



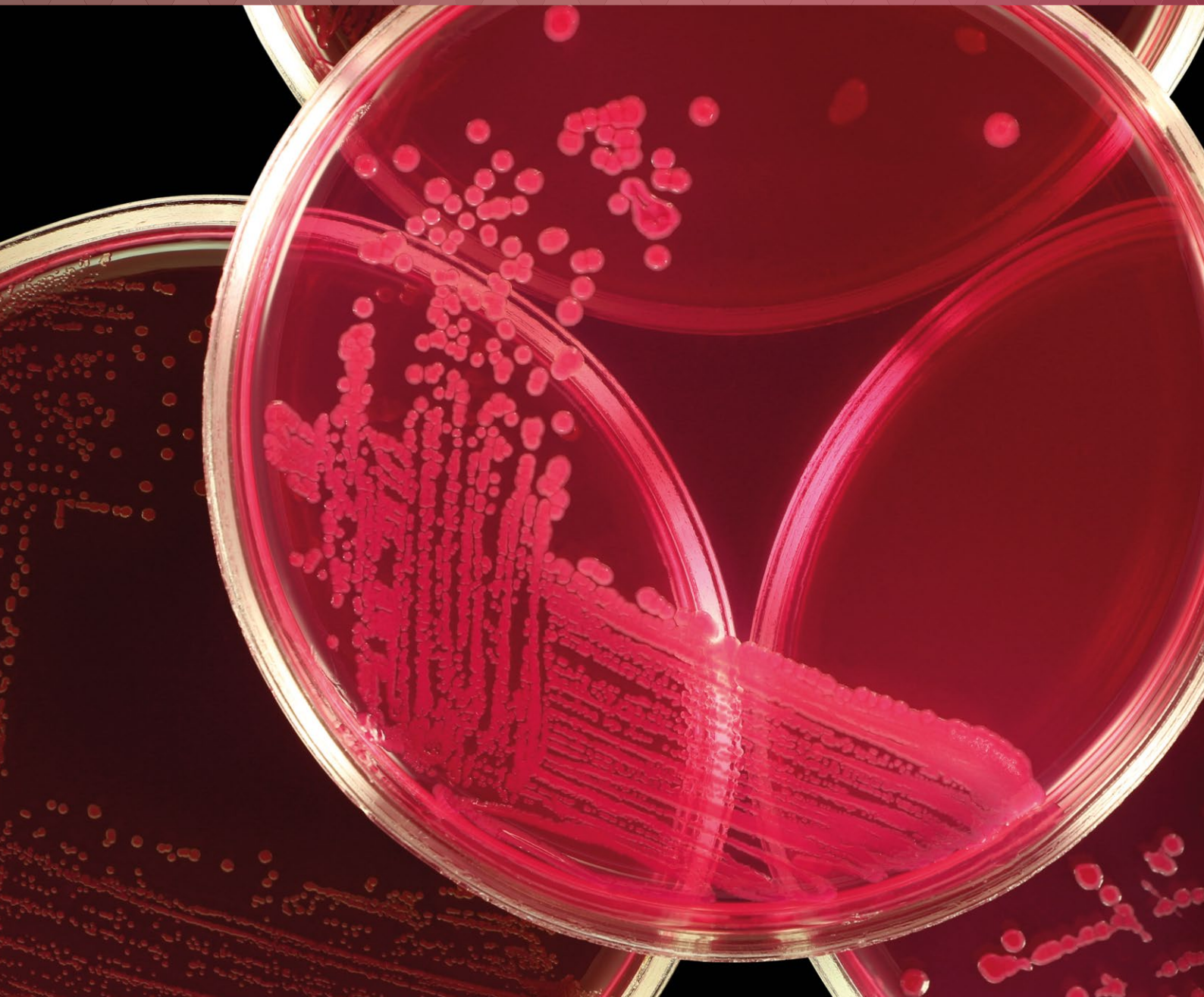
# Fraunhofer

LIFE SCIENCES

FRAUNHOFER – VERBUND LIFE SCIENCES

## INFEKTIONEN

## URSACHEN – DIAGNOSE – THERAPIE



## *Impressum*

### **Herausgeber:**

*Fraunhofer-Verbund Life Sciences  
Vorsitzender Prof. Dr. Horst-Christian Langowski  
Geschäftsstelle  
Dr. Claus-Dieter Kroggel  
Leiter der Geschäftsstelle  
Nikolai-Fuchs-Str. 1  
30625 Hannover  
Telefon +49 511 5350-449  
claus-dieter.kroggel@vls.fraunhofer.de  
www.lifesciences.fraunhofer.de*

### **Redaktion:**

*Dr. Claus-Dieter Kroggel  
Leiter der Geschäftsstelle Fraunhofer-Verbund Life Sciences  
Dipl.-Chem. Barbara Buller  
wiss+pa – wissenschaftliche pressearbeit, Potsdam  
Dr. Andrea Wetzel  
AW-BIOTECH-MARKETING, Bruchsal*

### **Bildquellen:**

*A. Hussein, Fraunhofer IBMT, Fraunhofer IGB,  
Fraunhofer IME, Fraunhofer ITEM, Fraunhofer IVV,  
Fraunhofer IZI, Fraunhofer IZI-BB, WHO,  
istockphoto.com: Satirus (Titel), Sanjeri (S. 4/5),  
Simarik (S.12/13), Anyaberkut (S.23), Shapecharge (S.26),  
DragonImages (S.58)*


*Alle Rechte vorbehalten. Vervielfältigung, auch in Auszügen,  
nur mit Genehmigung des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences.*

# INHALT

---

Vorwort: Immer flexibel – die Strategien der Keime 4


---

 **Ursprung**  
Von Anbeginn keine Chance für Erreger 6

---

 **Prävention**  
Die Säulen der Prävention 12

---

