaften und geringeren gastrointestinalen und kardiovaskulären Nebenwirkungen.

Neues Therapiekonzept bei Sepsis

Sepsis oder Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (SIRS) besitzt eine Mortalitätsrate von 30 - 60% und betrifft Millionen von Menschen. In den USA sterben mehr Menschen an Sepsis als an Brust-, Lungen- und Darmkrebs zusammen und ist die häufigste Todesursache auf Intensivstationen. Neue Therapieansätze konzentrierten sich auf die Inhibition entzündlicher Prozesse und proinflammatorischer Zytokine. Diese Ansätze waren bisher nicht erfolgreich, da die Aktivierung der Immunreaktion und Entzündung nur in der frühen Phase der Sepsis auftritt. Danach folgt eine Periode unterdrückter Immunität begleitet von der Bildung antientzündlicher Zytokine und massiver Apoptose von Immunzellen. Der resultierende Verlust von Lymphozyten und der Abwehrmechanismen ist der wesentliche Faktor der Mortalität bei schwerer Sepsis.



Background

Pharmaceutical research promotes the development of new drugs and enhances our understanding of how they work. However, R&D costs have increased exponentially whereas the number of new drug registrations has declined steadily over the last 10 years, partially because the identification of drug targets for inadequately-understood diseases requires more extensive investment in discovery research but has a high attrition rate. This reflects the lack of validated clinical models for efficacy and safety, and intensive efforts are currently underway to develop new disease models and preclinical/clinical biomarkers, allowing R&D projects to be translated into benefits for patients. The Fraunhofer Translational Medicine and Pharmacology project group in Frankfurt focuses on applied drug research and is supported by the Hesse State Offensive for the Development of Scientific-Economic Excellence (LOEWE). The initiative brings together drug research groups from Goethe University Frankfurt working on preclinical studies, clinical model development and clinical research. We aim to promote drug development by collaborating with the Fraunhofer IME and industry partners to introduce predictive experimental and clinical models for the early assessment of drug efficacy and safety. Drawing on cutting-edge research activities, the project group applies the latest technology and research concepts in collaborative projects, with pre-competitive research focusing on the treatment of chronic inflammatory joint disease, pain, neurodegenerative disorders and cardiovascular disease.

Novel analgesics as potential anti-inflammatory drugs with reduced side effects

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have a long history and are widely used for the treatment of pain, fever and inflammatory disorders. All drugs in this class are inhibitors of the oxidative metabolism of arachidonic acid, thus preventing the synthesis of prostaglandins (PGs), including those which promote inflammatory responses and sensitivity to pain, as well as thromboxanes (Tx), one of which stimulates platelet

aggregation and thrombosis. The traditional NSAIDs are all inhibitors of the enzyme cyclo-oxygenase 1 (COX-1) and can also inhibit its isoform COX-2 to different degrees. They inhibit the production of pro-inflammatory PGs during acute inflammation, but also in other tissues such as the kidney and stomach, leading to gastric side effects. In contrast, the inhibition of platelet COX-1 can be used to therapeutic benefit.

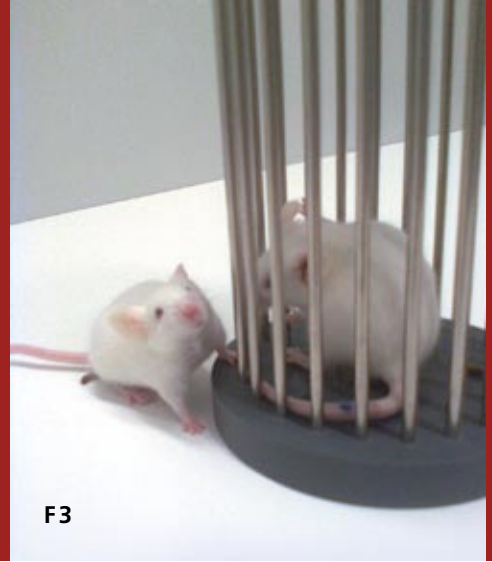
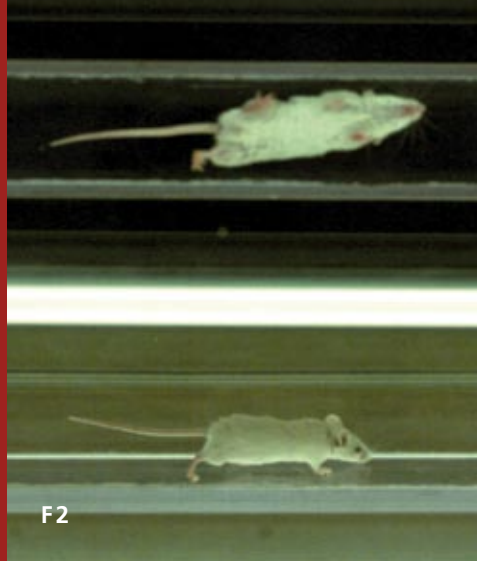
Whereas most NSAIDs are competitive COX inhibitors, aspirin acetylates the enzyme (COX-1 and COX-2) and thus causes irreversible inhibition. This is particularly advantageous in cardiovascular protection because platelets contain no nucleus and cannot regenerate COX-1, so recovery from aspirin inhibition only occurs when new platelets are formed. This is the basis for the use of low-dose aspirin as a prophylactic therapy for cardiac injury.

Novel selective inhibitors of COX-2, such as celecoxib, inhibit the production of pro-inflammatory PGs when COX-2 is induced during inflammation, but do not inhibit COX-1 and thus avoid tissue injury in the stomach. In clinical practice, COX-2 inhibitors were shown to increase the risk of heart attack and stroke due to the inhibition of reactive COX-2 expression in the blood vessel wall. Here, COX-2 generates PGI₂, which is an inhibitor of platelet aggregation. Long-term treatment with COX-2 inhibitors therefore exacerbates thrombotic events. The Fraunhofer IME-TMP group is therefore investigating new anti-inflammatory compounds with reduced gastric and cardiovascular side effects.

New therapy concept for sepsis

Severe sepsis or systemic inflammatory response syndrome (SIRS) affects millions of people around the world with a mortality rate of 30-60%. In the United States, mortality from severe sepsis is greater than that of breast cancer, lung cancer, and colon cancer combined, and is the primary cause of death in the non-coronary intensive care unit (ICU).

Figure 1: Luminescence after zymosan injection in left paw.



Die Regulation der Immunantwort bei der Sepsis ist hochkomplex und beinhaltet eine Vielzahl zellulärer Signalprozesse. Derzeit synthetisieren und testen Wissenschaftler des TMP neuartige Substanzen, die spezifische Signalwege beeinflussen.

Repositionierung von bekannten Wirkstoffen für neue Indikationen

Ein neuer Ansatz zur Steigerung der Produktivität in der Pharmaforschung beinhaltet einerseits eine Verbesserung der Translation von experimentellen Forschungsergebnissen und andererseits die Neubewertung von potenziell alternativen Anwendungen von bekannten Wirkstoffen (Repositionierung). Innerhalb der Projektgruppe TMP werden sowohl zelluläre als auch Tiermodelle entwickelt, die eine bessere Vorhersagbarkeit der klinischen Wirksamkeit am Patienten ermöglichen sollen. Der Schwerpunkt wird hier auf autoimmun-vermittelte und neurodegenerative Erkrankungen gelegt, wie z. B. auf die Untersuchung der Rolle von Lipid-Mediatoren im Zusammenhang mit der Immunreaktion und Symptomen in Tiermodellen der Multiplen Sklerose (MS). Systematische Untersuchungen von biochemischen und immunologischen Zuständen, von Läsionen und darüber hinaus von kognitiven Fähigkeiten sowie des Verhaltens ermöglichen die Übertragung der Effekte von Wirkstoffkandidaten auf MS-Patienten. Vor dem Hintergrund des Bedarfs an effektiven, sicheren und oral verfügbaren MS-Wirkstoffen, arbeitet Fraunhofer IME-TMP an der Repositionierung von bekannten Wirkstoffen. Bei bekanntem pharmakologischem Sicherheitsprofil kann sich die Forschungsarbeit auf die Wirksamkeit und den Wirkmechanismus in Tiermodellen und klinischen Prüfungen konzentrieren.

Klinische Forschung

Der Bereich klinische Forschung der Fraunhofer-Projektgruppe TMP befasst sich mit der Erforschung und Entwicklung innovativer, zielgerichteter Therapien insbesondere entzündlicher und (auto)immunvermittelter Erkrankungen. Mittels Etablierung einer standardisierten Biomaterial-Bank soll durch die Gewinnung

von Gewebe- und Blutproben von Patienten neben der Target identifikation und -validierung am humanen Material auch die Prüfung von Substanzen und deren Aktivität an Patientenmaterial ermöglicht werden. Daneben werden durch die Durchführung klinischer Studien der Phasen 1-3 zielgerichtete Therapien am Menschen untersucht sowie deren Effizienz und Sicherheit bewertet. 2012 ist es gelungen, die ersten Voraussetzungen zum Aufbau der Biomaterial-Bank zu schaffen. Räumliche und organisatorische Strukturen wurden definiert, um das Sammeln von Gewebe- und Blutproben zu strukturieren und geeignete Bedingungen zur probengerechten Lagerung vorzugeben. Zur minimalinvasiven Gewinnung von Gewebeproben wurde eine Einheit zur sonographiegestützten Probenentnahme eingerichtet. Ende 2012 konnte eine Kooperationsvereinbarung mit der Firma Pfizer zur Untersuchung einer Methode zur Definition von Krankheitsaktivität bei Psoriasis-Arthritis in einem deutschlandweiten multizentrischen Projekt geschlossen werden.

Auftraggeber / Sponsor

LOEWE und Pfizer Pharma GmbH

Kooperationspartner / Cooperation partner

Goethe-Universität Frankfurt:

- Prof. Dr. D. Steinhilber, Prof. Dr. H. Stark, Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec, Institut für Pharmazeutische Chemie
- Dr. M. Wacker, Institut für Pharmazeutische Technologie
- Prof. Dr. B. Brüne, Prof. Dr. A. von Knethen, Institut für Biochemie I
- Prof. Dr. K. Scholich, Prof. Dr. I. Tegeder, Dr. S. Schiffmann, Institut für Klinische Pharmakologie
- Prof. Dr. J. Pfeilschifter, Institut für Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie



Recently, novel therapeutic approaches for severe sepsis have focused on the inhibition of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α . Unfortunately, these approaches are unsuccessful because the immune response and inflammation are triggered solely during the early phase of sepsis. There is a subsequent period of compensatory suppressed immunity involving the production of anti-inflammatory cytokines and massive apoptosis (programmed cell death) of immune cells. The resulting loss of lymphocytes and of host defense is now known to be the major factor in mortality due to severe sepsis. The regulation of the immune response generally and particularly during sepsis is highly complex and many cellular signaling processes are known to be involved. IME-TMP researchers are synthesizing and testing novel compounds which target particular signaling pathways.

Repositioning existing drugs for use in novel indications

The costs of bringing a new drug to the market are increasing and the number of new drug approvals has declined significantly over the last 10 years, so there is renewed interest in the "repositioning" of approved drugs by assessing potential alternative therapeutic activities. The IME-TMP group is developing cellular and animal models that can more closely reflect the responses observed in patients in the clinic, focusing on autoimmune and neurodegenerative diseases. For example, we are studying the role of lipid mediators in relation to immune reactions and symptoms in animal models of multiple sclerosis (MS). Using a systemic approach including biochemical, immunologic, lesional, behavioral and cognitive assessments, it is possible to translate the effects of candidate drugs in animals more precisely to human MS patients. In view of the clinical need for effective, safe, orally active drugs in the treatment of MS, the IME-TMP group is also attempting to reposition known drugs for use in patients with MS. With a well-documented safety profile in humans, the research has concentrated on demonstrating efficacy and mechanisms of action in animal models and in clinical trials.

Clinical research

The clinical research division of the IME-TMP group in the Goethe University Hospital, Frankfurt am Main, focuses on the development of innovative, indication-orientated therapies, particularly for inflammatory and (auto)immune-mediated diseases. The establishment of a standardized biomaterial bank, consisting of patient tissue and blood samples, is intended, together with target identification and validation, to facilitate the clinical testing of drugs and the assessment of their activities. In addition, we investigate the efficacy and safety of targeted therapies in phase I-III clinical trials. During 2012, we fulfilled the basic requirements for the establishment of the biomaterial bank. Facilities for the storage of samples have been allocated and organizational structures for the collection of tissues and blood samples have been defined. A unit for sonography-based, minimally-invasive tissue sampling has been set up. Drawing on the expertise of clinical specialists within Goethe University, the competence of the clinical research division has already attracted industrial partners. At the end of 2012, a co-operation agreement for an investigator-initiated research project was signed with the pharmaceutical company Pfizer. The nationwide, German multicenter project, which involves the validation of a method to define disease activity in psoriatic arthritic patients, is due to start in early 2013.

Ansprechpartner / Contact

Prof. Dr. Dr. Geisslinger
 Tel: +49 69 6301 - 7619
gerd.geisslinger@ime.fraunhofer.de

Figure 2: Gait analysis in a mouse model of MS.

Figure 3: Social recognition in mice.

Figure 4: Pfizer representative presenting the approval of funding for the Xiralite project.

NAMEN, DATEN, EREIGNISSE

NAMES, DATES, EVENTS

HIGHLIGHTS AM FRAUNHOFER CHILE RESEARCH – FOR SYSTEMS BIOTECHNOLOGY (CSB)

Ressourcen und Leistungsmerkmale

Das Center erweiterte im Laufe des Jahres 2012 Ausstattung und Belegschaft entsprechend der Entwicklung bei seinen F&E-Programmen. Beim Personal bedeutete dies einen Zuwachs um mehr als 50 % auf 61 Mitarbeiter. Was die Ausstattung betrifft, schlug sich dies in neuen Einrichtungen an der PUCV (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso) nieder, wo das CSB jetzt zur Erforschung von Scale-up-Prozessen bei unseren therapeutischen Peptidprojekten bzw. Bioenergieprojekten über zwei neue Labore, eine neu errichtete Pilotanlage sowie korrespondierende Büroräume verfügt. Auch an der Universität von Talca erweiterte das CSB seine Laborkapazitäten. Darüber hinaus verbessern neue Einrichtungen zur chemischen Analytik die Kooperationsmöglichkeiten mit lokalen Firmen im Bereich Auftragsforschung.

Teilnahme an einer großen Aquakultur-Messe

Im Oktober 2012 nahm das CSB aktiv an der 7. Internationalen Aquakultur-Handelsmesse AQUASUR2012 in Puerto Montt, Chile, teil. Das CSB stellte an einem Messestand sein F&E-Angebot auf dem Gebiet der Aquakultur vor, so etwa sein Bioassayportfolio, seine Kapazitäten in der Bioinformatik und im Datenmanagement oder seine Plattformen zur Entwicklung neuer Vakzine sowie zur Produktion von Biogas. Bei der AQUASUR handelt es sich um die im jährlichen Wechsel veranstaltete größte und bedeutendste Industriemesse für Aquakultur in der südlichen Hemisphäre und ist eine Schwester der in Norwegen beheimateten AQUANOR. Die viertägige Messe wird im Zentrum der chilenischen Aquakulturindustrie, Puerto Montt, veranstaltet und zählte im letzten Jahr bei 19.000 Besuchern etwa 1000 Aussteller aus über 40 Ländern. Die Messe unterstreicht Chiles zentrale Stellung in der

Aquakulturindustrie als zweitgrößten Erzeuger von Lachs und drittgrößten von Fischmehl weltweit. Die international beachtete Messe bot dem CSB eine gute Bühne, auf sich aufmerksam zu machen und Chancen für neue F&E-Projekte mit chilenischen Partnern zu erschließen. Diese werden sich auf die Entwicklung von Präventionsstrategien sowie bei einem verbesserten Verständnis der Zusammenhänge auf die Behandlung diverser Fischerkrankungen bei einheimischen Arten konzentrieren. Unser chilenisches Team entwickelt in diesem Kontext zusammen mit den Kollegen am IME neue oral applizierbare Vakzine, die in Pflanzen exprimiert werden sollen, zudem therapeutische Peptide, die an Schlüsselstellen der Pathogenentwicklung ansetzen, um so alternative Behandlungskonzepte zu eröffnen. Zusammen mit anderen Partnern sollen auch darüber hinausgehende Ansätze in der angewandten Aquakultur verfolgt werden.

Ansprechpartner / Contact

Dr. Wolfgang Schuch, General Manager

Tel: +56 2378-1650

wolfgang.schuch@fraunhofer.cl



F1



F2



F3

HIGHLIGHTED EVENTS AT FRAUNHOFER CHILE RESEARCH – CENTER FOR SYSTEMS BIOTECHNOLOGY (CSB)

Resources and capability

During 2012, the CSB infrastructure grew in terms of equipment and personnel to meet the needs for its applied R&D programs. The number of R&D personnel at the CSB grew by more than 50%, from 40 at the end of 2011 to 61 at the end of 2012. In terms of infrastructure, the center has recently expanded into new facilities at PUCV (Pontificia Universidad Católica de Valparaíso) including two new laboratories, a pilot-scale facility and complementary office space which will be used to scale up processes developed in our Bioenergy and Therapeutic Peptides projects. Furthermore, our presence at the University of Talca was strengthened by expanding our laboratory space and the acquisition of new analytical chemistry equipment, which provides the CSB with a better platform to engage with local companies engaged in contract research.

CSB attends major aquaculture industry fair

FCR-CSB staff actively participated in the 7th international aquaculture trade show AQUASUR2012, held in Puerto Montt, Chile, October 9-13 2012. The CSB presented a trade booth to showcase our applied R&D projects in the area of aquaculture, including our platforms for novel vaccine development, bioassays, bioinformatics and data management capabilities, biogas production and net cleaning capabilities.

AQUASUR is the largest and most important meeting place for the aquaculture industry in the Southern Hemisphere and is a sister fair to AQUANOR, which is held in Norway. AQUASUR is held on alternate years in Puerto Montt, which is the heart of the Chilean aquaculture industry. With exhibitors from over 40 countries representing some 1000 companies, this year's trade show attracted approximately 19,000 visitors over the course of four days. This event highlights Chile's central position in

the aquaculture industry as the second largest producer of salmon and third largest producer of fishmeal in the world. This internationally renowned event provided a unique opportunity for CSB to announce its presence and to explore R&D opportunities with Chilean aquaculture companies. CSB projects in the aquaculture business field focus on strategies for the prevention, treatment and deeper understanding of diverse fish diseases that affect local species. Our team of Chilean researchers, together with their counterparts at Fraunhofer IME, is developing novel oral vaccines expressed in plants and therapeutic peptides that interfere with key steps in pathogen development, thus offering alternative disease control strategies. In collaboration with our local partner Fundación Chile, the CSB team is also investigating other aspects of applied aquaculture.

Figure 1: CSB exhibit at AQUASUR2012.

Figure 2: New Fraunhofer Chile Research laboratory space at Valparaíso.

Figure 3: Fraunhofer Chile Research laboratory space at Talca.

FRAUNHOFER US-CENTER FÜR MOLEKULARE BIOTECHNOLOGIE (CMB) ERWEITERT SEINE FORSCHUNGS- UND ENTWICKLUNGSPROGRAMME

Klinische Studien bestätigen die Sicherheit und Immunogenität des CMB-Influenzaimpfstoffes und validieren die pflanzenbasierte Produktionstechnologie

Eine abschließende Analyse der Ergebnisse aus dem Juni 2011 bestätigt die ursprüngliche Einschätzung über die Unbedenklichkeit und Immunogenität des Impfstoffs HAC1. Er ist somit in allen getesteten Dosen sowie mit oder ohne Adjuvans verabreicht sicher und gut verträglich. Die Studie ergab keinerlei ernst zu nehmende Hinweise auf eventuelle Komplikationen oder auf eine dosislimitierende Toxizität. Kein Proband brach die Studie auf Grund eines ungünstigen Verlaufs ab.

Die Analysen bestätigten darüber hinaus, dass der verabreichte HAC1-Impfstoff eine starke Immunantwort auslöst, die bei fehlender Adjuvansgabe direkt mit der verabreichten Dosis korreliert. Die Immunantwort fiel bei den Probanden am stärksten aus, welche die höchsten Dosen von HAC1 ohne Adjuvans erhalten hatten, und entsprach derjenigen, die durch den zur Kontrolle eingesetzten lizenzierten H1N1-Impfstoff induziert wurde.

Das CMB erhielt seinen ersten Auftrag vom National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), einem Institut der National Institutes of Health (NIH), um die Entwicklung von Impfstoffkandidaten und von Methoden voranzubringen, die zu einer stärkeren Immunantwort auf *Bacillus anthracis*, einerlei ob natürlichen oder künstlichen Ursprungs, führen.

Die diversen etablierten Kompetenzen des CMB wie etwa Biomasseproduktion, Agroinfiltration, Proteinreinigung, Formulierung, Stabilitätsstudien, präklinische Aktivitäten, Vorbereitung sowie Einreichung von IND-Anträgen (Investigational New

Drug Application) und schließlich die Durchführung klinischer Studien der Phase I werden zur Erreichung der im Vertrag geforderten Resultate beitragen.