 **Diagnose**  
Die neuen Technologien in der Analytik 26

---

 **Wirkstoffentwicklung**  
Neue Targets – neue Wirkstoffe 30

---

 **Equipment**  
Innovative Strukturen eröffnen neue Chancen 50

---

---

Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences 56

---

---

Die Synergisten 58

---

# IMMER FLEXIBEL – DIE STRATEGIEN DER KEIME

Die Wahl zwischen Pest und Cholera verheißt bekanntlich nichts Gutes. Auch fast 400 Jahre nach dem Dreißigjährigen Krieg ist das Wüten der Pest noch im kollektiven Gedächtnis Europas verankert. Tief haben sich historisch bedeutsame Verwerfungen, der Zusammenbruch des sozialen Gefüges und die Entvölkerung ganzer Landstriche in das soziale Bewusstsein eingegraben. Es ist wahrscheinlich, dass das neue Duo, HIV und Ebola, besonders für die stark betroffenen Regionen in Afrika ähnliche Auswirkungen haben wird, vieles lässt sich heute erst ansatzweise abschätzen.

Die Entdeckung des Penicillins und zahlreicher weiterer Antibiotika und die seitens der WHO im Jahr 1980 erklärte Ausrottung der Pocken waren Meilensteine bei der Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Neben neuen Erkenntnissen zum Infektionsgeschehen und daraus folgenden hygienischen Maßnahmen führten zunächst zwei Strategien, Vorbeugung durch Impfung und Bekämpfung der Erreger durch Medikamente, zum erhofften Erfolg. Beispiele dafür sind die Kinderlähmung, Diphtherie und Tuberkulose.

Heute, nur wenig später, zeigen sich neue Herausforderungen auf dem Gebiet der Infektiologie. Die Erreger entwickelten Resistenzen, die man zunächst noch mit Weiterentwicklung und Modifikation der vorhandenen Antibiotika in den Griff

bekommen konnte. So wurde über Jahre hinweg die Forschung nach neuen Ansätzen, Ursachen und neuen Ressourcen für Antibiotika hintangestellt. In Verbindung mit einem allzu sorglosen Einsatz von Antibiotika, auch in der Nutztierzucht, konnten sich resistent gewordene Keime wie MRSA (Methicillin-resistente Staphylococcus aureus) zu gefürchteten Erregern nosokomialer Infektionen entwickeln. Auch die Erreger von Tuberkulose und Lungenentzündungen entwickelten Resistenzen, Komplikationen bei der Behandlung werden immer häufiger. Die Behandlung mit Antibiotika hilft bei diesen Keimen nicht mehr: Weltweit sterben derzeit pro Jahr rund 700.000 Menschen an Infektionen mit resistenten Erregern. Experten schätzen, dass mit der rasanten Zunahme solcher Resistenzen eine »post-antibiotische Ära« droht. Die Folge davon könnten bis zu 10 Millionen Todesopfer jährlich sein.

Zu den dringendsten Aufgaben gehört nach der WHO die Entwicklung von Impfstoffen gegen AIDS, Malaria und Tuberkulose (s. S. 15). Auch die Organisation »Ärzte ohne Grenzen« beklagt, dass immer noch Wirkstoffe gegen die großen »Killer« der Dritten Welt – Durchfall, Malaria und AIDS fehlen. Als Ursache benennt sie, dass es sich bei diesen Krankheiten – außer für AIDS, das auch in reichen Ländern verbreitet ist – für Pharmafirmen kaum lohnt, in die Forschung zu investieren – es fehlt schlicht ein Markt; denn die Patien-

ten selbst wie auch ihre Heimatländer sind zu arm, um neue Medikamente zu kaufen. Dass bei der Entwicklung dieser Vakzine häufig erschwere Bedingungen in den Zielländern zu berücksichtigen sind, kommt noch als verteuender Faktor hinzu. Zusätzlich zur nachgewiesenen Wirksamkeit müssen einfache Applikationsformen gefunden werden, auch eine mögliche Unterbrechung der Kühlkette muss bedacht werden. Mit einem gemeinsam aufgelegten 1,5 Milliarden Dollar Fond wollen die Bill und Melinda Gates Stiftung und einige europäische Regierungen diesem Problem abhelfen, indem sie den Pharmafirmen neu entwickelte Produkte abkaufen und so einen Markt schaffen.

Wie wichtig schnelles Handeln in Zeiten der Globalisierung ist, haben zuletzt Vogelgrippe, SARS und Ebola gezeigt. In kürzester Zeit Diagnosemöglichkeiten und Wirkstoffe bereitzustellen, stellt extreme Anforderungen an Know-how und Sachmittel.

Zur Lösung all dieser Fragen trägt der Fraunhofer-Verbund Life Sciences mit seiner ganzen Erfahrung und seinem großen Spektrum in Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der Infektiologie bei. Ein breit gefächertes Angebot steht Partnern aus Industrie und Hochschulen zur Verfügung: Es erstreckt sich von der Ursachenforschung über die Entwicklung neuer Herangehensweisen bei der Infektionsbekämpfung bis hin zur

Bereitstellung neuer Medikamente. Alle diese Schritte erfolgen in erstklassig ausgestatteten Speziallaboren, z. T. sogar mit den Möglichkeiten zur klinischen Erprobung. Nur ein Teil davon ist in dieser Broschüre abgebildet. Für weitere, individuell abgestimmte Möglichkeiten, bzw. ganz neue Projekte stehen die Mitarbeiter des Verbunds zu Ihrer Verfügung.

Sprechen Sie uns an.