CMB-ITEM - Kooperation erhält Zuschlag von der US States Defense Threat Reduction Agency (DTRA)

Das CMB arbeitet mit einer ursprünglich am Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin (ITEM) zur Herstellung neuer Impfstoffe entwickelten Technologie. Das Ziel des betreffenden Projekts ist die Entwicklung und Etablierung eines kostengünstigen, hochdurchsatzfähigen Systems zur Evaluierung der Impfstoffsicherheit und der Vakzinimmunogenität. Das System basiert auf *ex vivo*-Tests an humanem Lungengewebe.

Der über 3 Jahre laufende Vertrag hat die Überwindung eines der grundlegenden Engpässe bei der Evaluierung von Impfstoffen bezüglich ihrer Sicherheit und Immunogenität zum Ziel. Im Besonderen sollen Alternativen für die vor der klinischen Phase durchzuführenden langwierigen Testverfahren im Tiermodell gefunden werden.

Neue Kooperationsprojekte in Partnerschaft mit der Universität von Delaware

Die erfolgreiche Zusammenarbeit des CMB mit der Universität Delaware und dem Staat Delaware konnte auch 2012 fortgesetzt werden. Sie schlug sich auch in einer Forschungsprofessur für Dr. Vidadi Yusibov am Department of Biological Sciences der Universität Delaware nieder. Gemeinsam mit der Universität organisiert das CMB im Frühjahr 2013 unter dem Titel



FRAUNHOFER USA CENTER FOR MOLECULAR BIOTECHNOLOGY (CMB) EXPANDS ITS RESEARCH AND DEVELOPMENT ACTIVITIES

Clinical results confirm the safety and immunogenicity of a Fraunhofer USA CMB influenza vaccine and validate plant-based production technology

Final analysis has confirmed our June 2011 announcement of the safety and immunogenicity of the HAC1 vaccine, which was found to be safe and well tolerated at all dose levels with or without adjuvant. There were no reported serious adverse events or dose-limiting toxicities. No subjects withdrew from the study as a consequence of an adverse event.

The HAC1 vaccine elicited strong immune responses which correlated directly with the amount of antigen administered without adjuvant. The immune response was strongest in subjects receiving the highest dose of HAC1 without adjuvant, and was comparable with the immune response to the licensed, control H1N1 vaccine.

The CMB has received its first contract from the US National Institutes of Health (NIH) National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) to advance the development of candidate vaccine components and technologies that increase the immune response to *Bacillus anthracis* following natural outbreaks or intentional release.

The CMB will contribute multiple disciplines to complete the deliverables as outlined in the contract, including biomass generation, agroinfiltration, protein purification, formulation and stability studies, pre-clinical activities, pre-IND activities and IND submission, and finally the option to initiate a phase I clinical trial.

CMB-ITEM collaboration wins award from the United States Defense Threat Reduction Agency (DTRA)

The CMB is working with technology originally developed by the Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine (ITEM) in Hannover, Germany, to develop novel vaccines. The objective of the project is to develop and establish a cost-effective, high-throughput system to evaluate vaccine safety and immunogenicity using *ex vivo* human lung tissue.

The three year contract will address one of the most significant current bottlenecks in the evaluation of vaccine safety and immunogenicity, namely the lengthy testing in animal models prior to clinical development.

Figure 1: Fraunhofer CMB researchers working to develop next-generation anthrax vaccines.



„Life Sciences and Energy: Solutions for Sustainability“ ein Symposium, an dem prominente Wissenschaftler von verschiedenen Fraunhofer-Instituten sowie der Universität von Delaware teilnehmen sollen, um sich über ihre aktuelle Forschung auszutauschen und darauf aufbauend neue Kooperationsansätze zu identifizieren.

Der Staat Delaware gründete 2012 mit dem „Bioscience Center for Advanced Technology“ (CAT) eine neue Instanz, die über die Finanzierung innovativer kooperativer Forschungsprojekte mit einem hohen Verwertungspotential Synergien zwischen akademischen und industriellen Forschungsansätzen generieren soll.

Anfang 2012 wurden die ersten Fördermittel durch das CAT vergeben. Das CMB konnte sich mit dem Projekt „Bioinformatics Optimization for Recombinant Protein Expression for Vaccines and Therapeutics“ erfolgreich an den entsprechenden Ausschreibungen beteiligen.

Zur Stärkung der bestehenden Forschungspartnerschaft mit der Universität von Delaware hat das CMB ein neues Programm initiiert, um Projekten mit langwieriger Verwertungsperspektive die jeweiligen Erfahrungen von CMB- und Universitätsmitarbeitern zu erschließen. Die erste Förderrunde resultierte in der Auswahl von zwei Projekten. Das erste unter dem Titel „Enhancement of TMV-based vaccine expression in *N. benthamiana* by altering cell-to-cell movement capacity“ führt die Expertise einer durch Dr. Alex Prokhnevsky geleiteten Arbeitsgruppe des CMB auf den Gebieten Molekularbiologie, Virologie, Expression rekombinanter Proteine sowie Charakterisierung transgener Linien mit der Expertise des durch Dr. Jung-Youn Lee geleiteten Teams der Universität Delaware auf den Gebieten Plasmodienforschung, Molekularbiologie, Genetik, Biochemie sowie Zellbiologie einschließlich Konfokal- und Elektronenmikroskopie zusammen. Das zweite Projekt „Efficacy and stability testing of biologicals in novel, biologically-inspired matrices“ kombiniert die Fachbereiche der CMB-Mitarbeiter Dr. Jessika Chichester

und Dr. Mark Jones mit dem Spezialgebiet Polymermatrixentwicklung der auf Universitätsseite von Dr. Kristi Kiick geleiteten Arbeitsgruppe. Ziel dieses Projekts ist die Entwicklung von spezialisierten Polymergelen sowie der Nachweis ihrer besonderen Eignung für die Aufrechterhaltung von Stabilität und therapeutischer Wirksamkeit der am CMB produzierten Proteine.



New collaborative projects in partnership with the University of Delaware

The fruitful collaboration between the CMB, the University of Delaware and the State of Delaware continued in 2012, with the appointment of Dr. Vidadi Yusibov as a Research Professor in the University Department of Biological Sciences.

The CMB has also worked with the university to initiate the joint conference "Life Sciences and Energy: Solutions for Sustainability" scheduled for early 2013 and featuring prominent researchers from several Fraunhofer Institutes and University of Delaware counterparts in complementary fields, sharing their latest findings and exploring possibilities for further collaboration to resolve important challenges in each of these fields.

The State of Delaware Bioscience Center for Advanced Technology (CAT) was created in 2012 to promote synergies among the academic and industrial communities by funding innovative, collaborative research projects with the potential for economic impact.

The first round of CAT-funded research projects was awarded in the spring of 2012, including the CMB project "Bioinformatics Optimization for Recombinant Protein Expression for Vaccines and Therapeutics".

To promote its research partnership with the University of Delaware, the CMB also initiated a new program to foster early-stage projects combining the expertise of CMB and University researchers.

The first round of funding resulted in the selection of two projects. "Enhancement of TMV-based vaccine expression in *N. benthamiana* by altering cell-to-cell movement capacity" combines the expertise of the CMB group led by Dr. Alex Prokhnovsky in molecular biology, virology, recombinant protein expression and the characterization of transgenic lines, with the expertise of the University of Delaware group led

by Dr. Jung-Youn Lee in plasmodesmal research, molecular biology, genetics, biochemistry and cell biology, using confocal and electronic microscopy.

The second project, "Efficacy and stability testing of biologicals in novel, biologically-inspired matrices" combines the talents of CMB researchers Drs Jessica Chichester and Mark Jones with the expertise in polymer matrix development provided by the University of Delaware group led by Dr. Kristi Kiick. The goals of this project are to develop engineered polymer gels and demonstrate their ability to increase the stability and therapeutic efficacy of proteins produced by the CMB.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Vidadi Yusibov
Fraunhofer USA Center for Molecular Biotechnology
Newark, Delaware
Tel: +1 302 369-3034

Figure 2: Automated plant infiltration equipment at the Fraunhofer USA Center for Molecular Biotechnology.

Figure 3: Dr. Vidadi Yusibov, Executive Director of Fraunhofer USA CMB and Delaware Governor Jack Markell at the 2012 New Cells, New Vaccines conference organized by Fraunhofer CMB.

SYMPOSIUM „MODERN APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY“

Am 20. und 21. September 2012 nutzten etwa 160 junge Wissenschaftler aus Deutschland und China sowie Vertreter aus der Industrie die Möglichkeit zu einem fachlichen Austausch bei einem Symposium in Dresden. Das Treffen, gefördert vom Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) und der Technischen Universität (TU) Dresden bot eine exzellente Gelegenheit zur Etablierung von Kooperationen und der Nutzung von Synergiepotenzial in den jeweiligen Forschungsfeldern. Wissenschaftliche Ergebnisse wurden im Rahmen von Posterpräsentationen und Vorträgen teilweise sehr lebhaft diskutiert. Highlight der Veranstaltung waren die beeindruckenden Präsentationen von fünf Nachwuchsgruppen im Rahmen eines deutsch-chinesischen Forschungsprogramms des BMBF und des Ministry of Science and Technology (MOST), die auch für die Organisation des Symposiums mitverantwortlich waren. Die Forschung dieser Gruppen umfasst ein weites Feld biotechnologischer Themengebiete und erschließt neue Kooperationen zwischen jungen Wissenschaftlern der beiden Länder. Während beispielsweise in einem Projekt der Universität Ulm und der Academy of Military Medical Sciences Peking die Funktion von Darmbakterien und ihr Zusammenspiel mit dem Immunsystem erforscht wird, entwickeln Nachwuchsgruppen der TU Dresden zusammen mit Kollegen der Universitätsklinik der Sun-Yatsen-University in Guangzhou Materialien und Methoden für den Ersatz von beschädigten Knochen und für eine verbesserte Knochenregeneration.

Die Pathogen-Resistenz-Gruppe wurde unter der Leitung von Dr. Greta Nölke im April 2009 am Fraunhofer IME in Aachen etabliert. In enger Kooperation mit der Chinese Agricultural University (Peking) und der Huazong Agricultural University (Wuhan) erforscht die Pathogen-Resistenz-Gruppe die Erzeugung von biologisch sicheren Pflanzen, die gegen *Aspergillus* resistent sind. Die Resistenz gegenüber dem Pathogen soll durch die Expression von Fusionsproteinen, bestehend aus einem rekombinanten Antikörper (rAb) und einem antifungalen Peptid (AFP), erreicht werden. Während der ersten Phase des

Projektes wurden hochspezifische rAbs gegen Sporen und Hyphen von *Aspergillus* sowie gegen Aflatoxin B1 generiert. Zusätzlich konnten AFPs identifiziert werden, welche eine stark hemmende Aktivität gegenüber aflatoxinproduzierenden Pilzen aufweisen. Die AFP-rAb Fusionsproteine sind stabil und zugleich funktional im pflanzlichen Apoplasten und ermöglichen ein gezieltes Abtöten des Pathogens am Infektionsort. Die stabile Transformation von Mais als Hauptnutzpflanze und Untersuchungen zur Bestätigung der Resistenz gegen *Aspergillus* sind in Arbeit.



SYMPOSIUM: “MODERN APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY”

The event, organized by the German Academic Exchange Service (DAAD) in collaboration with the Technische Universität of Dresden, was held on 20-21 September 2012, in Dresden. The symposium was a great opportunity for almost 160 young German and Chinese researchers and industry representatives to develop synergies and relationships and further advance their fields of research. The participants presented their recent scientific findings in four parallel workshops and poster sessions which led to lively discussions. The highlights of the dynamic symposium included the exciting presentations of five German-Chinese Junior Research Groups (the co-organizers of the symposium) who were supported by a joint program funded by the BMBF and the Ministry of Science and Technology (MOST). These groups are pursuing research projects in diverse areas of biotechnology and have established new realms in bilateral Sino-German cooperation and in collaborations between young scientists. For example, young researchers from Ulm University are cooperating with colleagues from the Academy of Military Medical Sciences Beijing to investigate the function of certain intestinal bacteria and their interactions with the host immune system. Young researchers from the Technische Universität of Dresden and the First Affiliated Hospital at Sun-Yatsen University in Guangzhou are developing bone substitutes for the treatment of fractures, improving the rate and strength of bone regeneration. The other two groups are focusing on the improvement of nitrate-based fertilizers in rice and the development of new gene therapy strategies. The Pathogen Resistance group led by Dr. Greta Nölke was established at the Fraunhofer IME in Aachen in April 2009. In close cooperation with the Chinese Agricultural University and Huazhong Agricultural University, this group is investigating the generation of safe *Aspergillus*-resistant plants by expressing recombinant antibody fragments (rAbs) fused to antifungal peptides (AFPs) that strongly inhibit the pathogen. Within this project, highly specific rAbs against *Aspergillus* spores, mycelium structures and aflatoxin B1 have been generated,

and AFPs that can strongly inhibit the activity of aflatoxin-producing fungi have been identified. The AFP-rAb fusions are stable and functional in the plant cell apoplast where invading fungi are most vulnerable, and they inhibit fungal growth *in vitro*. The transformation of maize, a major crop which is susceptible to *Aspergillus* spp., is in progress to confirm resistance conferred by the fusion protein.

Figure 1: Participants of the Symposium: Modern Applications of Biotechnology.



WORKSHOP „ENVIRONMENTAL MONITORING OF BIOCIDES IN EUROPE – FROM PRIORITIZATION TO MEASUREMENTS“

Die Europäische Biozidprodukte-Richtlinie 98/8/EC und die Nachfolgeverordnung 528/2012 führen zu einer Veränderung des Biozidmarkts in Europa. Eine Reihe von Bioziden ist nicht mehr verkehrsfähig und wird vermutlich durch andere Wirkstoffe ersetzt. Die Zulassung kritischer Biozide erfolgt teilweise nur unter Auflage von Risikominderungsmaßnahmen. Diese Rahmenbedingungen werden vermutlich zu veränderten Einträgen betroffener Biozide in die Umwelt führen. Eine Möglichkeit, solche Änderungen zu überprüfen, ist die Durchführung eines Umweltmonitorings. Um einen breiten Erfahrungsaustausch zum Stand des Biozidmonitorings zu ermöglichen, wurde am 5. und 6. November 2012 in Berlin ein internationaler Workshop durchgeführt. Das Expertentreffen wurde unter dem Motto „Environmental Monitoring of Biocides in Europe – from Prioritization to Measurements“ gemeinsam vom Umweltbundesamt und dem NORMAN-Netzwerk (Network of Reference Laboratories for Monitoring of Emerging Environmental Pollutants) veranstaltet. Die Workshop-Organisation übernahmen Mitarbeiter des Fraunhofer IME im Rahmen des Forschungsvorhabens „Umweltbelastung durch Biozide: Erarbeitung der Eckpfeiler eines Monitoring-Messprogrammes für Einträge von Bioziden in die Umwelt“ (FKZ 3712 67 403). 65 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus mehr als zehn europäischen Staaten, die Forschungseinrichtungen, Wirtschaft, Consultants sowie Behörden und Ministerien repräsentierten, nahmen an der Veranstaltung teil. In 18 Vorträgen wurden die Schwerpunkte Priorisierung von Bioziden für ein Umweltmonitoring, Probenahme und Biozid-Analytik in unterschiedlichen Umweltkompartimenten sowie Monitoring-Datenbanken und Datenmanagement behandelt. Eine Vertiefung dieser Themen erfolgte am zweiten Tag in drei parallelen Arbeitsgruppen. Der Bericht zum Workshop sowie die Präsentationen sind über die Internetseiten des NORMAN-Netzwerks abrufbar (www.norman-network.net).

MODUL „GRUNDLAGEN DER ÖKOTOXIKOLOGIE“ IM RAHMEN DER FACHTOXIKOLOGIE-AUSBILDUNG DER DGPT

Neben den inzwischen etablierten Fortbildungsveranstaltungen zur Durchführung und Interpretation von Tests zur Umweltverträglichkeit von Substanzen für Mitarbeiter von Regulationsbehörden (Umweltbundesamt, ECHA) wurde am Fraunhofer IME in Schmallenberg in 2012 erstmals das Modul „Grundlagen der Ökotoxikologie“ im Rahmen der Fachtoxikologie-Ausbildung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie (DGPT) durchgeführt. Die Fortbildungsveranstaltung fand vom 24. - 28. Juli 2012 in Kooperation mit der Mesocosm GmbH in Homberg/Ohm statt. Die Teilnehmer aus Behörden, Industrie, Beratungsfirmen und aus Universitäten wurden in 17 Fachvorträgen sowie Demonstrationen an Testaufbauten im Labor in den Themen Verbleib und Wirkung von Substanzen in der Umwelt (Abbau, Persistenz, Bioakkumulation, Ökotoxikologie), Qualitätssicherung in Umweltprüfungen (GLP), regulatorische Stoffbewertung (REACH, Biozide, Arzneimittel, Pflanzenschutzmittel) und Umweltmedienbewertung durch Mitarbeiter des Fraunhofer IME geschult. Dabei wurde neben den theoretischen Grundlagen besonderes Augenmerk auf den angewandten Aspekt gelegt. So wurden mögliche Probleme bei der Testdurchführung aufgrund physikalisch-chemischer Eigenschaften der Testsubstanzen und die daraus folgenden Schwierigkeiten bei der Interpretation der Ergebnisse angesprochen. Um allen Teilnehmern einen Einblick in verschiedenste Versuchsanlagen zu ermöglichen, wechselten die Teilnehmer am letzten Tag zum jeweils anderen Standort der Parallelveranstaltung, um die dortigen Einrichtungen in Führungen kennen zu lernen. Aufgrund der positiven Resonanz der Teilnehmer soll die Fortbildungsveranstaltung auch im Jahr 2013 wieder am Fraunhofer IME in Schmallenberg und bei der Mesocosm GmbH in Homberg/Ohm stattfinden.



WORKSHOP “ENVIRONMENTAL MONITORING OF BIOCIDES IN EUROPE – FROM PRIORITIZATION TO MEASUREMENTS”

European legislation on biocidal products (Directive 98/8/EC and the succession Regulation 528/2012) has resulted in significant changes to the biocide market. Several biocides can no longer be marketed and will probably be replaced by other active ingredients, whereas others will only be authorized if obligatory risk mitigation measures are implemented. These conditions will probably alter the inputs of biocides into the environment. One way to evaluate such changes is the implementation of environmental monitoring. To enable the broad exchange of information on the state of biocide monitoring, an international expert workshop was held in Berlin in November 2012. The meeting was jointly hosted by the German Federal Environment Agency and the NORMAN association (Network of Reference Laboratories for Monitoring of Emerging Environmental Pollutants) under the motto “*Environmental Monitoring of Biocides in Europe - from Prioritization to Measurements*”. Fraunhofer IME personnel organized the workshop under the framework of the research project “*Development of cornerstones for a monitoring program for the assessment of biocide emissions into the environment*” (FKZ 3712 67 403). The meeting brought together 65 scientists from more than 10 European countries, representing academic research, industry, consultants, regulatory agencies and ministries. There were 18 lectures covering the prioritization of biocides for environmental monitoring, sampling and analysis of biocides in different environmental compartments, monitoring databases and data management. This was followed by intense discussion on the second day in three parallel working groups. The report on the workshop and the presentations are available on the NORMAN network website (www.norman-network.net).

FRAUNHOFER IME PROVIDES A SPECIALIST TRAINING MODULE FOR THE GERMAN SOCIETY FOR EXPERIMENTAL AND CLINICAL PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY IN THE “BASICS OF ECOTOXICOLOGY”

The Fraunhofer IME (Schmallenberg) runs established training events covering the implementation and interpretation of environmental tests on chemical substances, which are regularly held for employees of the German Federal Environment Agency and European Chemicals Agency. However, for the first time in 2012 we offered the module “basics of ecotoxicology” as part of the specialist toxicology training program offered by the German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT). The training course took place on 24–28 July in cooperation with Mesocosm GmbH (Homberg/Ohm). The participants represented government agencies, industry, consulting firms and universities, and enjoyed expert lectures and laboratory demonstrations provided by Fraunhofer IME personnel. The training covered diverse topics including fate and effects of substances in the environment (degradation, persistence, uptake and ecotoxicology), quality assurance in environmental assessment methods (GLP), and regulatory evaluation of substances (REACH, biocides, pharmaceuticals and crop protection agents). In addition to the theoretical principles, the course also focused on the applied aspects of ecotoxicology, including the prevention of assay artifacts caused by the physicochemical properties of different test substances and consequential difficulties in the interpretation of test results. The final day of the program saw the participants gather at the Mesocosm GmbH site to gain insight into their diverse test systems used for ecotoxicological testing. The feedback from the participants was very positive and the training session will therefore be repeated in 2013 at the Fraunhofer IME in Schmallenberg and at the Mesocosm GmbH site in Homberg/Ohm.

Figure 1: Biocide Monitoring Workshop in Berlin, poster session.

Figure 2: Specialist training for DGPT in Schmallenberg.



**NETZWERKE UND
KOOPERATIONEN
IN WISSENSCHAFT
UND INDUSTRIE**

**NETWORKS AND
COOPERATIONS
IN SCIENCE
AND INDUSTRY**



DIE FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT

Forschen für die Praxis ist die zentrale Aufgabe der Fraunhofer-Gesellschaft. Die 1949 gegründete Forschungsorganisation betreibt anwendungsorientierte Forschung zum Nutzen der Wirtschaft und zum Vorteil der Gesellschaft. Vertragspartner und Auftraggeber sind Industrie- und Dienstleistungsunternehmen sowie die öffentliche Hand.

Die Fraunhofer-Gesellschaft betreibt in Deutschland derzeit 66 Institute und Forschungseinrichtungen. Rund 22 000 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, überwiegend mit natur- oder ingenieurwissenschaftlicher Ausbildung, bearbeiten das jährliche Forschungsvolumen von 1,9 Milliarden €. Davon fallen 1,6 Milliarden € auf den Leistungsbereich Vertragsforschung. Über 70 % dieses Leistungsbereichs erwirtschaftet die Fraunhofer-Gesellschaft mit Aufträgen aus der Industrie und mit öffentlich finanzierten Forschungsprojekten. Knapp 30 % werden von Bund und Ländern als Grundfinanzierung beigesteuert, damit die Institute Problemlösungen bearbeiten können, die erst in fünf oder zehn Jahren für Wirtschaft und Gesellschaft aktuell werden.

Internationale Niederlassungen sorgen für Kontakt zu den wichtigsten gegenwärtigen und zukünftigen Wissenschafts- und Wirtschaftsräumen.

Mit ihrer klaren Ausrichtung auf die angewandte Forschung und ihrer Fokussierung auf zukunftsrelevante Schlüsseltechnologien spielt die Fraunhofer-Gesellschaft eine zentrale Rolle im Innovationsprozess Deutschlands und Europas. Die Wirkung der angewandten Forschung geht über den direkten Nutzen für die Kunden hinaus: Mit ihrer Forschungs- und Entwicklungsarbeit tragen die Fraunhofer-Institute zur Wettbewerbsfähigkeit der Region, Deutschlands und Europas bei. Sie fördern Innovationen, stärken die technologische Leistungsfähigkeit, verbessern die Akzeptanz moderner Technik und sorgen für Aus- und Weiterbildung des dringend benötigten wissenschaftlich-technischen Nachwuchses.

Ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern bietet die Fraunhofer-Gesellschaft die Möglichkeit zur fachlichen und persönlichen Entwicklung für anspruchsvolle Positionen in ihren Instituten, an Hochschulen, in Wirtschaft und Gesellschaft. Studierenden eröffnen sich aufgrund der praxisnahen Ausbildung und Erfahrung an Fraunhofer-Instituten hervorragende Einstiegs- und Entwicklungschancen in Unternehmen.

Die Verbünde der Fraunhofer-Gesellschaft

Die Institute der Fraunhofer-Gesellschaft kooperieren in Verbänden oder bündeln je nach Anforderung unterschiedliche Kompetenzen in flexiblen Strukturen. Fachlich verwandte Institute organisieren sich in derzeit sieben Forschungsverbänden und treten gemeinsam am FuE-Markt auf. Sie wirken in der Unternehmenspolitik sowie bei der Umsetzung des Funktions- und Finanzierungsmodells der Fraunhofer-Gesellschaft mit.

Forschungsverbände gibt es zu den Themen:

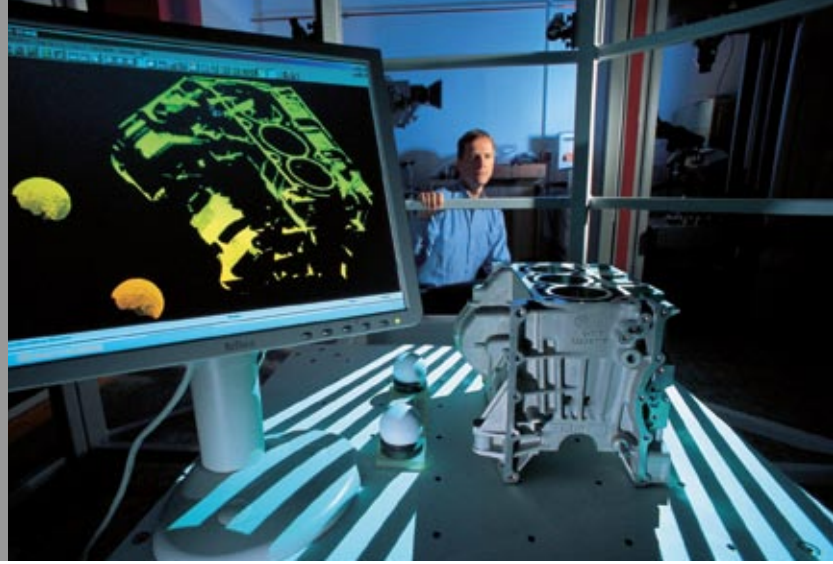
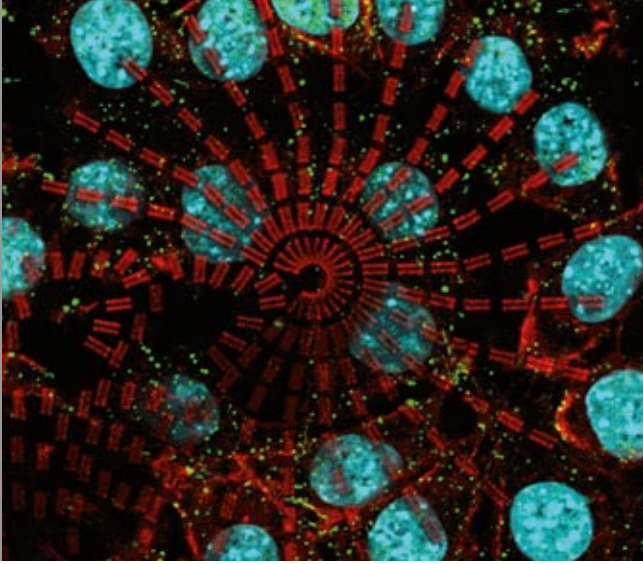
- Informations- und Kommunikationstechnologie
- Life Sciences
- Mikroelektronik
- Light and Surfaces
- Produktion
- Werkstoffe, Bauteile - MATERIALS
- Verteidigungs- und Sicherheitsforschung VVS

Fraunhofer-Allianzen

Institute oder Abteilungen von Instituten mit unterschiedlichen Kompetenzen kooperieren in Fraunhofer-Allianzen, um ein Geschäftsfeld gemeinsam zu bearbeiten und zu vermarkten. Die Fraunhofer-Allianzen erleichtern den Kundenzugang zu Ergebnissen und Diensten der Fraunhofer-Gesellschaft.

Mehr Informationen:

www.fraunhofer.de/de/institute-einrichtungen/verbuende-allianzen.html



FRAUNHOFER

The Fraunhofer-Gesellschaft is a recognized non-profit organization which takes its name from Joseph von Fraunhofer (1787-1826), the illustrious Munich researcher, inventor and entrepreneur. All Fraunhofer research activities are focused on practical applications. The organization was founded in 1949, and undertakes applied research that drives economic development and serves the wider benefit of society. Fraunhofer's services are solicited by customers and contractual partners in industry, the service sector and public administration bodies.

The Fraunhofer-Gesellschaft currently maintains 66 institutes and independent research units. Most of the 22,000 staff employed by Fraunhofer are qualified scientists and engineers, who work with an annual research budget of 1.9 billion euros, more than 1.6 billion euros of which is generated by contract research. More than 70% of this contract research revenue is derived from contracts with industry and publicly-financed research projects. Almost 30% is contributed by the German federal and Länder governments in the form of base funding, allowing the institutes to develop solutions to problems that will not affect industry and society directly for 5–10 years. Affiliated international research centers and representative offices provide contact with the regions of greatest importance to promote future scientific progress and economic development.

With its clearly defined mission of application-oriented research, and its focus on forward-looking key technologies, the Fraunhofer-Gesellschaft plays a prominent role in the German and European innovation process. Applied research has a knock-on effect that extends beyond the direct benefits perceived by the customer. Fraunhofer research and development helps to reinforce the competitive strength of the local, national and European economy by promoting innovation, strengthening the industrial technology base, encouraging the acceptance of new technologies, and helping to train a future generation of scientists and engineers, which is in great demand. As an employer, the Fraunhofer-Gesellschaft offers its staff the

opportunity to develop their professional and personal skills, allowing them to take up positions of responsibility within their institute, at universities, in industry and in society. Students choosing to work on Fraunhofer projects have excellent career prospects in industry by virtue of the practical training and experience that can be acquired.

Fraunhofer Groups

Institutes working in related subject areas cooperate in Fraunhofer Groups to promote collaborative research in linked disciplines and offer customers a unique source of coordinated joint services. There are seven Fraunhofer Groups:

- Information and Communication Technology
- Life Sciences
- Microelectronics
- Light and Surfaces
- Production
- Materials and Components
- Defense and Security

Fraunhofer Alliances

Fraunhofer Alliances facilitate customer access to the services and research capability of the Fraunhofer-Gesellschaft. Institutes and their departments with complementary expertise cooperate in such alliances. They provide expert advice on complex issues and coordinate the development of innovative solutions.

For further details see:

www.fraunhofer.de/EN/institutes/alliances/index.jsp



FRAUNHOFER-VERBUND LIFE SCIENCES

Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences ist ein kompetenter Ansprechpartner in allen Bereichen der Life Sciences. Für diesen Verbund stehen sechs Fraunhofer-Institute sowie die Fraunhofer-Einrichtung Marine Biotechnologie. Jede einzelne Einrichtung zeichnet sich durch ihre spezifischen Kernkompetenzen in den Lebenswissenschaften aus. Jedes der beteiligten Fraunhofer-Institute betreibt Forschungs- und Entwicklungsarbeit auf höchstem Niveau. Mitglieder des Verbunds sind die Fraunhofer-Institute für:

- Biomedizinische Technik IBMT
- Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB
- Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME
- Toxikologie und Experimentelle Medizin ITEM
- Verfahrenstechnik und Verpackung IVV
- Zelltherapie und Immunologie IZI
- sowie die Fraunhofer-Einrichtung Marine Biotechnologie

Über den fachübergreifenden Dialog und die vom Verbund koordinierte interne Kooperation zwischen den Instituten entsteht ein einmaliger Pool an Know-how, Methoden und apparativer Ausstattung. Darüber hinaus ermöglicht die Organisationsform als Verbund den Kunden aus der Großindustrie und aus Kleinen und Mittleren Unternehmen einen komfortablen, zentralen Zugang über die Geschäftsführung. Über seine internationalen Vertretungen in der MENA-Region, China und Japan, sowie über das Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology (CMB) in den USA und das Center for Systems Biotechnology in Chile hat der Verbund auch ausgezeichnete internationale Kontakte.

Geschäftsfelder des Verbunds Life Sciences

- **Medizinische Translationsforschung und Biomedizintechnik:** Herausforderung innovative Diagnostik und personalisierte Therapie
- **Regenerative Medizin:** Herausforderung qualifiziertes Biobanking und kontrollierte Selbstheilung
- **Gesunde Lebensmittel:** Herausforderung hohe Verbraucherakzeptanz und Krankheitsprävention
- **Das neue Potenzial für die Biotechnologie:** Herausforderung Lernen von der Natur für die industrielle Nutzung
- **Sicherheit bei Prozessen, Chemikalien und Pflanzenschutzmitteln:** Herausforderung Umwelt- und Verbraucherschutz.

Im Kundenauftrag entstehen beim Fraunhofer-Verbund Life Sciences viel beachtete Forschungsbeiträge zu Ursachen, Diagnose und Heilung von Krankheiten sowie deren Prävention. Anwendungsnahe, ganzheitliche Forschung zu werterhaltenden Herstellungs- und Auslieferungsverfahren unserer Nahrungsmittel unterstützt individuelles präventives Verhalten. Auch Umwelteinflüsse beeinflussen Gesundheit und Wohlbefinden maßgeblich. Aus verschiedensten Perspektiven tragen die Forscher des Verbunds zu genaueren Kenntnissen ökologischer Zusammenhänge bei, die sowohl in die Umsetzung modernster, Ressourcen schonender Verfahren einfließen als auch zu Methoden zu ihrer Kontrolle und neuen Normierungen führen. „Forschung für die menschliche Gesundheit und die Umwelt“ ist das gemeinsame Motto des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences. Es verbindet die Mitarbeiter aller Institute und ist ihnen Verpflichtung und Ansporn zugleich.

Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences ist einer von sieben Fachverbänden der Fraunhofer-Gesellschaft, der größten Forschungseinrichtung für angewandte Forschung in Europa.

www.lifesciences.fraunhofer.de



THE FRAUNHOFER GROUP FOR LIFE SCIENCES

The Fraunhofer Group for Life Sciences (VLS) is a partner in all areas of the life sciences, and is represented by six Fraunhofer Institutes plus the Fraunhofer Research Institution for Marine Biotechnology. Each stands out because of its unique core competencies in the life sciences:

- Biomedical Engineering IBMT
- Cell Therapy and Immunology IZI
- Interfacial Engineering and Biotechnology IGB
- Molecular Biology and Applied Ecology IME
- Process Engineering and Packaging IVV
- Toxicology and Experimental Medicine ITEM
- Fraunhofer Research Institution for Marine Biotechnology

Each of these institutes carries out research and development at the highest level, combining unique know-how, technology and equipment through interdisciplinary dialogue and internal cooperation coordinated by the alliance. The VLS provides major industrial clients as well as small and intermediate sized businesses with comfortable, central access through its management. The VLS has access to the global players in the life sciences through its international representatives in the MENA-region, China and Japan, as well as through the Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology (CMB) in the US and the Center for Systems Biotechnology in Chile.

Business areas of the Group for Life Sciences

- **Medical Translational Research and Biomedical Technology:** The Challenge of Innovative Diagnostics and Personalized Therapy
- **Regenerative Medicine:** The Challenge of Controlled Self-Healing and Qualified Biobanking
- **Healthy Foods:** The Challenge of Disease Prevention and High Consumer Acceptance
- **The Potential of New Biotechnology:** The Challenge to Learn from Nature for Industrial Exploitation
- **Process, Chemical and Herbicide Safety:** The Challenge of Environmental and Consumer Protection

On behalf of its clients, the Fraunhofer VLS carries out excellent research into the causes, prevention, diagnosis and treatment of diseases, and into the preservation of quality during the production, processing and transport of food. The environment influences our health and well-being, and Fraunhofer scientists are therefore dedicated to studying the environment and its impact on health, the conservation of resources and the development and control of environmentally-beneficial products.

The Fraunhofer VLS motto "Research for human health and the environment" is strongly reflected by the participating institutes. This unites the employees of each institute and is the basis of their commitment and motivation.

The Fraunhofer VLS is one of seven professional groups in the Fraunhofer-Gesellschaft, which is the largest applied research organization in Europe.

www.lifesciences.fraunhofer.de



Fraunhofer

FOOD CHAIN



FRAUNHOFER-ALLIANZ FOOD CHAIN MANAGEMENT

Die Gewährleistung sicherer und qualitativ hochwertiger Lebensmittel steht immer stärker im Fokus des Verbrauchers und stellt für Unternehmen der Lebensmittelbranche die existenzielle Frage im Wettbewerb dar. Das Food Chain Management (FCM) betrachtet die Kette der Lebensmittelherstellung – von der Urproduktion über die Verarbeitung und den Handel bis hin zum Verbraucher – als einen ganzheitlichen Prozess. Wesentliche Aspekte des Food Chain Managements sind:

- Lebensmittelsicherheit
- Lebensmittelqualität
- Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln vom Produzenten über die Verarbeiter bis zum Verkäufer

Die in 2008 gegründete Fraunhofer-Allianz »Food Chain Management« verfolgt das Ziel, die neuesten wissenschaftlichen Erkenntnisse durch gemeinsame Projektarbeit in neue Produkte und Problemlösungen auf diesem Gebiet einfließen zu lassen. Dafür werden die Kompetenzen von insgesamt neun Fraunhofer-Instituten im Rahmen der Plattform Food Chain Management der Fraunhofer-Gesellschaft zusammengefasst. Von großer Bedeutung sind dabei neue Ansätze in der Lebensmittelsicherheit, Mikroelektronik und Logistik, die einfach in die gesamte Lebensmittelkette integriert werden können und möglichst hohe Wertschöpfung bei geringen Kosten aufweisen. Die enge Verknüpfung dieser Disziplinen lässt neue Kompetenzen und Forschungsansätze, sowohl auf technologischer als auch auf anwenderorientierter Basis, entstehen. Dieser synergetische Ansatz zur Verbesserung der Lebensmittelsicherheit ist bisher einzigartig.

Darüber hinaus sieht sich die Fraunhofer-Allianz »Food Chain Management« als fachkundigen Ansprechpartner und Problemlöser sowohl für industrielle Partner sowie kleine und mittlere Unternehmen (KMU) als auch für institutionelle Fördermittelgeber auf nationaler, europäischer und globaler Ebene.

Beispielprojekte der Fraunhofer-Allianz FCM

Lebensmittelchemie

- Low-Cost-Gaschromatographie mittels Sensorarray für Lebensmittelschnelltests
- Bestimmung von perfluorierten Kohlenwasserstoffen (PFT) in Lebensmitteln

Verpackungstechnik

- Sauerstoffzehrende Verpackungen

Logistik

- Optimierung eines Distributionsnetzes für Tiefkühlprodukte
- ISOLDE: Innerstädtischer Service mit optimierten logistischen Dienstleistungen für den Einzelhandel

Mikrosystemtechnik

- MeatRFID: AutoID-Einsatz zur Rückverfolgbarkeit in der Wertschöpfungskette Fleisch
- Sensorik und Displays auf flexiblen Substraten

Radio Frequency Identification (RFID)

- Prozesstransparenz und -optimierung: RFID-basierte Sensorik für die Steuerung der Supply Chain; Verfolgung bei Lagerung und Transport; RFID mit Mehrwertfunktion (Data on tag); ECR (Efficient Consumer Response)

Optische Analyseverfahren

- Röntgenscanner für Lebensmittel

Biochiptechnologie und Lab-On-Chip

- Mikrosystemtechnik und elektrische Biochip-Technologie: Herstellung und Beschichtung von biochemischen Sensoren, Nachweis mittels Biochiptechnologie für z. B. Proteine, Mikroorganismen, Haptene
- Plattform zur automatisierten Detektion, Chip-Plattform für kontinuierlich messende „Enzymsensoren“ (z. B. für Glukose, Laktat)

Dienstleistungen

- Beratung, Studien und Recherchen
- Workshops, Tagungen und Kongresse
- Produktentwicklung bis zur Serienreife

www.fcm.fraunhofer.de

Agricultural supply dealers

Production

Food manufacturing and processing

Logistics in food chain management

Grocers and gastronomy

Consumer

THE FRAUNHOFER FOOD CHAIN MANAGEMENT ALLIANCE

Consumers are becoming more interested in safe, high-quality food, making this a key issue for competing food companies. Food Chain Management (FCM) offers the best approach to ensure food quality and traceability, since it focuses on the entire food manufacturing chain as an integral process – starting from primary production, and including processing, trade, and the consumers. The aim is to analyze and optimize these stages in order to supply consumers with the best quality food as efficiently and reliably as possible.

Important aspects of Food Chain Management include:

- Food and feed safety
- Food quality
- Traceability of food from the producer to the retail store

The Fraunhofer Food Chain Management Alliance (founded in 2008) helps introduce the latest scientific know-how into new products and processes by commissioning collaborative research projects with industry. The new platform merges the expertise from nine Fraunhofer Institutes, to develop new approaches in food safety, microelectronics and logistics, which can be integrated into the food chain to provide added value at a low cost. Our unique interdisciplinary approach brings new expertise and research methodology to the food industry, helping to advance the technology and provide skills to the people using it. In addition, the Fraunhofer Food Chain Management Alliance acts as a focal point to help industrial partners, small and medium enterprises (SMEs) and institutional funding organizations on a national, European and global level to address current challenges in the food production and processing sectors.

Examples of projects carried out by the Fraunhofer FCM Alliance

Food Chemistry

- Low-cost gas chromatography using a sensor array for food screening tests
- Analysis of perfluorinated compounds (PFC) in food

Packaging Technology

- Food packaging with active functions

Logistics

- Optimizing distribution systems for frozen food
- Innovative delivery of services for the last mile

Microsystem Technology

- AutoID, an application for traceability in the meat food chain
- Sensors and displays of flexible substrates

Radio Frequency Identification (RFID)

- Transparency and optimization of processes; RFID-based sensors for monitoring storage and transport in the supply chain; RFID with additional functions (Data-on-Tag); ECR

Optical Analysis

- X-ray Scanner for food

Biochip Technology and Lab-On-Chip

- Microsystems technology and electrical biochip technology: Manufacturing and coating of biochemical sensors, detection of haptens, proteins and microorganisms using biochip technology
- Platform for automatic detection. Chip platform for continuously measuring "enzyme sensors" (e.g. glucose, lactate)

Consulting Services

- Consulting, studies and market research
- Workshops, conferences and conventions
- Product development through to the start of production

FCM Alliance Spokesman / Sprecher Allianz FCM

Dr. Mark Bücking, Fraunhofer IME

Tel: +49 2972 302 - 304

mark.buecking@ime.fraunhofer.de

www.fcm.fraunhofer.de



Fraunhofer

PHOTOKATALYSE

FRAUNHOFER-ALLIANZ PHOTOKATALYSE

Das IME ist Mitglied der Fraunhofer-Allianz Photokatalyse, die von derzeit zehn Fraunhofer-Instituten gebildet wird. Ziel der Allianz ist die Entwicklung neuer Material- und Schichtkonzepte für leistungsfähigere Photokatalysatoren sowie deren Applikation auf unterschiedlichsten Substraten wie Glas, Kunststoffen und Metallen.

Das IME unterstützt Firmen, die Nanotechnologie, insbesondere Photokatalysatoren, in ihren Produkten verwenden, beim Nachweis der Wirksamkeit ihrer Produkte, bei der Optimierung der Oberflächen (z. B. selbstreinigende Wirkung) oder beim Nachweis der Unbedenklichkeit für die Umwelt beim Einsatz freier Partikel.

Geschäftsfelder der Allianz

- Schaltbare Schichten
- Schichten für Innenanwendungen
- Schichten auf Glas und Keramik
- Schichten auf Kunststoffen
- Analyseverfahren und Wirksamkeitsmesstechnik
- Biologische Untersuchungen und Umweltauswirkungen

Mitglieder der Allianz Photokatalyse sind die Fraunhofer-Institute für

- Chemische Technologie ICT
- Elektronenstrahl- und Plasmatechnik FEP
- Fertigungstechnik und Angewandte Materialforschung IFAM
- Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB
- Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME
- Produktionstechnik und Automatisierung IPA
- Schicht- und Oberflächentechnik IST
- Silicatforschung ISC
- Solare Energiesysteme ISE
- Werkstoff- und Strahltechnik IWS

www.photokatalyse.fraunhofer.de

FRAUNHOFER-FORSCHUNG IN ZUKUNFTSFELDERN

2012 führte das IME folgende Fraunhofer-geförderte Projekte zur Erweiterung der Grundlagen des FuE-Angebotes durch:

- Alternative zu Quantum Dots: Modifizierte lumineszierende Calciumphosphat-Nanopartikel für biomediz. Anwendungen
- BioParticles: Herstellung und Charakterisierung von biochemisch funktionalisierten Nanopartikeln
- BioSol: Nutzung der Biodiversität der Solanaceae; Kooperation Max Planck und Fraunhofer
- Food Chain Management
- LionTooth: Neue Inulin- und Kautschukqualitäten aus *Taraxacum kogsaghyz*
- LOEWE (Landes-Offensive zur Entwicklung Wissenschaftlich-ökonomischer Exzellenz)-Schwerpunkt „Insektenbiotechnologie“
- LOEWE-Schwerpunkt „Anwendungsorientierte Arzneimittelforschung“
- Namadi: Hocheffiziente Nanopartikel-basierte Malaria-Diagnostik
- PolyTempSenso: Kunststofffolien mit immanenten temperaturgesteuerten Sensoreigenschaften
- Profil Brasilien: Innovative Ansätze zur Qualitätssicherung und -verbesserung im Agrobereich in Brasilien
- Profil Chile: Erneuerbare Bioressourcen, Smarte Polymere, Aquakultur-Vakzine, Aquakultur-Biomarker
- Skin Heal: Entwicklung und Evaluierung neuer Therapieformen für chronische Hauterkrankungen
- UNIFISH: Entwicklung eines universellen Hochdurchsatz-Screening-Systems mit Zebrafisch: Phänotypische und molekulare Reaktionen zum Screening auf Wirkstoffe und/oder Schadstoffe sowie zur Untersuchung von Umwelt- und Lebensmittelproben
- Vintage Class Nachwuchsgruppe: Designer Biomass
- Zellfreie Biosynthese: Basismodul für die zellfreie Bioproduktion „Die Industriezelle“
- ZellPharm: Produktion pharmazeutischer Proteine in tierischen Zellen – beschleunigte Entwicklung und gesteigerte Ausbeute durch einen integrat. systembiotechnol. Ansatz



FRAUNHOFER PHOTOCATALYSIS ALLIANCE

The IME is a member of the Fraunhofer Photocatalysis Network, which currently includes ten Fraunhofer Institutes. The aim of the alliance is to develop new material and coating concepts for higher-performance photocatalysts and their application on surfaces such as glass, plastics and metals.

The Fraunhofer IME supports industrial collaborators using products coated or treated with nanoparticles to demonstrate the efficiency of their products, to optimize surface properties e.g. to facilitate self-cleaning or to confirm that free particles do not pose an environmental risk.

Business areas

- Switchable coatings
- Coatings for indoor applications
- Coatings on glass and ceramics
- Coatings on plastics
- Analytical techniques and activity measurement
- Biocompatibility testing and environmental impact assessment

Members of the Photocatalysis Alliance are the Fraunhofer Institutes for

- Chemical Technology ICT
- Electron and Plasma Technology FEP
- Interfacial Engineering and Biotechnology IGB
- Manufacturing Engineering and Applied Materials Research IFAM
- Manufacturing Engineering and Automation IPA
- Material and Beam Technology IWS
- Molecular Biology and Applied Ecology IME
- Surface Engineering and Thin Films IST
- Silicate Research ISC
- Solar Energy Systems ISE

PARTICIPATION IN FRAUNHOFER RESEARCH PROJECTS IN FUTURE TECHNOLOGIES

- Alternative to Quantum Dots: Modified luminescent calcium phosphate nanoparticles for biomedical applications
- BioParticles: Production and characterization of biochemically-functionalized nanoparticles
- BioSol: Utilization of the biodiversity of Solanaceae; cooperation between Max Planck and Fraunhofer
- Cell-free biosynthesis: Basic module for cell free bioproduction "the industrial cell"
- Food Chain Management
- LionTooth: New qualities of inulin and natural rubber from *Taraxacum kogsaghyz*
- LOEWE Program Insect Biotechnology
- LOEWE Program Application-oriented pharmaceutical research
- Namadi: High-efficient nanoparticle-based malaria diagnostic
- PolyTempSenso: Plastic foils with immanent temperature-controlled sensor properties
- Profile Brazil: Innovative approaches for quality assurance and improvement in Brazilian agriculture
- Profile Chile: Renewable Bioresources, Smart Polymers, aquaculture – vaccines and biomarkers
- Skin Heal: Development and evaluation of new therapies for chronic skin diseases
- UNIFISH: Development of a universal high-throughput screening system with zebrafish: Phenotypic and systemic changes used to screen for active compounds, food additives, toxicants, pharmaceutical products and for food safety
- Vintage Class: Designer biomass research group for high growth potential within Fraunhofer
- ZellPharm: Production of pharmaceutical proteins in animal cells – accelerated development and enhanced yield through an integrated system biotechnology approach

INTERNATIONALE AKTIVITÄTEN DES FRAUNHOFER IME

Das Fraunhofer IME führt einen regen wissenschaftlichen Austausch mit Hochschulen und anderen Forschungseinrichtungen. Ziel der Zusammenarbeit ist es, Trends und Entwicklungen frühzeitig zu erkennen und neue Forschungsansätze und Technologien zu entwickeln und umzusetzen.

EU-Projekte

- CoMoFarm: Contained Molecular Farming – Controlled contained systems for high yield and consistency. Contract No. FP7-KBBE-2008-3-1-05
- CREAM: Mechanistic Effect Models for Ecological Risk Assessment of Chemicals. Marie Curie Initial Training Network, 7th Framework Programme. Contract No. PITN-GA-2009-238148. www.cream-itn.eu
- FoodMICROSystems: Microsystems and Smart Miniaturized Systems for Food Quality and Safety Control. Contract No. FP7-ICT-2011-7-287634. www.foodmicrosystems.eu
- ITS-Nano: Intelligent Testing Strategy for Engineered Nanomaterials. Contract No. NMP4-SA-2012-290589. www.its-nano.eu/
- MARINA: Managing Risks of Nanoparticles. Contract No. NMP-2010-1.3-1-263215. www.marina-fp7.eu/
- Nano 3T: Biofunctionalized Metal and Magnetic Nanoparticles for Targeted Tumor Therapy. Contract GA No. 214137
- Nanomaterialien ISPRAs: Scientific and technical support on nanomaterials: Nanomaterials processing to subsamples, quality control as well as storage, selection and distribution of subsamples. Contract No. CCR.IHCP.C437162.X0 and CCR.IHCP.C437607.X0
- PERFOOD: Perfluorinated Organics in Our Diet. Contract No. FP7-KBBE-2008-2B-227525. www.perfood.eu
- PHARMA-PLANTA: Recombinant pharmaceuticals from plants for humans. Contract No. LSHB-CT-2003-503465
- SmartCell: Rational Design of Plant Systems for Sustainable Generation of Value-Added Industrial Products. Contract No. 222716

Zusammenarbeit mit der Industrie

Im Berichtsjahr bestanden Kooperationen mit mehr als 100 nationalen und internationalen Kunden aus der Industrie sowie mit mehreren internationalen Industrieverbänden, für die vertrauliche Projekte durchgeführt wurden.

Kooperation mit der RWTH Aachen

Mit der RWTH Aachen besteht eine enge Verflechtung personeller Art sowie hinsichtlich der Arbeitsfelder und der Zukunftsentwicklung. Neben Prof. Rainer Fischer als Lehrstuhlinhaber des Instituts für Biologie VII – Molekulare Biotechnologie – an der RWTH ist Prof. Stefan Barth mit einem Lehr- und Forschungsauftrag „Experimentelle Medizin und Immuntherapie“ an der Medizinischen Fakultät der RWTH tätig. Diplom-, Master- und Doktorarbeiten werden ebenfalls am IME durchgeführt. Mit gaiac, dem Forschungsinstitut für Ökosystemanalyse und -bewertung e.V. (Aninstitut der RWTH Aachen) werden Mesokosmosstudien und andere ökotoxikologische Tests für die Zulassung von Pflanzenschutzmitteln durchgeführt.

Lehr- und Hochschultätigkeit außerhalb der RWTH

Prof. Dr. Rainer Fischer hält am Mediterranean Agronomic Institute of Chania, Griechenland, Vorlesungen und Kurse zur Molekularen Biotechnologie.

Prof. Dr. Dirk Prüfer hat eine Professur für pflanzliche Biotechnologie an der WWU Münster inne.

Dr. Nicole Raven, Dr. Andreas Schiermeyer und Prof. Dr. Stefan Schillberg halten an der Fachhochschule Aachen eine Vorlesung zur Pflanzenbiotechnologie. Prof. Dr. Schillberg ist Honorarprofessor an der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Prof. Dr. Christoph Schäfers hat eine außerplanmäßige Professur an der WWU Münster inne und führt Veranstaltungen zum Thema Higher Tier Risk Assessment an der Universität Koblenz-Landau durch.

Prof. Dr. Andreas Vilcinskis ist Professor für Angewandte Entomologie an der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger leitet das Institut für klinische Pharmakologie der Universitätsklinik Frankfurt.



INTERNATIONAL ACTIVITIES OF THE IME

The Fraunhofer IME co-operates with many international research partners and remains in close contact with universities and other research organizations. The aim of these cooperative activities is to recognize trends and developments as they emerge, and to develop and implement novel research strategies and technologies.

EU Projects

- **CoMoFarm:** Contained Molecular Farming – Controlled contained systems for high yield and consistency. Contract No. FP7-KBBE-2008-3-1-05
- **CREAM:** Mechanistic Effect Models for Ecological Risk Assessment of Chemicals. Marie Curie Initial Training Network, 7th Framework Programme. Contract No. PITN-GA-2009-238148. www.cream-itn.eu
- **FoodMICROSystems:** Microsystems and Smart Miniaturized Systems for Food Quality and Safety Control. Contract No. FP7-ICT-2011-7-287634. www.foodmicrosystems.eu
- **ITS-Nano:** Intelligent Testing Strategy for Engineered Nanomaterials. Contract No. NMP4-SA-2012-290589. www.its-nano.eu
- **MARINA:** Managing Risks of Nanoparticles. Contract No. NMP-2010-1.3-1-263215. www.marina-fp7.eu
- **Nano 3T:** Biofunctionalized Metal and Magnetic Nanoparticles for Targeted Tumor Therapy. Contract GA No. 214137
- **Nanomaterials ISPR:** Scientific and technical support on nanomaterials: Nanomaterials processing to subsamples, quality control as well as storage, selection and distribution of subsamples. Contract No. CCR.IHCP.C437162.X0 and CCR.IHCP.C437607.X0
- **PERFOOD:** Perfluorinated Organics in Our Diet. Contract No. FP7-KBBE-2008-2B-227525. www.perfood.eu
- **PHARMA-PLANTA:** Recombinant pharmaceuticals from plants for humans. Contract No. LSHB-CT-2003-503465
- **SmartCell:** Rational design of plant systems for sustainable generation of value-added industrial products. Contract No. 222716

Cooperation with the Industry

In 2012, the Fraunhofer IME co-operated with more than 100 national and international industrial clients and several international industrial associations for whom confidential projects were carried out.

Cooperation with RWTH University Aachen

Fraunhofer IME has close ties with RWTH University Aachen in terms of personnel and basic research areas. Professor Rainer Fischer is Chair and Director of the Institute for Molecular Biotechnology (IMB) and Professor Stefan Barth holds a lectureship and research assignment for Experimental Medicine and Immunotherapy at the medical faculty. The Fraunhofer IME offers Diploma, Bachelors, Masters and PhD courses in association with the RWTH University Aachen. The Fraunhofer IME also collaborates with the RWTH research institute for ecosystem analysis and assessment (gaiac), performing mesocosm and other ecotoxicological studies for industrial clients.

Additional Lecturing Assignments

Prof. Rainer Fischer holds lectures and courses on biotechnology at the Mediterranean Agronomic Institute of Chania, MAICH, Greece.

Prof. Dirk Prüfer is a Professor of Plant Biotechnology at the University of Münster.

Dr. Nicole Raven, Dr. Andreas Schiermeyer and Prof. Dr. Stefan Schillberg provide lectures on Plant Biotechnology at the Fachhochschule, Aachen.

Prof. Dr. Stefan Schillberg is Honorary Professor at the Justus-Liebig University of Gießen.

Prof. Dr. Christoph Schäfers holds a professorship at the WWU Münster and holds courses in Higher-tier risk assessment at the University Koblenz-Landau.

Prof. Andreas Vilcinskis is Professor for Applied Entomology at the Justus-Liebig University of Gießen.

Prof. Dr. Dr. Gerd Geisslinger is director of the Institute for Clinical Pharmacology of the university medical center Frankfurt.

**MITARBEIT IN FACHORGANISATIONEN UND GREMIEN /
MEMBERSHIPS OF EDITORIAL BOARDS AND
COMMITTEES**

Zeitschriften / Scientific Journals

Environmental Science and Pollution Research,
Springer; Co-editor of the series Chemical and Biological
Environmental Monitoring: Dr. Heinz Rüdell

Environmental Toxicology and Chemistry, Wiley;
Editorial Board: Dr. Udo Hommen

Frontiers in Plant Biotechnology, Frontiers Media S. A.;
Associate Editor: Prof. Dr. Dirk Prüfer

Inflammation Research, Springer; Managing Editor:
Prof. Dr. Michael J. Parnham

Journal of Applied Ichthyology,
Wiley-Blackwell; Editorial Board: Dr. Christian Schlechtriem

Journal of Soils and Sediments,
Springer; Editorial Board: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Plant Cell Reports, Springer; Editorial Board:
Prof. Dr. Stefan Schillberg

Recent Patents on Biotechnology, Bentham Science
Publishers Ltd.; Editorial Board: Prof. Dr. Stefan Schillberg

The Open Biotechnology Journal, Bentham Science
Publishers Ltd.; Editorial Board: Prof. Dr. Stefan Schillberg

Transgenic Research, Kluwer Academic Publishers;
Associate Editor: Prof. Dr. Stefan Schillberg

Environmental Sciences Europe, Springer;
Herausbergremium: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Gremientätigkeit / Committees

**Auswahlkommission der Studienstiftung des Deutschen
Volkes;** Mitglied: Dr. Christian Schlechtriem

BioÖkonomieRat, AG Biotechnologie;
Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

BioÖkonomieRat, AG Pflanzeninnovation;
Mitglied: Prof. Dr. Dirk Prüfer

**Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR): Kommission
für Pflanzenschutzmittel und ihre Rückstände;**
Mitglied: Dr. Michael Klein

BMELV, Wissenschaftlicher Beirat für Düngungsfragen;
Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

**BVL, Expertengruppe zur Erstellung einer Richtlinie für
Fischmetabolismusstudien;**
Mitglied: Dr. Christian Schlechtriem

**BVL, Sachverständigenausschuss für die Zulassung von
Pflanzenschutzmitteln;** Mitglied: Prof. Dr. Christoph Schäfers

**CEN (European Committee for Standardization) TC 383,
Sustainable Produced Biomass for Energy Applications,
WG 3, Biodiversity and Environmental Aspects;**
Member: Karlheinz Weinfurter

**DAkKS, Fachbegutachter bei der Deutschen Akkreditie-
rungsstelle:** Dr. Kerstin Hund-Rinke, Dr. Josef Müller

DFG, Steering Group Systembiologie;
Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

DIBT, Ad-hoc Ausschuss „Holzschutzmittel - Beurteilung des Gesundheits- und Umweltschutzes“ des Deutschen Instituts für Bautechnik; Mitglied: Dr. Andrea Wenzel

DIN NA 119 Normenausschuss Wasserwesen (NAW),

- NA 119-01-01-05 UA Eluierungsverfahren; Mitglied: Dr. Dieter Hennecke
- NA 119-01-02-02-01 AK Bioverfügbarkeit; Mitglied: Dr. Kerstin Derz
- NA 119-01-02-02-53 AK Sprengstofftypische Verbindungen; Mitglied: Dr. Dieter Hennecke
- NA 119-01-02-04 UA Biologische Verfahren; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke
- NA 119-01-02 AA Abfall- und Bodenuntersuchung, UA 1 Probenahme; Mitglied: Karlheinz Weinfurtner
- NA 119-01-02-06 UA Bodenschutz, Entsorgung, Altlastensanierung, UA 2 Entsorgung; Mitglied: Karlheinz Weinfurtner;

DIN NA 172-00-10 GA Gemeinschaftsarbeitsausschuss NAGUS/NAL, Nachhaltigkeitskriterien für Biomasse; Mitglied: Karlheinz Weinfurtner

EFSA, Scientific Panel on Plant Protection Products and their Residues; Member: Dr. Michael Klein

- Working Group for developing an EFSA Guidance Document for evaluating lab and field dissipation studies; Member: Dr. Michael Klein
- Working Group on non-target terrestrial plants; Member: Dr. Michael Klein
- Working Group on the new guidance document about persistence in soil; Member: Dr. Michael Klein
- Working Group on the new guidance document about aquatic ecotoxicology; Chair: Dr. Michael Klein
- Sub-Working Group on the new guidance document about aquatic exposure; Chair: Dr. Michael Klein

EU, High Level Expert Group, 7th Framework Programme; Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

Expertengremium für Chemikaliensicherheit (EfCS) der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) und Gesellschaft für Toxikologie (GT); Mitglied: Dr. Werner Kördel

FBU, Fachbeirat für Bodenuntersuchungen; Mitglied: Dr. Dieter Hennecke

Fachbeirat Verbraucherschutz; Mitglied: Dr. Michael Klein

Fachbeirat Bodenwissenschaften der Fachhochschule Osnabrück, FB Agrarwissenschaften; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

FPI e.V., Food-Processing Initiative; Vorstandsvorsitzender: Dr. Mark Bücking

FOCUS (Forum for international coordination of pesticide fate models and their use), Work group "Version Control"; Member: Dr. Michael Klein

Forschungsausschuss des Fachverbandes „Angewandte Photokatalyse“ im Verband der Mineralfarbenindustrie; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

GDCh, Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie;

- Arbeitskreis „Bodenchemie und Bodenökologie“; Leitung: Dr. Dieter Hennecke, Mitglied: Dr. Werner Kördel
- Arbeitskreis Chemikalienbewertung; Mitglied: Dr. Martin Müller
- Arbeitsgruppe „Persistenz und Abbaubarkeit“ im Arbeitskreis „Chemikalienbewertung“; Mitglieder: Dr. Dieter Hennecke, Dr. Markus Simon
- Arbeitskreis „Umweltmonitoring“; Leitung: Dr. Heinz Rüdell

GDCh, Fachgruppe Wasserchemische Gesellschaft, AK Umweltchemie und Ökotoxikologie - „omics-Technologien für Wasserqualität“ (Biochemische Arbeitsmethoden); Mitglied: Dr. Martina Fenske

GDK (Gemeinschaft Deutscher Kryobanken);

Kassenprüfer: Dr. Heinz Rüdell

ILSI-HESI – Emergence of Animal Alternative Needs in Environmental Risk Assessment Project Committee,

Sub-teams: Alternatives to fish chronic toxicity tests;
Alternatives to *in vivo* tests to identify endocrine modulators;
Member: Dr. Martina Fenske

ISO/TC 190 SC3, WG11 Explosive compounds;

Member: Dr. Dieter Hennecke

ISO/TC 190 SC7, WG6 Leaching tests;

Member: Dr. Dieter Hennecke

ISO/TC 190 SC7, WG8 Bioavailability;

Member: Dr. Dieter Hennecke

ISPE, Community of Practice: Process analytical technologies, Active Pharmaceutical Ingredients;

Member: Dr. Jürgen Drossard

IUPAC, Division of Chemistry and the Environment (DCE);

Member: Dr. Werner Kördel

- Subcommittee on Chemistry of Environmental Compartments; Member: Dr. Heinz Rüdell

KGITC, Korean-German Industrial Technology;

Cooperation Committee; Member: Prof. Dr. Rainer Fischer

Kommission Bodenschutz beim Umweltbundesamt;

Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Kommission zur Bewertung wassergefährdender Stoffe (KBwS) des BMU; Mitglied: Prof. Dr. Christoph Schäfers

NORMAN (Network of reference laboratories for monitoring of environmental substances),

- Work group on Prioritization of Emerging Substances; Member: Dr. Heinz Rüdell
- Work group on Engineered Nanoparticles in the Environment; Member: Dr. Thorsten Klawonn

OECD Fish Drafting Group;

Members: Prof. Dr. Christoph Schäfers, Matthias Teigeler

OECD Working Party on Manufactured Nanomaterials (WPMN) – SG4 Drafting Group for Guidance on Sample Preparation and Dosimetry (DG-GSPD);

Member: Dr. Kerstin Hund-Rinke

OECD 305, Expert Group on Fish Bioaccumulation;

Invited participant: Dr. Christian Schlechtriem

SETAC Global Advisory Group on Bioaccumulation Science; Members: Prof. Dr. Christoph Schäfers, Dr. Christian Schlechtriem

SETAC Europe Advisory Group on Mechanistic Effect Models for Ecological Risk Assessment of Chemicals (MEMoRisk); Co-chair: Dr. Udo Hommen

SETAC Global Advisory Group on Aquatic Macrophytes, Ecotoxicology Group (AMEG); Steering Committee: Dr. Udo Hommen

SETAC Global Advisory Group on Animal Alternatives in Environmental Science; Member: Dr. Martina Fenske

UBA, Arbeitskreis Fortentwicklung von Prüfmethode n im Rahmen des Stoffrechts, AK Ökotoxikologie, Akkumulation und Abbau in der Umwelt;

Mitglied: Prof. Dr. Christoph Schäfers

VDI-Gremium 6305 „Technische GMP“;

Mitglied: Dr. Stephan Hellwig

**Wissenschaftlicher Beirat des Life Science-Center der
Universität Hohenheim;** Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

**Wissenschaftsrat; Anhörung des Ausschusses Medizin
zur Situationsaufnahme öffentlich geförderter GMP-
Kapazität in Deutschland;** Sachverständiger: Dr. Stephan
Hellwig

**AUSRICHTUNG VON VERANSTALTUNGEN /
ORGANIZATION OF SCIENTIFIC MEETINGS AND
COURSES**

**Fortbildungsveranstaltung „Grundlagen der
Ökotoxikologie“ im Rahmen der Fachtoxikologie-
Ausbildung der DGPT,** Fraunhofer IME Schmallenberg,
17.-21.9.2012, in Kooperation mit der MESOCOSM GmbH,
Forschungszentrum Neu-Ulrichstein

**Umweltprobenbank – wie arbeitet sie eigentlich?
Infotainment,** S- Bahnhof Friedrichstrasse, Berlin, 19.11.2012,
in Kooperation mit dem Umweltbundesamt und weiteren
Projektpartnern

**Environmental monitoring of biocides in Europe – from
prioritisation to measurements,** Berlin, 5.-6.11.2012,
Fraunhofer IME Schmallenberg, in Zusammenarbeit mit dem
Umweltbundesamt

VERÖFFENTLICHUNGEN UND PRÄSENTATIONEN

VERÖFFENTLICHUNGEN / PUBLICATIONS

MOLEKULARBIOLOGIE / MOLECULAR BIOLOGY

A - C

Behnam, F., Vilcinskas, A., Wagner, M., Stoecker, K.:
A straightforward DOPE (Double labeling of oligonucleotide probes)-FISH (Fluorescence in situ hybridization) method for simultaneous multicolor detection of six microbial populations. Applied and Environmental Microbiology 78 (2012) No. 15: 5138-5142
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.00977-12>

den Boon, F. S., Body, S., Hampson, C. L., Bradshaw, C. M., Szabadi, E., de Bruin, N.:
Effects of amisulpride and aripiprazole on progressive-ratio schedule performance: comparison with clozapine and haloperidol. J. Psychopharmacol. 26 (2012) No. 9: 1231-43
DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/0269881111421974>

Bortesi, L., Rademacher, T., Schiermeyer, A., Schuster, F., Pezzotti, M., Schillberg, S.:
Development of an optimized tetracycline-inducible expression system to increase the accumulation of interleukin-10 in tobacco BY-2 suspension cells. BMC Biotechnology, Online journal 12 (2012) Art. 40
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6750-12-40>

Brändli, J., Müller, M., Imseng, N., Schillberg, S., Eibl, R.:
Antikörper-Produktion in Pflanzenzellen. Prozessentwicklung und -übertragung vom 50-ml- auf den 10-l-Maßstab. Biospektrum (2012) No. 2: 216-217

de Bruin, N. M., McCreary, A. C., van Loevezijn, A., de Vries, T. J., Venhorst, J., van Drimmelen, M., Kruse, C. G.:
A novel highly selective 5-HT₆ receptor antagonist

attenuates ethanol and nicotine seeking but does not affect inhibitory response control in Wistar rats. Behav. Brain Res. 236 (2013): 157-165, (Epub 2012)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.048>

Bucsenez, M., Rüping, B., Behrens, S., Twyman, R. M., Noll, G. A., Prüfer, D.:
Multiple cis-regulatory elements are involved in the complex regulation of the sieve element-specific MtSEO-F1 promoter from *Medicago truncatula*. Plant Biology 14 (2012) No. 5: 714-724
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1438-8677.2011.00556.x>

Buyel, J. F., Bautista, J. A., Fischer, R., Yusibov, V. M.:
Extraction, purification and characterization of the plant-produced HPV16 subunit vaccine candidate E7 GGG. J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. Jan. 1 (2012): 19-26
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.11.010>

Buyel, J. F., Fischer, R.:
Processing heterogeneous biomass: Overcoming the hurdles in model building. BIOengineered, 4 (2012) No. 1: 21-44
DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/bioe.21671>

Buyel, J. F., Fischer, R.:
Predictive models for transient protein expression in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) can optimize process time, yield, and downstream costs. Biotechnology & Bioengineering 109 (2012) No. 10: 2575-2588
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/bit.24523>

D - F

Deenen, N. van, Bachmann, A.-L., Schmidt, T., Schaller, H., Sand, J., Prüfer, D., Schulze Gronover, C.:
Molecular cloning of mevalonate pathway genes from *Taraxacum brevicorniculatum* and functional characterization of the key enzyme 3-hydroxy-3-methylglutaryl-

PUBLICATIONS AND PRESENTATIONS

coenzyme A reductase. Molecular Biology Reports 39 (2012) No. 4: 4337-4349
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-011-1221-4>

Demirov, D., Gabriel, G., Schneider, C., Hohenberg, H., Ludwig, S.:

Interaction of influenza A virus matrix protein with RACK1 is required for virus release. Cellular microbiology 14 (2012) No.5: 774-789
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01759.x>

Dobson, A. J., Johnston, P. R., Vilcinskas, A., Rolff, J.:

Identification of immunological expressed sequence tags in the mealworm beetle *Tenebrio molitor*. J. of Insect Physiology 58 (2012) No. 12: 1556-1561
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.09.009>

Doehring, A., Oertel, B. G., Sittl, R., Lötsch, J.:

Chronic opioid use is associated with increased DNA methylation correlating with increased clinical pain. Pain 154 (2013) No. 1: 15-23, (Epub 2012)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2012.06.011>

Dreier, A., Barth, S., Goswami, A., Weis, J.:

Cetuximab induces mitochondrial translocalization of EGFRvIII, but not EGFR: involvement of mitochondria in tumor drug resistance? Tumor Biology 33 (2012) No.1: 85-94
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-011-0248-4>

Ernst, A. M., Jekat, S. B., Zielonka, S., Müller, B., Neumann, U., Rüping, B., Twyman, R. M., Krzyzanek, V., Prüfer, D., Noll, G. A.:
Sieve element occlusion (SEO) genes encode structural phloem proteins involved in wound sealing of the phloem. PNAS 109 (2012) No. 28: E1980-E1989
DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1202999109>

Ferreirós, N., Labocha, S., Walter, C., Lötsch, J., Geisslinger, G.:
Simultaneous and sensitive LC-MS/MS determination of

tetrahydrocannabinol and metabolites in human plasma. Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013) No. 4: 1399-1406, (Epub 2012)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-012-6501-x>

Fet, N. G., Fiebeler, A., Klinge, U., Park, J. K., Barth, S., Thepen, T., Tolba, R. H.:

Reduction of activated macrophages after ischaemiare-perfusion injury diminishes oxidative stress and ameliorates renal damage. Nephrology, Dialysis, Transplantation 27 (2012) No. 8: 3149-3155
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr792>

Fischer, R., Schillberg, S., Hellwig, S., Twyman, R. M., Drossard, J.:

GMP issues for recombinant plant-derived pharmaceutical proteins. Biotechnology Advances 30 (2012) No. 2: 434-439
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.007>

Freitag, D., Knorr, E., Vogel, H., Vilcinskas, A.:

Gender- and stressor-specific miRNA expression in *Tribolium castaneum*. Biology Letters 8 (2012) No. 5: 860-863
DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2012.0273>

Frese, J., Schuster, P., Mertens, M. E., Vogg, A., Dahlems, U., Rongen, L., Koch, S., Mela, P., Melmer, G., Barth, S., Mottaghy, F. M., Schmitz-Rode, T., Lammers, T., Jockenhoevel, S., Kiessling, F.:

Generation and imaging of patient customized implants. Biomed. Tech., in press, (Epub 2012)
<http://www.degruyter.com/view/j/bmte.2012.57.issue-s1-Q/bmt-2012-4388/bmt-2012-4388.xml>

G - I

Groscurth, S., Müller, B., Schwan, S., Menzel, M., Diekstall, F., Senft, M., Kendall, A., Kommor, B. A., Neumann, U., Kalischuk, M., Kawchuk, L. M., Krzyzanek, V., Heilmann, A., Stubbs, G., Twyman, R. M., Prüfer, D., Noll, G. A.:

Artificial forisomes are ideal models of forisome assembly and activity that allow the development of technical devices. *Biomacromolecules* 13 (2012) No. 10: 3076-3086
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/bm3008499>

Harig, L., Beinecke, F. A., Oltmanns, J., Muth, J., Müller, O., Rüping, B., Twyman, R. M., Fischer, R., Prüfer, D., Noll, G. A.:
Proteins from the FLOWERING LOCUS T-like subclade of the PEBP family act antagonistically to regulate floral initiation in tobacco. *The Plant Journal* 72 (2012) No. 6: 908-921
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05125.x>

Hillebrand, A., Post, J. J., Wurbs, D., Wahler, D., Lenders, M., Krzyzanek, V., Prüfer, D., Gronover, C. S.:
Down-regulation of small rubber particle protein expression affects integrity of rubber particles and rubber content in *Taraxacum brevicorniculatum*. *PLoS ONE* 7 (2012) No. 7: e41874
DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0041874>

Hristodorov, D., Fischer, R., Jörissen, H., Müller-Tiemann, B., Apeler, H., Linden, L.:
Generation and comparative characterization of glycosylated and aglycosylated human IgG1 antibodies. *Molecular Biotechnology* 53 (2013) No. 3: 326-335, (Epub 2012)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12033-012-9531-x>

Hristodorov, D., Mladenov, R., Huhn, M., Barth, S., Thepen, T.:
Macrophage-targeted therapy: CD64-based immunotoxins for treatment of chronic inflammatory diseases. *Toxins* 4 (2012), No. 9: 676-694
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/toxins4090676>

Hu, Z. Q., Liu, J. L., Li, H. P., Xing, S., Xue, S., Zhang, J. B., Wang, J. H., Nölke, G., Liao, Y. C.:
Generation of a highly reactive chicken-derived single-chain variable fragment against *Fusarium verticillioides*

by phage display. *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) No. 6: 7038-7056
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms13067038>

Iyer, V., Liyanage, M. R., Shoji, Y., Chichester, J. A., Jones, R. M., Yusibov, V., Joshi, S. B., Middaugh, C. R.:
Formulation development of a plant-derived H1N1 influenza vaccine containing purified recombinant hemagglutinin antigen. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 8 (2012) No. 4: 453-464
DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/hv.19106>

J - L

Jekat, S., Ernst, A., Zielonka, S., Noll, G., Prüfer D.:
Interactions among tobacco sieve element occlusion (SEO) proteins. *Plant Signaling & Behavior* 7 (2012) No. 12: 1724-1726
DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/psb.22452>

Jiang, V., Wang, Z., Nölke, G., Zhang, J., Niu, L., Shen, J.:
Simultaneous determination of aflatoxin B1 and aflatoxin M1 in food matrices by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Analytical Methods* 5 (2012):
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-012-9484-5>

John, A., Nachtigall, F. M., Santos, L. S.:
Dendritic catalysis in asymmetric synthesis. *Current organic chemistry* 16 (2012) No.15: 1776-1787

Jul-Larsen, A., Madhun, A. S., Brokstad, K. A., Montomoli, E., Yusibov, V., Cox, R. J.:
The human potential of a recombinant pandemic influenza vaccine produced in tobacco plants. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* 8 (2012) No. 5: 653-661
DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/hv.19503>

Kallenborn-Gerhardt, W., Schröder, K., Geisslinger, G., Schmidtko, A.:

NOXious signaling in pain processing. *Pharmacol. Ther.* 137 (2013) No. 3: 309-17, Epub 09.11.2012
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.11.001>

Kirchhoff, J., Raven, N., Boes, A., Roberts, J. L., Russell, S., Treffenfeldt, W., Fischer, R., Schinkel, H., Schiermeyer, A., Schillberg, S.:

Monoclonal tobacco cell lines with enhanced recombinant protein yields can be generated from heterogeneous cell suspension cultures by flow sorting. *Plant Biotechnology Journal* 10 (2012) No. 8: 936-944
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00722.x>

Klose, H., Röder, J., Girfoglio, M., Fischer, R., Commandeur, U.:

Hyperthermophilic endoglucanase for *in planta* lignocellulose conversion. *Biotechnology for Biofuels*, online journal, 5 (2012) 63
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1754-6834-5-63>

Knapp, E., Flores, R., Scheiblin, D., Modla, S., Czymbek, K., Yusibov, V.:

A cryohistological protocol for preparation of large plant tissue sections for screening intracellular fluorescent protein expression. *BioTechniques* 52 (2012) No. 1: 31-37
DOI: <http://dx.doi.org/10.2144/000113778>

Koch, A., Khalifa, K., Langen, G., Vilcinskas, A., Kogel, K.-H., Imani, J.:

The antimicrobial peptide thanatin reduces *Fusarium graminearum* infection in *Arabidopsis*. *Journal of Phytopathology* 160 (2012) No. 10: 606-610

Kynast, K. L., Russe, O. Q., Möser, C. V., Geisslinger, G., Niederberger, E.:

Modulation of central nervous system-specific micro-RNA-124a alters the inflammatory response in the formalin test in mice. *Pain* 154 (2013) No. 3: 368-76,

Epub 24.11.2012

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2012.11.010>

Linke, B., Schreiber, Y., Zhang, D. D., Pierre, S., Coste, O., Henke, M., Suo, J., Fuchs, J., Angioni, C., Ferreiros-Bouza, N., Geisslinger, G., Scholich, K.:

Analysis of sphingolipid and prostaglandin synthesis during zymosan-induced inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 99 (2012) No. 1-2:15-23
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2012.06.002>

Losasso, V., Schiffer, S., Barth, S., Carloni, P.:

Design of human granzyme B variants resistant to serpin B9. *Proteins* 80 (2012) No. 11: 2514-2522
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22733450>

Lötsch, J., Geisslinger, G., Hummel, T.:

Sniffing out pharmacology: interactions of drugs with human olfaction. *Trends Pharmacol. Sci.* 33 (2012) No. 4: 193-199
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2012.01.004>

Lötsch, J., Walter, C., Parnham, M. J., Oertel, B. G., Geisslinger, G.:

Pharmacokinetics of non-intravenous formulations of fentanyl. *Clin. Pharmacokinet.* 52 (2013) No. 1: 23-36, (Epub 2012)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s40262-012-0016-7>

M - O

Mamedov, T., Ghosh, A., Jones, R. M., Mett, V., Farrance, C. E., Musiychuk, K., Horsey, A., Yusibov, V.:

Production of non-glycosylated recombinant proteins in *Nicotiana benthamiana* plants by co-expressing bacterial PNGase F. *Plant Biotechnology Journal* 10 (2012) No. 7: 773-782
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2012.00694.x>

Mukherjee, K., Fischer, R., Vilcinskas, A.:

Histone acetylation mediates epigenetic regulation of transcriptional reprogramming in insects during metamorphosis, wounding and infection. *Frontiers in Zoology* 9 (2012) 25: 12 S.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1742-9994-9-25>

Munt, O., Arias, M., Hernandez, M., Ritter, E., Schulze Gronover, C., Prüfer, D.:

Fertilizer and planting strategies to increase biomass and improve root morphology in the natural rubber producer *Taraxacum brevicorniculatum*. *Industrial crops and products* 36 (2012) No. 1: 289-293

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.10.014>

Muth-Köhne, E., Wichmann, A., Delov, V., Fenske, M.:

The classification of motor neuron defects in the zebrafish embryo toxicity test (ZFET) as an animal alternative approach to assess developmental neurotoxicity.

Neurotoxicology and Teratology 34 (2012) No. 4: 413-424

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2012.04.006>

Niederberger, E., Möser, C., Kynast, K., Geisslinger, G.:

The non-canonical I κ B kinases IKK ϵ and TBK1 as potential targets for the development of novel therapeutic drugs. *Curr. Mol. Med.* (15.11.2012) [Epub ahead of print]

Oertel, B. G., Doehring, A., Roskam, B., Kettner, M., Hackmann, N., Ferreiros, N., Schmidt, P. H., Lötsch, J.:

Genetic-epigenetic interaction modulates mu-opioid receptor regulation. *Hum. Mol. Genet.* 21 (2012) No. 21: 4751-4760

DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/hmg/dd314>

Oertel, B. G., Lötsch, J.:

Clinical pharmacology of analgesics assessed with human experimental pain models: bridging basic and clinical research. *Br.J.Pharmacol.* 168 (2013) No. 3: 534-53, (Epub 2012)

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/bph.12023>

P - R

Pardo, A., Stöcker, M., Kampmeier, F., Melmer, G., Fischer, R., Thepen, T., Barth, S.:

In vivo imaging of immunotoxin treatment using Katushka-transfected A-431 cells in a murine xenograft tumour model. *Cancer Immunology Immunotherapy* 61 (2012) No. 10: 1617-1626

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00262-012-1219-3>

Parent, M., Guth, K., Waters, S., Chichester, J.:

Vaccination with a novel *Yersinia pestis* single component, two-valent LcrV-F1 vaccine protects against lethal intranasal challenge. *Journal of Immunology* 188 (2012) Supplement: Meeting Abstracts, 166.23

Piotrkowski, N., Schillberg, S., Rasche, S.:

Tackling heterogeneity: A leaf disc-based assay for the high-throughput screening of transient gene expression in tobacco. *PLoS ONE*, Online journal 7 (2012) No. 9: e45803, 8 S.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0045803>

Post, J., Deenen, N. van, Fricke, J., Kowalski, N., Wurbs, D., Schaller, H., Eisenreich, W., Huber, C., Twyman, R. M., Prüfer, D., Schulze Gronover, C.:

Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum*. *Plant Physiology* 158 (2012) No. 3: 1406-1417

DOI: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.111.187880>

Püttmann, C., Kolberg, K., Hagen, S., Schmies, S., Fischer, R., Nähring, J., Barth, S.:

A monoclonal antibody for the detection of SNAP/CLIP-tagged proteins. *Immunol. Lett.* 150 (2013) No. 1-2: 69-74, (Epub 2012)

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2012.10.007>

Rahnamaeian, M., Vilcinskas, A.:

Defense gene expression is potentiated in transgenic barley expressing antifungal peptide metchnikowin throughout powdery mildew challenge. *J. Plant Res.*: 125 (2012) No. 1: 115-124.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10265-011-0420-3>

Richter, C., Dirks, M. E., Schulze Gronover, C., Prüfer, D., Moerschbacher, B. M.:

Silencing and heterologous expression of ppo-2 indicate a specific function of a single polyphenol oxidase isoform in resistance of dandelion (*Taraxacum officinale*) against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *Molecular Plant Microbe Interactions*: MPMI 25 (2012) No. 2: 200-210

DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-04-11-0082>

Röhrich, C. R., Iversen, A., Degenkolb, T., Jaklitsch, W. M., Voglmayr, H., Thrane, U., Vilcinskas, A., Nielsen, K. F., Brückner, H.:

New producers and new 11-, 19-, and 20-residue peptaibiotics: suzukacillins B and C. *Journal of Peptide Science* 18 (2012) Supplement 1, Abstract P045, S. S73

Röhrich C. R., Iversen, A., Jaklitsch, W. M., Voglmayr, H., Berg, A., Dörfelt, H., Thrane, U., Vilcinskas, A., Nielsen, K. F., von Döhren, H., Brückner, H., Degenkolb, T.:

Hypopulvins, novel peptaibiotics from the polyporicolous fungus *Hypocrea pulvinata*, are produced during infection of its natural hosts. *Fungal Biology* 116 (2012) No. 12: 1219-1231

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2012.10.003>

Röhrich, C. R., Iversen, A., Degenkolb, T., Jaklitsch, W. M., Voglmayr, H., Berg, A., Thrane, U., Vilcinskas, A., Nielsen, K. F., Brückner, H.:

Screening the natural habitat: New peptaibiotics from specimens and pure cultures of the fungicolous fungus *Hypocrea pulvinata*. *Journal of Peptide Science* 18 (2012), Supplement 1, Abstract P048, S. S74

Röhrich, C. R., Ngwa, C. J., Wiesner, J., Schmidtberg, H., Degenkolb, T., Kollewe, C., Fischer, R., Pradel, G., Vilcinskas, A.:

Harmonine, a defence compound from the harlequin ladybird, inhibits mycobacterial growth and demonstrates multi-stage antimalarial activity. *Biology Letters* 8 (2012) No. 2: 308-311

DOI: <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2011.0760>

S - U

Safarnejad, M. R., Jouzani, G. S., Tabatabaei, M., Twyman, R. M., Schillberg, S.:

Antibody-mediated resistance against plant pathogens. *Biotechnol. Adv.* 29 (2011) No. 6: 961-971

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.011>

Corrigendum: *Biotechnology Advances* 30 (2012) No. 3: 782

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.10.005>

Schiermeyer, A., Schillberg, S.:

Plant molecular farming – pharmaceuticals for human health. In: Meyers, R. A. (Ed), *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*; Springer, New York (2012) Volume 11: 8058-8073

DOI: http://dx.doi.org/10.1007/SpringerReference_226402

Schröper, F., Baumann, A., Offenhäusser, A., Mayer, D.:

Direct electrochemistry of novel affinity-tag immobilized recombinant horse heart cytochrome c. *Biosensors & bioelectronics* 34 (2012) No. 1: 171-177

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.01.039>

Shoji, Y., Farrance, C. E., Bautista, J., Bi, H., Musiychuk, K., Horsey, A., Park, H., Jaje, J., Green, B. J., Shamloul, M., Sharma, S., Chichester, J. A., Mett, V., Yusibov, V.:

A plant-based system for rapid production of influenza vaccine antigens. *Influenza and other Respiratory Viruses* 6 (2012) No. 3: 204-210

DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-2659.2011.00295.x>

Taghavian, O., Mandal, M. K., Steinmetz, N. F., Rasche, S., Spiegel, H., Fischer, R., Schillberg, S.:

A potential nanobiotechnology platform based on infectious bursal disease subviral particles. RSC Advances 2 (2012) No. 5: 1970-1978
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C2RA00857B>

Totey, S., Patterson, C. J., Banci, L., Bertini, I., Felli, I. C., Pavelkova, A., Dainty, S. J., Pernil, R., Waldron, K. J., Foster, A.W., Robinson, N. J.:

Cyanobacterial metallochaperone inhibits deleterious side reactions of copper. PNAS 109 (2012) No. 1: 95-100
DOI: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1117515109>

Turner, C., Sawle, A., Fenske, M., Cossins, A.:

Implications of the solvent vehicles dimethylformamide and dimethylsulfoxide for establishing transcriptomic endpoints in the zebrafish embryo toxicity test. Environmental Toxicology and Chemistry 31 (2012) No. 3: 593-604
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/etc.1718>

Twyman, R.M., Schillberg, S., Fischer, R.:

The production of vaccines and therapeutic antibodies in plants. In: Wang, Aiming: Molecular Farming in Plants. Recent Advances and Future Prospects, Dordrecht: Springer Science & Business Media, 2012: 145-159
DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-2217-0_7

Ullisch, D. A., Müller, C. A., Maibaum, S., Kirchhoff, J., Schiermeyer, A., Schillberg, S., Roberts, J. L., Treffenfeldt, W., Büchs, J.:

Comprehensive characterization of two different *Nicotiana tabacum* cell lines leads to doubled GFP and HA protein production by media optimization. Journal of bioscience and bioengineering 113 (2012) No. 2: 242-248
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.09.022>

V - Z

Wahler, D., Colby, T., Kowalski, N. A., Harzen, A., Wotzka, S. Y., Hillebrand, A., Fischer, R., Helsper, J., Schmidt, J., Schulze Gronover, C., Prüfer, D.:

Proteomic analysis of latex from the rubber-producing plant *Taraxacum brevicorniculatum*. Proteomics 12 (2012) No. 6: 901-905
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201000778>

Wehrenfennig, C., Schott, M., Gasch, T., Sauerwald, T., Düring, R.-A., Vilcinskas, A., Kohl, C.:

Laboratory characterization of metal-oxide sensors intended for *in situ* analyses of pheromones – SOMMSA approach. Physica Status Solidi A, 209 (2012) No. 5: 935-939
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pssa.201100586>

Wen, K., Nölke, G., Schillberg, S., Wang, Z., Zhang, S., Meng, H., Shen, J.:

Improved fluoroquinolone detection in ELISA through engineering of a broad-specific scFv binding simultaneously to 20 fluoroquinolones. Analytical and Bioanalytical Chemistry 403 (2012) No. 9: 2771-2783
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-012-6062-z>

Wu, Z., Chen, K., Yildiz, I., Dirksen, A., Fischer, R., Dawson, P., Steinmetz, N.:

Development of viral nanoparticles for efficient intracellular delivery. Nanoscale, 4 (2012) No. 11: 3698-3705
DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c2nr30366c>

Zakri, A. M., Ziegler, A., Commandeur, U., Fischer, R., Torrance, L.:

***In vivo* expression and binding activity of scFv-RWAV, which recognizes the coat protein of tomato leaf curl New Delhi virus (family Geminiviridae).** Archives of Virology 157 (2012) No. 7: 1291-1299
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-012-1310-2>

Zhang, S., Sherwood, R. W., Yang, Y., Fish, T., Chen, W., McCardle, J. A., Jones, R. M., Yusibov, V., May, E. R., Rose, J. K. C., Thannhauser, T. W.:

Comparative characterization of the glycosylation profiles of an influenza hemagglutinin produced in plant and insect hosts. *Proteomics* 12 (2012) No. 8: 1269-1288

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201100474>

ANGEWANDTE OEKOLOGIE / APPLIED ECOLOGY

A - C

Brühl, C. A., Schäfer, R. B., Mittmann, F., Stahlknecht, P., Bruns, E., Candolfi, M., Egeler, P., Hollert, H., Kaiser, D., Mohr, S., Ratte, T., Schaumann, G., Schlechtriem, C., Stock, F., Vervliet-Scheebaum, M., Ohe, P. von der, Weltje, L., Werner, I.:

Review: 16th SETAC GLB (Society of Environmental Toxicology and Chemistry German Language Branch) annual meeting held under the main theme "EcoTOXICOLOGY and Environmental CHEMISTRY: Crossing borders" from 18th to 20th September 2011 at Landau. *Environmental Sciences Europe* ESEU (2012) 24: 39

DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-39>

Bücking, M.:

Böse Buben entdecken. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 5 (2012): 279

D - F

Derz, K., Bernhardt, C., Hennecke, D., Kördel, W.:

Ansätze zur Bewertung der Verfügbarkeit von Schadstoffen im nachsorgenden Bodenschutz. Teil II: Verfügbarkeit für Stofftransport und Abbauprozesse in Böden. *Bodenschutz* 17 (2012) No. 4: 108-112

Düring, R.-A., Böhm, L., Schlechtriem, C.:

Solid-phase microextraction for bioconcentration studies referred to OECD TG 305. *Environmental Sciences Europe*:

ESEU 24 (2012) Art. 4: 5 S.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-4>

Fedotov, P. S., Kördel, W., Miro, M., Peijnenburg, W. J. G. M., Wennrich, R., Huang, P.-M.:

Extraction and fractionation methods for exposure assessment of trace metals, metalloids, and hazardous organic compounds in terrestrial environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 42 (2012)

No. 11: 1117-1171

DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2011.556544>

Fliedner, A., Rüdell, H., Jüriling, H., Müller, J., Neugebauer, F., Schröter-Kermani, C.:

Levels and trends of industrial chemicals (PCBs, PFCs, PBDEs) in archived herring gull eggs from German coastal regions. *Environmental Sciences Europe: ESEU* 24 (2012) Art. 7: 15 S.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-7>

G - I

Giddings, J. M., Arts, G., Hommen, U.:

The relative sensitivity of macrophyte and algal species to herbicides and fungicides: An analysis using species sensitivity distributions. *Integrated Environmental Assessment and Management*, (Epub 2012)

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ieam.1387>

Hennecke, D.:

„Woher kommt das Dioxin?“. *Landwirtschaftliches Wochenblatt Westfalen-Lippe*. Ausgabe A (2012) No. 25: 34-35

Hund-Rinke, K., Kördel, W.:

Ansätze zur Bewertung der Verfügbarkeit von Schadstoffen im nachsorgenden Bodenschutz. Teil III: Verfügbarkeit/ Bioverfügbarkeit von Schadstoffen für Pflanzen und Bodenorganismen. *Bodenschutz* 17 (2012) No. 4: 113-119

Hund-Rinke, K., Schlich, K., Klawonn, T.:

Influence of application techniques on the ecotoxicological effects of nanomaterials in soil. Environmental Sciences Europe: ESEU 24 (2012) Art. 30: 12 S.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-30>

J - L

Klawonn, T., Rüdell, H., Knopf, B.:

Total dissolution and digestion methods for engineered metal nanoparticles. Mitt. Umweltchem. Ökotox. 18 (2012) No. 2: 32-34

<https://www.gdch.de/netzwerk-strukturen/fachstrukturen/umweltchemie-und-oekotoxikologie/mitgliederzeitschriften/mitteilungsblatt/archiv-der-mitteilungen/2012.html#c8901>

Kleihauer, S., Führ, M., Hommen, U., Hund-Rinke, K., Heiß, C.:

Bestimmung von stoffbezogenen Umweltqualitätskriterien – Ein Methodenvergleich von nationalen und internationalen Bewertungsgrundlagen. Umweltbundesamt (Hrsg.), UBA-Texte 38/2012 -

<http://www.uba.de/uba-info-medien/4337.html> (Online only)

Knauer, K., Hommen, U.:

Sensitivity, variability, and recovery of functional and structural endpoints of an aquatic community exposed to herbicides. Ecotoxicology and Environmental Safety 78 (2012): 178-183

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.019>

Knauer, K., Hommen, U.:

Environmental quality standards for mixtures: A case study with a herbicide mixture tested in outdoor mesocosms. Ecotoxicology and Environmental Safety 89 (2013): 196-203, Epub 2012

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.11.030>

Koschorreck, J., Conrad, A., Körner, A., Rütther, M., Schröter-Kermani, C., Mohaupt, V., Kolossa-Gehring, M., Ruedel, H., Fließner, A.:

Die Umweltprobenbank: Umweltbeobachtung mit Proben von Mensch und Umwelt. Dessau: UBA, 2012, 64 S.
<http://www.umweltdaten.de/publikationen/fpdf-l/4319.pdf>.

Kulkarni, D., Gergs, A., Hommen, U., Ratte, H. T., Preuss, T. G.:

A plea for the use of copepods in freshwater ecotoxicology. Environmental Science and Pollution Research 20 (2013) No. 1: 75-85, Epub 2012

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-012-1117-4>

Landsiedel, R., Oomen, A., Bos, P., Migliori, L., Wick, P., Scott-Fordsmand, J., Kammer, F. von der, Fernandez, T., Hund-Rinke, K.:

NanoSafetyVision: Toxicity testing strategy for nanomaterials. Toxicology Letters 211 (2012), Supplement, S. S179
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.03.646>

M - O

Mörlein, D., Grave, A., Sharifi, A. R., Bücking, M., Wicke, M.:

Different scalding techniques do not affect boar taint.

Meat science 91 (2012) No. 4: 435-440

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.028>

Muth-Köhne, E., Wichmann, A., Delov, V., Fenske, M.:

The classification of motor neuron defects in the zebrafish embryo toxicity test (ZFET) as an animal alternative approach to assess developmental neurotoxicity. Neurotoxicology and Teratology 34 (2012) No. 4: 413-424

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2012.04.006>

P - R

Römbke, J., Coors, A., Fenner, K., Jensen, J., Løkke, H., Schäfers, C., Straub, J., Metcalfe, C.:

Commentary. A farewell to Dr. Thomas Knacker (* 29.04.1951 - † 30.10.2011): scientific contributions and personal memories. Environmental Sciences Europe ESEU 24 (2012) Art. 33
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-33>

Rüdel, H.:
Environmental monitoring of biocides: an emerging issue? Norman Bulletin – Network of Reference Laboratories for Monitoring of Environmental Substances; Online Journal (2012) No. 3: 3-4
http://www.norman-network.net/newsletters/newsletter_norman_3a.pdf.

Rüdel, H.:
Use of environmental specimen banks for investigations of emerging substances: Examples for freshwater fish monitoring studies. Network of Reference Laboratories for Monitoring of Environmental Substances. Norman Bulletin. Online Journal (2012) No. 3: 5-7
http://www.norman-network.net/newsletters/newsletter_norman_3a.pdf.

Rüdel, H., Müller, J., Quack, M., Klein, R.:
Monitoring of hexabromocyclododecane diastereomers in fish from European freshwaters and estuaries. Environmental Science and Pollution Research International 19 (2012) No. 3: 772-783
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-011-0604-3>

S - U

Schlechtriem, C., Fliedner, A., Schäfers, C.:
Determination of lipid content in fish samples from bioaccumulation studies: Contributions to the revision of guideline OECD 305. Environmental Sciences Europe 24 (2012) Art. 13: 14 S.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-13>

Schlich, K., Terytze, K., Hund-Rinke, K.:
Effect of TiO₂ nanoparticles in the earthworm reproduction test. Environmental Sciences Europe 24 (2012) Art. 5: 10 S.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2190-4715-24-5>

Subedi, B., Du, B., Chambliss, C. K., Koschorreck, J., Rüdel, H., Quack, M., Brooks, B. W., Usenko, S.:
Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in German fish tissue: A national study. Environmental Science and Technology 46 (2012) No. 16: 9047-9054
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/es301359t>

Turner, C., Sawle, A., Fenske, M., Cossins, A.:
Implications of the solvent vehicles dimethylformamide and dimethylsulfoxide for establishing transcriptomic endpoints in the zebrafish embryo toxicity test. Environmental Toxicology and Chemistry 31 (2012) No. 3: 593-604

V - Z

Weinfurtner, K., Fliedner, A.:
Umweltprobenbank des Bundes – Auswertung der Analysen von Schwebstoffproben aus den Jahren 2005 bis 2009. Umweltbundesamt (2012) 67 pp. –
<http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/publications/18903>

DISSERTATIONEN /
DOCTORAL THESES

Burkhard Otte:

Stammverbesserung von komplexen Phänotypen durch Genome Shuffling in *Clostridium Diolis* DSM 15410 und *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 und DG1.

RWTH Aachen University

Uwe Heinig:

Studies on the evolution of complex natural products biosynthetic pathways on the basis of Taxol biosynthesis on plants and endophytic fungi.

RWTH Aachen University

Alessa Pardo:

Visualisierung und Analysen von Therapieansätzen durch fluoreszenzbasierte molekulare Bildgebungsverfahren.

RWTH Aachen University

Osama Mahmoud:

Vitamin B12-unabhängige Biosynthese von 3-Hydroxypropionsäure aus Glycerin mithilfe rekombinanter Bakterien.

RWTH Aachen University

Bishay, Philipp:

Neuroprotektive Eigenschaften des Endocannabinoid-systems bei der Endstehung von neuropathischen Schmerzen.

Goethe-Universität Frankfurt

Knorr, Eileen:

Identification and functional characterization of matrix metalloproteinases and immune related genes in *Tribolium castaneum*.

JLU Gießen

Kirchhoff, Janina:

Generation of highly productive polyclonal and monoclonal tobacco suspension lines from a heterogeneous transgenic BY-2 culture through flow cytometric sorting.

RWTH Aachen University

DIPLOM- UND MASTER-ARBEITEN /
DIPLOMA AND MASTER THESES

Berges, Nina:

Investigation on cytolytic antibody fusion proteins for treating CD64-positive AML.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Cremer, Christian:

Herstellung neuartiger Immuntherapeutika zum Targeting autoreaktiver B-Lymphozyten.

RWTH Aachen University, Diplomarbeit

Dammers, Christina:

Prokaryotische Expression des humanen Tau Proteins und Charakterisierung von Tau bindenden Peptiden zur Diagnose und Behandlung der Alzheimerischen Demenz.

FH Aachen, Masterarbeit

Hallmann, Anna-Lena:

Cloning, purification and immunological evaluation of plant produced subunit vaccine and viruslike of M1N1 Influenza hemagglutinin.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Hein, Lea:

Generation of humanized immunotoxins for targeting the epithelial cell adhesion molecule on breast cancer cell lines.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Hohlweg, Jonas:

Generation of PSMA-specific antibody derivatives.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Kastilan, Robin:

Entwicklung einer Fermentations- und Aufreinigungsstrategie zur Produktion von PfAMA1-DiCo1 in *Pichia pastoris*.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Mladenov, Radoslav:

Development of a scFv425-based immunotoxin coupled to gold particles.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Paul, Albert:

Slow release of 525(scFv)-ETA from a fibrin-based scaffold for treatment of pancreatic cancer in a mouse model.

RWTH Aachen University, Masterarbeit

Vishal, Bhushan:

Identification of natural substrate(s) for the tobacco (*Nicotiana tabacum*) BY-2 matrix-metalloproteinase (NtMMP1).

Indian Institute of Technology, Kharagpur (India), Masterarbeit

**BACHELORARBEITEN /
BACHELOR THESES**

Baues, Maïke:

Entwicklung eines Nanopartikel-basierten *Plasmodium falciparum* spezifischen Immunassays.

RWTH Aachen University, Bachelorarbeit

Bennink, Sandra:

Biochemische und strukturelle Charakterisierung dreier Metallo- β -lactamasen (VIM-31, CphA, GOB-1); Vertreter der drei Unterklassen.

RWTH Aachen University, Bachelorarbeit

Bethke, Susanne:

Generierung und Expression von therapeutischen Antikörpern gegen *Plasmodium falciparum*.

FH, Bachelorarbeit

Dittmar, Fanni:

Klonierung von Immuntoxinen gegen Prostata-Stammzellantigen (PSCA) mit anschließender Expression in Bakterien, Aufreinigung und *in vitro*-Charakterisierung.

FH Aachen, Bachelorarbeit

Jungk, Felicitas:

Entwicklung eines Analyseverfahrens zur magnetischen Immunodetektion von Pflanzenpathogenen am Beispiel des Grapevine Fanleaf Virus.

FH Aachen, Bachelorarbeit

Maaßen, Jessika:

Produktion, Reinigung und Evaluierung von Varianten des Merozoiten Oberflächenproteins 9 von *Plasmodium falciparum*.

FH Aachen, Bachelorarbeit

Roden, Anja:

Fusion Malaria-spezifischer Antikörper-Fragmente mit CD89-bindenden Molekülen.

RWTH Aachen University, Bachelorarbeit

Weber, Gaby:

Optimization of geraniol production in transgenic *in vitro* and *in vivo* cultivated tobacco plants.

FH Aachen, Bachelorarbeit

**PATENTE /
PATENTS**

2012 angemeldete Patente / Patent applications 2012

Barth, S., Schiffer, S.:

Novel immunoproteases.

Europäische Patentanmeldung: 12191711.6

Barth, S., Tur, M. K., Hussain, A.:

Novel photoimmunoconjugates for use in photodynamic therapy.

WIPO-Patentanmeldung: PCT/EP2012/055022

Barth, S., Nähring, J., Püttmann, C.:

Artifizielle Polypeptide zur Herstellung und Verbesserung diagnostisch relevanter Antikörper zum Nachweis viraler Erkrankungen.

Europäische Patentanmeldung: 12151805.4

Barth, S., Kolberg, K., Püttmann, C., Schmies, S.:

Monoclonal antibody for the detection of SNAP/CLIP tag.

WIPO-Patentanmeldung: PCT/EP2012/073608

Barth, S., Thepen, T., Hristodorov, D., Mladenov, R.:

A microtubuli modifying compound.

Europäische Patentanmeldung: 12189804.3

Buyel, J. F.:

Gehäuse für einen Einwegbeutelfilter.

US-Anmeldung: 61/672,873

Europäische Patentanmeldung: 12176847.7

Daschner de Tercero, M., Jennewein, S., Fehrenbacher, U., Barner, L.:

Hydrothermale Herstellung von Nanopartikeln mit clickfähigen Linkern an der Oberfläche.

WIPO-Patentanmeldung: PCT/EP2012/054748

Pessoa, C., Diniz, J., Damasceno, D. R., Costa, M., Araujo, F. W., Cavalcanti, B. C., Banwell, M., Guest, P. E., Fischer, R., di Fiore, S.:

Process for producing pterocarpanes, cytomodulatory composition comprising pterocarpanes and use.

WIPO-Patentanmeldung: PCT/BR2012/000228

Harig, L., Prüfer, D., Fischer, R.:

Nucleic acid sequences and peptides/proteins of the FT family providing flower-repressing properties in tobacco and transgenic plants transformed therewith.

Europäische Patentanmeldung: 12163187.3

Kapelski, S., Maskus, D. J., Fendel, R., Klockenbring, T., Barth, S.:

Novel anti-Plasmodium-parasite antibodies.

US-Anmeldung: 61/679,380

Europäische Patentanmeldung: 12179315.2

Kirchhoff, J., Schillberg, S., Schiermeyer, A., Schinkel, H., Fischer, R.:

Method for the generation of a monoclonal plant cell line.

Patentanmeldung: P120101980

Patentanmeldung: 101120200

Müller, A., Wiesner, J., Vilcinskas, A., Fischer, R.:

Process for degrading a biofilm on surfaces of objects.

WIPO-Patentanmeldung: PCT/BR2012/075376

Müller, B., Prüfer, D., Fischer, R.:

Artifizielle Forisomenkörper mit SEO-F-Fusionsproteinen, pflanzliche oder Hefezellen mit Vektoren, die für diese Proteine codieren, sowie Vektoren, die für SEO-F-Fusionsproteine codieren.

Europäisches Patent: 12167377.6

Rademacher, T.:

Method for the generation and cultivation of a plant cell pack.

US-Anmeldung: 61/592,780

Europäische Patentanmeldung: 12000618.4

In 2012 erteilte Patente / Patents issued in 2012

Achatz, G., Barth, S., Ferreira, F., Luger, E., Stöcker, M.,
Fischer, R., Huhn, M., Klockenbring, T.:

Isolation allergenspezifischer Immunglobulingene aus humanen B-Zellen von Atopikern.

Kanadisches Patent: 2,567,623

Barth, S.; Tur, M. K., Stöcker, M., Fischer, R.:

Immunokinases.

Europäisches Patent: EP 1 704228 B1

Deutsches Patent: 602005033602.8

Muranyi, P., Sulz, G., Schmitt, K., Koch, W., Dunkhorst, W.,
Lödding, H., Rennebarth, T. S., Hofbauer, W., Barth, S.,
Seidel, B., Klockenbring, T., Holländer, A., Schwarz, K.,
Bolwien, C., Renzl, A. M.:

Verfahren zur Messung luftgetragener biologischer Gefahrstoffe.

Europäisches Patent: EP 2 239557 B1

Deutsches Patent: 502009002544.0

VORTRÄGE /
PLATFORM PRESENTATIONS

MOLEKULARBIOLOGIE / MOLECULAR BIOLOGY

A - C

Barth, S.:
Development of disease-specific recombinant immunopharmaceutics. ISC, Würzburg, 17.01.2012

Barth, S.:
Recombinant human cytolytic fusion proteins for the treatment of CD64-positive diseases. 8th Fabisch-Symposium for Cancer Research and Molecular Cell Biology, Berlin, 21.03.2012

Barth, S.:
Recombinant human cytolytic fusion proteins for the treatment of CD64-positive diseases. New Cells, New Vaccines VI, Wilmington, USA, 27.03.2012

Barth, S.:
Use of medical biotechnology to develop solutions for the next generation of human cytolytic fusion proteins. UWC, Cape Town, South Africa, 12.04.2012

Barth, S.:
**Use of genetic engineering and medical biotechnology to develop next generation recombinant immunodiagnos-
tics and -therapeutics.** ICGEB Seminars, Trieste, Italy, 16.05.2012

Barth, S.:
Nutzung der medizinischen Biotechnologie zur Entwicklung neuer Immundiagnostika und -therapeutika. BioClub, Aachen, 23.05.2012

Barth, S.:
Antikörper und ihr Einsatz in der optischen *in vitro*- und *in vivo*-Bildgebung. BMBF Fachgruppe Biophotonik, ISC, Würzburg, 19.07.2012

Barth, S.:
Development of disease-specific recombinant immunopharmaceutics. European ScreeningPort GmbH, Hamburg, 28.08.2012

Barth, S.:
Bioengineering of human cytolytic fusion proteins. Euregional PACT II Workshop: Science creates Business, Aachen, 25.10.2012

Barth, S.:
Recombinant human cytolytic fusion proteins. Division of Stem Cell Transplantation and Immunotherapy, CAU Kiel, 06.11.2012

de Bruin, N.:
Neuropharmacology and animal models (for psychiatric and neurological disturbances), subject: Schizophrenia. Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour – Radboud University Nijmegen, Nijmegen, Netherlands, 21.11.2012

Buyel, J. F.:
Optimizing biopharmaceutical filtration processes using DoE. 4th European DoE User Meeting, Wien, Österreich, 26.-28.06.2012

Buyel, J. F.:
Preparing aqueous leaf extract for chromatographic purification of biopharmaceuticals. PREP 2012 – 25th International Symposium, Boston, USA, 15.-18.07.2012

D - F

Fendel, R.:

Malaria vaccine development. Ringvorlesung Rote Biotechnologie, FH Aachen, Jülich, Deutschland, 13.11.2012

Fendel, R.:

Isolation of new anti-malarial antibodies. Tropenmedizinisches Kolloquium, Institut für Tropenmedizin, Tübingen, Deutschland, 05.07.2012

Fischer, R.:

Development and manufacturing of animal vaccines. University de Catholica de Valparaiso, Valparaiso, Chile, 04.01.2012

Fischer, R.:

Knowledge based drug discovery. Innovation Forum, Hamburg, 11.01.2012

Fischer, R.:

Drug discovery, manufacturing and regulatory approval. Medicine from Plants conference, Zaragoza, Spain, 18.01.2012

Fischer, R.:

Plant based biopharmaceuticals. Phacilitate Vaccine Forum, Washington, USA, 28.01.2012

Fischer, R.:

Plant made pharmaceuticals: challenges and future opportunities. International Conference on Biomedical Sciences, Bandung, Indonesia, 27.-28.02.2012

Fischer, R.:

Antibody cloning, expression and manufacturing. Duke University, Durham, USA, 15.02.2012

Fischer, R.:

Plant based polymers. University of Maastricht, Maastricht, Netherlands, 15.03.2012

Fischer, R.:

Knowledge based drug discovery. Malaysian Innovation Forum, Kuala Lumpur, Malaysia, 25.04.2012

Fischer, R.:

Plant made pharmaceuticals. Malaysian Innovation Forum, Kuala Lumpur, Malaysia, 25.04.2012

Fischer, R.:

GMP manufacturing and regulatory approval for biopharmaceuticals. Malaysian innovation forum, Kuala Lumpur, Malaysia, 26.04.2012

Fischer, R.:

Convergence of traditional and knowledge based drug discovery. Fortaleza, Brazil, 23.05.2012

Fischer, R.:

Manufacturing and downstream processing of biopharmaceuticals. Fortaleza, Brazil, 24.05.2012

Fischer, R.:

Vaccine development. German-Indonesian Biotech Forum, Jakarta, Indonesia, 19.06.2012

Fischer, R.:

Plant made biopharmaceuticals. German-Indonesian Biotech Forum, Jakarta, Indonesia, 19.06.2012

Fischer, R.:

Modern drug discovery. German-Indonesian Biotech Forum, Jakarta, Indonesia, 19.06.2012

Fischer, R.:

Innovation driven convergence of white, green, yellow and red biotechnology. Encuentros 2012, Paris, France, 06.07.2012

Fischer, R.:

Latest R&D developments within Fraunhofer IME. CMB, Newark, USA, 23.-26.07.2012

Fischer, R.:

Automation opportunities in life sciences. Duke and Harvard Meeting, Aachen, 04.08.2012

Fischer, R.:

Innovation driven and applied R&D. VTT, Helsinki, Finland, 23.-24.09.2012

Fischer, R.:

Applied R&D within the Fraunhofer IME. Fraunhofer FCR, Santiago, Chile, 29.09-05.10.2012

Fischer, R.:

Selection and production of neutralizing HIV antibodies. ERC meeting, London, UK, 15.-18.10.2012

Fischer, R.:

Opportunities and challenges in the development, manufacturing and downstream processing of modern biopharmaceuticals. University of Delaware, Delaware, USA, 28.-31.10.2012

Fischer, R.:

Innovation driven applied R&D in the FhG. World Innovation Forum, Kuala Lumpur, Malaysia, 03.-07.11.2012

Fischer, R.:

Latest developments in plant biotechnology. Dow, State Department, Indianapolis/Washington, USA, 11.-16.11.2012

G - L

Geisslinger, G.:

Wege aus der Innovationslücke: Rolle der Universitäten. Festrede, Examensfeier Pharmazieabsolventen, Frankfurt am Main, 10.02.2012

Geisslinger, G.:

Schmerztherapie: Pharmakologische Besonderheiten. Interpharm Frankfurt, Frankfurt am Main, 09.03.2012

Geisslinger, G.:

Entzündliche Schmerzen: Von der Pathophysiologie zur Therapie. Klinik für Schmerztherapie Bochum, 02.05.2012

Geisslinger, G.:

Lipid Signaling in Nociceptive Processing. Annual convention EuroPain, Montpellier, France, 25.08.2012

Geisslinger, G.:

Challenges and Opportunities in Pharmaceutical Innovation. Jahrestagung House of Pharma, Frankfurt am Main, 18.09.2012

Hellwig, S.:

Is yeast on the rise? – GMP production of pfAma1 diversity-covering variants. World Vaccine Conference, Gaylord National Convention Center, National Harbor, USA, 12.04.2012

Houdelet, M.:

Improved biomass and photosynthetic performance through expression of bacterial GlcDH polyprotein in tobacco. Symposium Modern Applications of Biotechnology, Dresden, 20.-21.09.2012

M - O

Nölke, G.:

AFLMP1-specific recombinant antibody fragment fused to an anti-fungal peptide inhibits the growth of fungal pathogens. Plant Biology Congress Freiburg 2012, Freiburg, 29.07.-03.08.2012

Nölke, G.:

Antibody fusion-based protection of plants and plant-derived products against aflatoxins and aflatoxin-producing fungi. Symposium Modern Applications of Biotechnology, Dresden, Germany, 20.-21.09.2012

Nölke, G.:

Antibody based pathogen resistance: *Aspergillus*-specific recombinant antibody fragments fused to anti-fungal peptides inhibit the growth of fungal pathogens. Sino-German Workshop on Biotechnology, Wuhan, China, 07.11.2012

P - R

Parnham, M.J.:

Ups and downs in pharmaceutical research: the examples of Ebselen and biosimilar Erythropoietin. Seminar Translational Research Innovation – Pharma, Frankfurt, 30.08.2012

Parnham, M.J.:

Basic research on immunomodulatory effects of macrolides. 3rd South-East European Conference on Chemotherapy and Infection, Dubrovnik, Croatia, 08.-11.11.2012

S - U

Schillberg, S.:

Molecular Farming: Production of pharmaceutical proteins in plants. Symposium Modern Applications of Biotechnology, Dresden, 20.-21.09.2012

Schillberg, S.:

Synthetic biology in plants. Cell-free protein synthesis. BIO.NRW.academy, Potenzial der synthetischen Biologie: Round Table für die Bioökonomiestrategie des Landes, Düsseldorf, 23.10.2012

Schillberg, S.:

Plant Biotechnology at the Fraunhofer IME. Sino-German Workshop of Biotechnology, Wuhan, China, 07.11.2012

Schillberg, S., Mandal, M. K., Kirchhoff, J., Raven, N., Schiermeyer, A.:

Novel strategies to reduce recombinant protein degradation in plant suspension cell lines. Molecular farming: plants as a production platform for high value proteins. COST Action Molecular Farming, Vienna, Austria, 16.-17.02.2012

Schubert, M.:

Engineering plant resistance: Comparison of antibody formats in the antibody-based pathogen resistance strategy. Symposium Modern Applications of Biotechnology, Dresden, 20.-21.09.2012

Schubert, M.:

Epitope identification of an *Aspergillus*-specific monoclonal antibody. Sino-German Workshop of Biotechnology, Wuhan, China, 07.11.2012

V - Z

Vilcinskas, A.:

Exploring the role of epigenetics in host-parasite-coevolution. Biologisches Kolloquium, Universität Osnabrück, 02.02.2012

Vilcinskas, A.:

Insect enzymes for biofilm degradation and complex organic synthesis. 24. Irseer Naturstofftage, Kaufbeuren, 22.-24.03.2012

Vilcinskas, A.:

Exploring the role of epigenetics in host-parasite-coevolution. DFG-Grant Proposal Colloquium, Münster, 16.-17.04.2012

Vilcinskas, A.:

Insect antennae based biosensors for *in situ* applications. Desorption 2012, Schloss Rauischholzhausen, 03.-07.06.2012

Vilcinskas, A.:

Does harmonine-based chemical defense mediate invasive success of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*? 28th Meeting of the International Society of Chemical Ecology, Vilnius, Lithuania, 22.-26.07.2012

Vilcinskas, A.:

The role of immunity in host-pathogen interactions Evolutionary plasticity of insect immunity. (Symposium 306)

Small non-coding RNAs and genome expression Gender- and stressor specific microRNA expression in *Tribolium castaneum*. (Symposium 507)

Advances in Symbiosis Symbiont-mediated invasive success of the Harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. (Symposium 511), XXIV International Congress of Entomology, Daegu, Korea, 19.-25.08.2012

Vilcinskas, A.:

Epigenetic regulation of innate immunity in insect model hosts. 2nd International Conference on Model Hosts, Rhodos, Greece, 01.-06.09.2012

Vilcinskas, A.:

Epigenetic regulation of metamorphosis and immunity in insects. 105. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft, Konstanz, 21.-24.09.2012

ANGEWANDTE OEKOLOGIE / APPLIED ECOLOGY

A - C

Bücking, M.:

Food Chain Management als gesellschaftliche Herausforderung. Food Chain Management Technologie-Workshop, Berlin, 07.02.2012

Bücking, M.:

Food Chain Management – potentials and opportunities for collaboration. Fraunhofer Roundtable on Food and Agriculture: Cooperation in Food Chain Management, DAAD Cairo, Egypt, 21.04.2012

Bücking, M.:

The food security challenge – contribution of modern Food Chain Management to food security. BioVision 2012, Alexandria, Egypt, 23.04.2012

Bücking, M.:

Fresh or not fresh – That is the question. New approaches in food quality measurements. Neue Impulse für (Agro)Logistik, Venlo, Netherlands, 02.05.2012

Bücking, M.:

Fresh or not fresh – That is the question. New approaches in food quality measurements. Neue Impulse für (Agrofood) Logistik, Emden, 23.05.2012

Bücking, M., Hengse, A.:

Food Chain Management strategies for improving the food security. 15th German-Arab Business Forum, Berlin, 13.-15.06.2012

D - F

Delov, V., Muth-Köhne, E., Schiller, V., Wichmann, A., Schäfers, C., Fenske, M.:

Ein quantitativer und Wirkmechanismus-spezifischer Auswertungsansatz für den Fischembryotest mit *Danio rerio*. Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCH-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Fenske, M., Wichmann, A., Schiller, V., Hollert, H., Kriehuber, R., Hecker, M., Schäfers, C.:

Refining the 48h-zebrafish embryo test – a mode of action dependent approach. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Fenske, M., Wichmann, A., Schiller, V., Hollert, H., Kriehuber, R., Hecker, M., Schäfers, C.:

Refining the 48h-zebrafish embryo test – a mode of action dependent approach. 1st European Conference on the Replacement, Reduction and Refinement of Animal Experiments in Ecotoxicology, EAWAG Dübendorf, Schweiz, 28.-29.06.2012

G - I

Heiss, C., Kleihauer, S., Hommen, U., Hund-Rinke, K., Fuehr, M.:

Environmental Quality Criteria (EQC): a comparison of methods under different regulatory regimes. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Hennecke, D.:

Transferability of standard lab degradation studies of organic substances (pesticides, pharmaceuticals, pollutants) in soils and/or plant uptake to climatic and agricultural practices in Israel and Germany. Hebrew University, Faculty of Agriculture, Rehovot, Israel, 14.10.2012

Hennecke, D., Herrchen, M., Atorf, C., Juncker, T., Berkner, S.:
Development of an experimental guideline for testing transformation of veterinary pharmaceuticals and biocides in liquid manure. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Hommen, U.:

Probabilistische Risikoabschätzung. Vorlesung in der Reihe: Konzepte in der Ökotoxikologie, RWTH Aachen, 13.01.2012

Hommen, U.:

Overview on ecological effect modeling in chemical risk assessment. One day course, Knoell Academy, Leverkusen, 07.03.2012

Hommen, U.:

***Miriophyllum* growth inhibition tests: Multiple designs – multiple uses?** AMEG meeting during the 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Hommen, U.:

Model ecosystems and ecosystem models – any progress over the last 25 years? Mini-Symposium “Applications and applicability of ecological models for ecosystem assessment and management (EAM)”, Wageningen University, Wageningen, Netherlands, 01.06.2012

Hommen, U.:

Use of mechanistic effects models in environmental risk assessments. 12th International Fresenius ECOTOX Conference “Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology and Risk Management”, Mainz, 26.-28.11.2012

Hommen, U., Rüdell, H., Knopf, B., Schäfers, C.:

Effects of chronic nickel exposure in semi-realistic aquatic meso-/microcosms. 7th Meeting of Sub-Group on Review of the Priority Substances List, Brussels, Belgium, 15.03.2012

Ibrahim, L., Preuss, T.G., Ratte, H.T., Hommen, U.:
A focal fish species for pesticide risk assessment in the EU. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

J - L

Klein, M.:
Die Durchführung von inversen Modellierungen mit Hilfe von inversePELMO. Umweltbundesamt, Dessau, 19.03.2012

Klein, M.:
Überblick über aktuelle EFSA-Dokumente zur Risikoabschätzung in Wasser, Boden und Luft. KNOELL Consultant, Leverkusen, 02.05.2012

Klein, M.:
Verhalten von Umweltchemikalien im Boden. Vorlesung in der Reihe: Modellierung des Verhaltens und der Ausbreitung von chemischen Stoffen in der Umwelt, RWTH Aachen, 08.-09.10.2012

Klein, M.:
Verhalten von Umweltchemikalien in Oberflächengewässern. Vorlesung in der Reihe: Modellierung des Verhaltens und der Ausbreitung von chemischen Stoffen in der Umwelt, RWTH Aachen, 22.-23.10.2012

Klein, M.:
Steps1234 and longterm simulations using the FOCUS SW scenarios. 6th European Modeling Workshop, Paris, France, 10.-12.10.2012

Klein, M.:
Die Berechnung sinnvoller Applikationstermine für Pflanzenschutzmittel in Abhängigkeit vom BBCH-Entwicklungsstadium. Umweltbundesamt, Dessau, 19.12.2012

Knopf, B., Jäger, S., Wieck, S., Müller-Knoche, S., Nöh, I.:
Survey of biocide environmental monitoring data in Germany. UBA/NORMAN-Workshop "Environmental monitoring of biocides in Europe - from prioritisation to measurements", Berlin, 05.-06.11.2012

Krueger, H., Springer, T., Schäfers, C.:
The contract lab perspective on fish and frog endocrine tests. SETAC SSS on Environmental Endocrine Disrupter Testing and Evaluation, Brussels, Belgium, 24.-25.10.2012

Kulkarni, D., Strauss, T., Hommen, U., Gergs, A., Ratte, H. T., Preuss, T. G.:
Using a modeling approach to compare sensitivities to Triphenyltin at the individual and population levels for three planktonic organisms. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

M - O

Meisterjahn, B., Legros, S., Wagner, S., von der Kammer, F., Hennecke, D., Hofmann, T.:
Application of Field Flow Fractionation for the analysis of engineered nanoparticles in complex matrices. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Müller, J.:
PolyTempSenso – Kunststofffolien mit immanenten temperaturgesteuerten Sensoreigenschaften. Fraunhofer IAP, Berlin, 09.02.2012

Müller, J.:
PFBA and PFPA in vegetables. Perfood Meeting, Tromsø, Norway, 04.-05.07.2012

Muth-Köhne, E., Delov, V., Wichmann, A., Fenske, M.:
The classification of motor neuron defects in the zebrafish embryo toxicity test (ZFET) as an animal alternative

approach to assess developmental neurotoxicity. Fish and Amphibian Embryos as Alternative Models in Toxicology and Teratology, Aulnay-sous-Bois (Paris), France, 11.-12.10.2012

Muth-Köhne, E., Sonnack, L., Schlich, K., Hischen, F., Baumgartner, W., Hund-Rinke, K., Schäfers, C., Fenske, M.:
Untersuchungen zur Wirkung von Silber-Nanopartikeln im Fischeitest unter Berücksichtigung von Klärprozessen.
 Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Nendza, M., Schlechtriem, C., Kühne, R., Schürmann, G., Zwintscher, A., Hahn, S., Jöhncke, U.:
Modelling specific mechanisms of bioaccumulation: protein binding and active uptake of surfactants.
 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

P - R

Preuss, T. G., Strauss, T., Hommen, U.:
Improving mechanistic understanding of population recovery for aquatic macro-invertebrates. 14th Annual CEFIC-LRI Workshop "Evolution or Revolution – Research Priorities for Future Risk Assessment?", Brussels, Belgium, 14.-15.11.2012

Rüdel, H.:
Environmental specimen banks as tools for substance-related monitoring. 3rd International Fresenius Conference – Environmental Risk Assessment for Chemicals, Köln, 25.-26.06.2012

Rüdel, H.:
Chemisches Monitoring und Umweltprobenbank.
 SETAC- / GDCh training course „Biomonitoring und Strategien zur retrospektiven Bewertung“, Frankfurt, 27.02.-02.03.2012

Rüdel, H., Hommen, U., Heiß, C.:
Sensitivity analysis of the EU BLM tool and evaluation with monitoring data sets from German waters. Meeting of Water Framework Directive Working Group E "Priority Substances", Brussels, Belgium, 15.03.2012

Rüdel, H., Hommen, U., Heiß, C.:
Sensitivitätsanalyse eines EXCEL-Tools für Bioligandenmodelle (BLM) und Evaluierung mit deutschen Monitoring-Daten. 21. Sitzung des LAWA-Expertenkreises „Stoffe“, Karlsruhe, 16.04.2012

Rüdel, H., Knopf, B., Jäger, S., Wieck, S., Nöh, I.:
Prioritization of biocidal substances for environmental monitoring. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Rüdel, H., Nowak, J., Müller, J., Ricking, M., Quack, M., Klein, R.:
Trendmonitoring von HBCD-Diastereomeren in Fischen europäischer Gewässer. Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Rüdel, H., Jäger, S., Wieck, S., Müller-Knoche, S., Nöh, I.:
Proposal for the prioritisation of biocides for environmental monitoring. UBA/NORMAN-Workshop "Environmental monitoring of biocides in Europe – from prioritisation to measurements", Berlin, 05.-06.11.2012

S - Z

Schäfers, C.:
Nachhaltige Landwirtschaft. LernFerien NRW – Begabung fördern; Akademie Bad Fredeburg, Schmallebenberg, 08.-12.10.2012

Schäfers, C., Teigeler, M.:

Kurzzeit- versus Dauerbelastung in Fish Full Life Cycle Tests mit einem Anti-Östrogen. Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Schlechtriem, C.:

Dietary and environmental factors influencing aquaculture product quality. Aquaculture Forum, Bremerhaven, 15.-16.10.2012

Schlechtriem, C.:

Regulatory testing procedures to study the metabolism of pesticides in farmed fish. 10th International Fresenius Conference "Food safety and dietary risk assessment", Mainz, 28.-29.02.2012

Schlechtriem, C., Hein, A., Klein, M., Koch, W.:

Stellt der Einsatz von Tierarzneimitteln in der Aquakultur eine Belastung für die Umwelt dar? XIV. Gemeinschaftstagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizer Sektionen der EAAP, Bautzen, 19.-21.09.2012

Schlechtriem, C., Böhm, L., Bruckert, H. J., Böhrer, W.,

Rauert, C., Düring, R.-A.:

OECD TG 305 under revision: Effect of different extraction procedures for the determination of aqueous analyte concentrations on the result of fish bioconcentration studies 2012. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Schlich, K., Terytze, K., Hund-Rinke, K.:

Long-term effects of sewage sludge spiked with Ag-NP on soil microorganisms. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Toschki, A., Hommen, U., Hund-Rinke, K., Klein, M., Pieper, S., Poßberg, C., Römbke, J., Roß-Nickoll, M., Schäffer, A., Schmidt, B., Scholz-Starke, B., Hammers-Wirtz, M.:

Evaluation of the risk for soil organisms under real conditions. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

POSTER

MOLEKULARBIOLOGIE / MOLECULAR BIOLOGY

A - C

Buntru, M., Vogel, S., Spiegel, H., Schillberg, S.:
BY2 Cell-Free Extract: An alternative *in vitro* translation system derived from tobacco BY2 cultures. Dechema International Workshop on New and Synthetic Bioproduction Systems, Hamburg, 06.-07.12.2012

D - I

Houdelet*, M., Peterhänsel, C., Schillberg, S., Nölke, G.:
Recombinant glycolate dehydrogenase multi-subunit fusion protein in the chloroplast of *Solanum tuberosum* strongly enhances photosynthesis and tuber yield. Plant Biology Congress, Freiburg, 29.07-03.08.2012
 *EPSO poster price award

J - L

Jäger, G., Girfoglio, M., Dollo, F., Rinaldi, R., Bongard, H., Commandeur, U., Fischer, R., Spiess, A. C., Büchs, J.:
Recombinant swollenin affects cellulosic substrates and accelerates hydrolysis. 3rd Annual General Meeting of NERSC Bioconversion Network, Vancouver, Canada, 06.08.2012

Klose, H., Klinger, J., Röder, J., Girfoglio, M., Fischer, R., Commandeur, U.:
Hyperthermophilic β -glucanase for advanced in planta biomass conversion. 6th International Congress on Biocatalysis, Hamburg, 02.-06.09.2012

Knape, T., Eifler, L. K., Heeg, A., Kuchler, L., Brüne, B., Parnham, M. J., von Knethen, A.:
Kinetic characterization of selective peroxisome-proliferator-activated receptor gamma modulators *in vitro*.

Critical Care 16 (2012) Supplement 3: Meeting Abstracts, Abstract P52
 DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/cc11739>

M - R

Nölke, G., Liao, Y. C., Shen, J.:
Antibody fusion-based protection of plants and plant-derived products against aflatoxins and aflatoxin-producing fungi. Modern Applications of Biotechnology, Dresden, 20.-21.09.2012

S - Z

Schmidt, T., Przyklenk, M., Girfoglio, M., Becker, J., Klose, H., Fischer, R., Commandeur, U.:
Synergistic effects of combined cellulolytic enzymes active in pure ionic liquids. 6th International Congress on Biocatalysis, Hamburg, 02.-06.09.2012

Schubert, M., Houdelet, M., Schillberg, S., Nölke, G.:
Engineering resistance against aflatoxin-producing fungi: Plant produced *Aspergillus*-specific scFv fused to anti-fungal peptides inhibits fungal growth. 25. Tagung Molekularbiologie der Pflanzen, Dabringhausen, 28.02-01.03.2012

Schubert, M., Houdelet, M., Ansari, S., Chteinberg, E., di Fiore, S., Nölke, G.:
Antibody-based resistance strategy: A high throughput system to evaluate transient expressed anti-fungal peptide fusions against plant pathogenic *Aspergillus* spp. Symposium – Modern Applications of Biotechnology, Dresden, 20.-21.09.2012

Taghavian, O., Spiegel, H., Fischer, R., Schillberg S.:
Infectious bursal disease subviral particles as an efficient vaccine for chickens. Virus-like particle and nano-particle vaccines meeting, Cannes, France, 27. -30.11.2012

ANGEWANDTE OEKOLOGIE / APPLIED ECOLOGY

A - C

Bänsch-Baltruschat, B., Claus, E., Coors, A., Heining, P., Hommen, U., Prutz, I., Rauert, C., Reifferscheid, G., Rüdell, H., Scheider, J., Schönfeld, J., Keller, M.:

Environmental monitoring for the risk management of substances of high concern with the focus on PBT substances. 9th International Symposium on Advanced Environmental Monitoring and Modeling, Helsinki, Finland, 25. - 28.06.2012

Böhm, L., Schlechtriem, C., Düring, R.-A.:

Effect of natural organic matter on the bioavailability of hydrophobic organic substances in fish bioconcentration studies according to OECD TG 305. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20. - 24.05.2012

Boesten, J., Klein, M., Tikta, A., Vanderborght, J., Egsmose, M.:

EU scenarios for exposure of soil organisms resulting from spray applications to annual crops. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20. - 24.05.2012

D - F

Delov, V., Muth-Koehne, E., Schiller, V., Wichmann, A., Schäfers, C., Fenske, M.:

A quantitative and mechanism specific toxicity assessment for the fish embryo test. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20. - 24.05.2012

Drabkin, D., Weinfurter, K.:

Wirkung von Terra Preta-Substraten auf Boden und Baumwachstum auf Windwurfflächen und unter Weihnachtsbaumkulturen. Gemeinsame Tagung der

Kommissionen IV und VI der DBG und GPW sowie 55. Jahrestagung GPW, Berlin, 24. - 27.09.2012

Elbers, S., Claßen, S., Hommen, U., Schlechtriem, C., Marschang, R.:

Desinfektion nach Ausbrüchen infektiöser Viruseechnen in Fischteichen – Untersuchung der Umweltverträglichkeit. XIV. Gemeinschaftstagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizer Sektionen der EAFF, Bautzen, 19. - 21.09.2012

Felizeter, S., Jüring, H., De Voogt, P., Müller, J.:

Uptake of perfluoroalkyl acids in plants under field conditions. 4th International Workshop Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances – PFASs, Idstein, 07. - 09.11.2012

G - I

Gallien, P., Herr, R., Klein, M.:

InversePELMO – a specific software to perform inverse modeling simulations with FOCUSPELMO. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20. - 24.05.2012

Goeritz, I., Atorf, C., Jüring, H., Whalley, P., Seymour, P., Schlechtriem, C.:

Development of a feed preparation protocol for the production of fortified experimental diets for fish metabolism and dietary accumulation studies. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20. - 24.05.2012

Graf, N., Förster, B., Römbke, J., Simon, M., Herrchen, M., Kühnen, U., Ebert, I.:

Umweltrisikobewertung von Tierarzneimitteln – Applikation von Gülle im OECD 208 Pflanzentest als Möglichkeit der realitätsnahen Exposition. Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10. - 13.09.2012

Hennecke, D., Herrchen, M., Merrettig-Bruns, U., Junker, T., Jager, S., Berkner, S.:

Development of a guidance for testing transformation of veterinary medicinal products (VMP) in manure.

6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Hommen, U., Alix, A., Auteri, D., Dohmen, P., Ducrot, V., Forbes, V., Luttk, R., Preuss, T. G., Reed, M., Schmitt, W., Thorbek, P., Wendt-Rasch, L.:

MODELINK – a SETAC Europe Workshop: How to use ecological models to link ecotoxicological tests to specific protection goals?

5th SETAC Europe Special Science Symposium "Ecosystem Services": From practice to policy, Brussels, Belgium, 15.-16.02.2012

Hund-Rinke, K., Terytze, K.:

Simulation of the bioavailability of mineral hydrocarbons for earthworms using different extraction methods.

6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

J - L

Jäger, S., Rüdél, H., Knopf, B., Wieck, S., Petersohn, E., Nöh, I.:

Preparation of a prioritization concept for the monitoring of biocides – Refinement of the data set used for the regulation of biocides.

UBA/NORMAN-Workshop "Environmental monitoring of biocides in Europe - from prioritisation to measurements", Berlin, 05.-06.11.2012

Klawonn, T., Knopf, B., Rüdél, H., Voigt, A.:

Transformation / dissolution testing of metals and inorganic substances according to OECD guidance 29: Technical challenges & experience.

6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Knopf, B., Klawonn, T., Kösters, J., Rüdél, H., Klein, R., Schröter-Kermani, C.:

Verification of the success of recent use restrictions for tributyltin by retrospective monitoring of archived biota samples from North and Baltic Sea.

UBA/NORMAN-Workshop "Environmental monitoring of biocides in Europe - from prioritisation to measurements", Berlin, 05.-06.11.2012

König, W., Holdt, G., Klaas, P., Osterwald, A., Klein, M., Trapp, M., Thomas, K.:

How Reliable is the Predicted Leaching of Pesticides into Groundwater? – Validation of the FOCUS Groundwater Model PELMO 4 for Use in the German National Registration Process.

6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Lampi, M., Merckel, D., Crookes, M., Rauert, C., Traas, T., Bleeker, E., De Silva, A., Hoke, R., Inoue, Y., Hashizume, N., Letinski, D., Lillcrap, A., Memmert, U., Parkerton, T., Schlechtriem, C., Vaughan, M., Woodburn, K., Yoshida, T., Zok, S.:

A ring test of the draft OECD 305 bioconcentration test guideline dietary exposure method.

6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

M - O

Macherey, M., Schiller, V., Fenske, M., Hollert, H.:

Genregulation als früher Nachweis endokriner Disruption durch androgen und anti-östrogen wirksame Substanzen im Zebrabärblings-Embryotest (zFET).

Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Meisterjahn, B., Hennecke, D., Legros, S., von der Kammer, F., Hofmann, T.:

Application of Flow Field Flow Fractionation for the analysis of engineered silver nanoparticles in complex matrices.

Wasser 2012, Neu-Ulm, 14.-16.05.2012

Meisterjahn, B., Wagner, S., von der Kammer, F., Hennecke, D., Hofmann, T.:
Application of Field-Flow Fractionation for the analysis of silver nanoparticles in complex matrices. 7th International Conference on the Environmental Effects of Nanoparticles and Nanomaterials, Banff, Canada, 10.-12.09.2012

Mohr, S., Arts, G., Davies, J., Dollinger, M., Giddings, J., Hanson, M., Hommen, U., Knauer, K., Loutseti, S., Poulsen, V., Wilson, C.:
Macrophytes in ecotoxicology – the new global Aquatic Macrophyte Ecotoxicology Advisory Group. AMEG International Symposium on Aquatic Plants "Plants in hydrosystems: from functional ecology to weed research", Poznań, Poland, 27.-31.08.2012

Muth-Koehne, E., Sonnack, L., Schlich, K., Schäfers, C., Debus, R., Fenske, M.:
Investigations on the effects of silver nanoparticles in the zebrafish embryo toxicity test, with consideration of sewage treatment processes. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

P - R

Reichenberger, S., Bach, M., Großmann, D., Guerniche, D., Hommen, U., Kaiser, M., Klein, M., Kubiak, R., Müller, A., Preuss, T. G., Trapp, M.:
Exposure and risk assessment for pesticide inputs into surface waters via surface runoff, erosion and drainage: developing a new concept for German national pesticide authorization. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Rüdel, H., Hommen, U., Heiß, C.:
Anwendung des Bioligandenmodells in der Gewässerüberwachung für Nickel, Zink und Kupfer. Gemeinsame Jahrestagung von SETAC GLB und GDCh-Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, Leipzig, 10.-13.09.2012

Rüdel, H., Böhmer, W., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective monitoring of methyltriclosan in freshwater fish covering the period 1992-2008. UBA/NORMAN-Workshop "Environmental monitoring of biocides in Europe - from prioritisation to measurements", Berlin, 05.-06.11.2012

S - U

Schäfers, C., Teigeler, M., Duis, K., Knacker, T., Maak, G.:
Peak exposure versus intrinsic toxicity in fish full life cycle tests with an anti-estrogen. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Schiller, V., Wichmann, A., Kriehuber, R., Hecker, M., Fenske, M.:
Can fish embryos help predict endocrine disruption? – An example with genistein. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

Schiller, V., Wichmann, A., Kriehuber, R., Schäfers, C., Fischer, R., Fenske, M.:
Transcriptome response patterns in zebrafish embryos – an alternative approach to assess endocrine disruption. Workshop: Genomics and high-throughput sequencing technologies with the zebrafish model, Cambridge, UK, 10.-11.12.2012

Schlechtriem, C., Claßen, S., Becker, D., Rinke, S., Hommen, U., Marschang, R.:
Desinfektion in der Fischzucht: Akute Toxizität von Desinfektionsmitteln auf aquatische Makroinvertebraten. XIV. Gemeinschaftstagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizer Sektionen der EAAP, Bautzen, 19.-21.09.2012

Teigeler, M., Duis, K., Knacker, T., Maack, G., Schäfers, C.:
Sexual endocrine disruption in fish with focus on estrogen receptor antagonists – a fish life cycle with fulvestrant. 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

V - Z

Weinfurtner, K., Schröter-Kermani, C., Ricking, M.:

Organic compounds in suspended particulate matter – results from the German Environment Specimen Bank (ESB). 6th SETAC World Congress / SETAC Europe 22nd Annual Meeting, Berlin, 20.-24.05.2012

IMPRESSUM

EDITORIAL NOTES

Herausgeber / *Published by*

Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie IME
Forckenbeckstr. 6
52074 Aachen

Alle Rechte vorbehalten.
Nachdruck nur mit Genehmigung des Fraunhofer IME.

*Fraunhofer Institute for Molecular Biology and
Applied Ecology IME*

*All rights reserved.
Reproduction only with permission from Fraunhofer IME.*

Redaktion / *Editors*

Prof. Dr. Rainer Fischer
Prof. Dr. Christoph Schäfers
Dr. Richard Twyman

Koordination und Gestaltung / *Coordination*

Dr. Arno Pütz
Brigitte Peine

Layout, Satz, Bildverarbeitung / *DTP*

Maren Luitjens

Druck / *Production*

Fraunhofer IRB Mediendienstleistungen, Stuttgart

Bildquellen / *Photo acknowledgements*

p. 12, 13, 14, 15: Ulrich Kaifer (Studio 95)
p. 29: ©Peter Winandy (RWTH Aachen)
p. 31, 32, 33: Ulrich Kaifer (Studio 95)
p. 35: D.N.S. Werbeagentur
p. 69: Dr. Matthias Scheuermayer, ZINF Würzburg
p. 77, F1: EM-Service of CODA-CERVA (Belgium)
p. 77, F2: Klaus Kindermann (MEV-Verlag)
p. 87, F3: Carlo Morelli (Forum Natura Mediterraneo)
p. 87, F4: Hans-Joachim Scheider (panthermedia)
p. 93, links (*left*): Simon Münch (panthermedia)
p. 93, mitte (*middle*): Carlos Gawronski
p. 93, rechts (*right*): Dustin Jensen (iStockphoto)
p. 107: Thomas Albrecht
p. 108: Umweltbundesamt
p. 110: panthermedia
p. 112: Fraunhofer IIS
p. 113, links (*left*): Fraunhofer IBMT
p. 113, rechts (*right*): Fraunhofer IPK
p. 114: MEV-Verlag
p. 115, rechts (*right*): Fraunhofer IVV
p. 116: Lichteinfluss ©Fraunhofer IVV
p. 119: ©Wolfram Scheible / Fraunhofer

Weiteres Bildmaterial / *further photographs*

Fraunhofer IME, Fraunhofer CMB, Fraunhofer CSB,
Fraunhofer-Gesellschaft, RWTH Aachen

Titelfoto / *Photo coverage*

Baumwollpflanzen für Metabolismusstudien / *Cotton plants
used for metabolism studies* (Ulrich Kaifer, Studio 95)

FRAUNHOFER IME

**JAHRESBERICHT
ANNUAL REPORT
2012/2013**

Fraunhofer IME

Bereich Molekularbiologie

Forckenbeckstr. 6
52074 Aachen, Germany
Tel: +49 241 6085 - 0
Fax: +49 241 6085 - 10000

Fraunhofer IME

Bereich Angewandte Oekologie

Auf dem Aberg 1
57392 Schmallenberg, Germany
Tel: +49 2972 302 - 0
Fax: +49 2972 302 - 319

Fraunhofer Center for

Molecular Biotechnology CMB

9 Innovation Way, Suite 200
Newark, DE 19711, USA
Tel: +1 302 369 3766

Fraunhofer Chile Research —

Center for Systems Biotechnology CSB

Avenida M. Sánchez
Fontecilla 310, Piso 14
Las Condes
7550296 Santiago, Chile
Tel: +56 2 378 1652

Fraunhofer IME

Abteilung Funktionelle und Angewandte Genomik

Hindenburgplatz 55
48143 Münster, Germany
Tel: +49 251 8322 - 302
Fax: +49 251 8328 - 371

Fraunhofer IME

Projektgruppe „Bio-Ressourcen“

Winchesterstr. 2
35394 Gießen, Germany
Tel: +49 641 9939 - 500
Fax: +49 641 4808 - 581

Fraunhofer IME

**Projektgruppe Translationale Medizin
und Pharmakologie**

Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt am Main, Germany
Tel: +49 69 6301-7619
Fax: +49 69 6301-7617