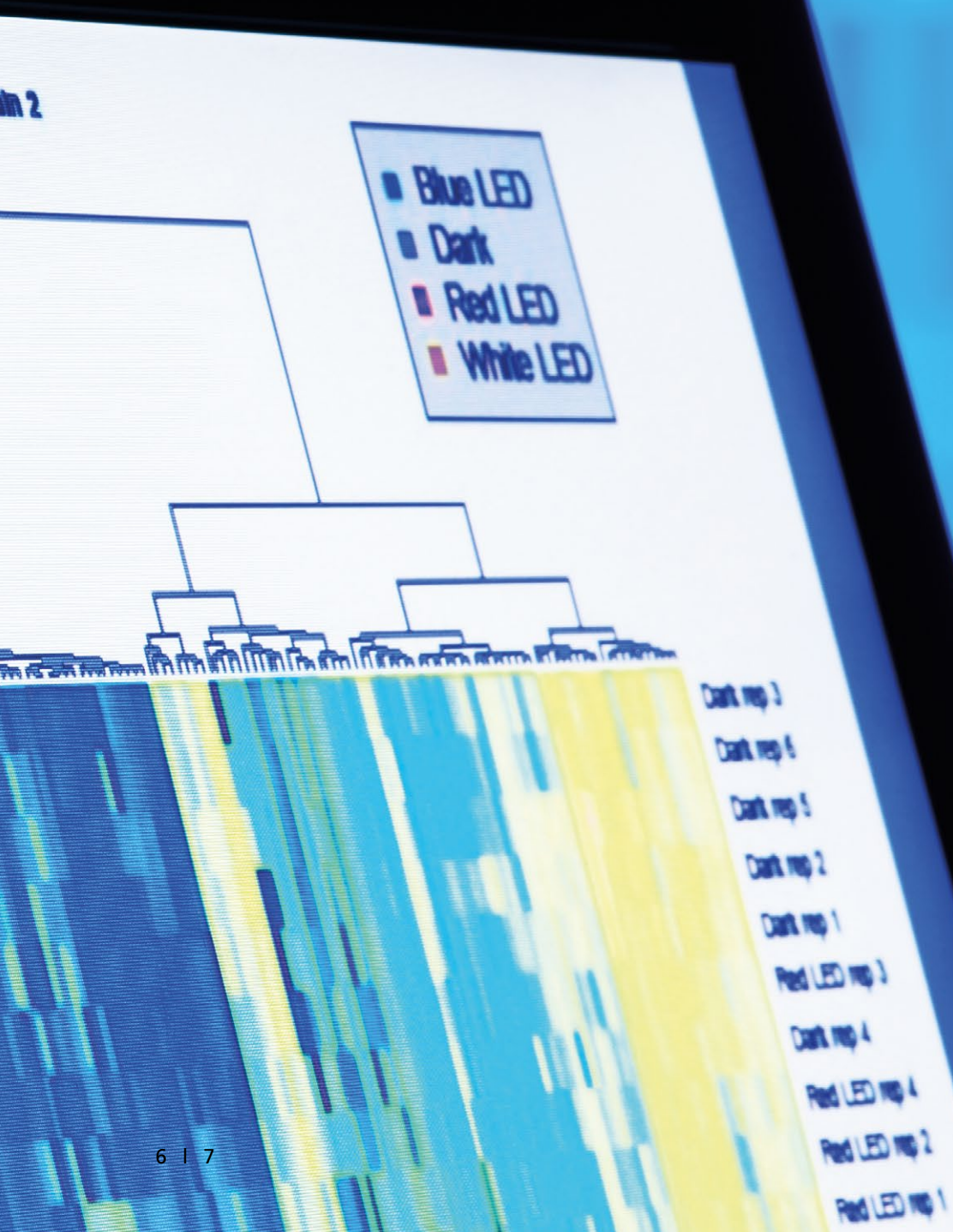
**Prof. Dr. med. Norbert Krug**  
Stellvertretender Verbundvorsitzender  
Fraunhofer-Verbund Life Sciences  
Institutsleiter Fraunhofer-Institut für  
Toxikologie und Experimentelle  
Medizin ITEM



**Prof. Dr. Horst-Christian Langowski**  
Vorsitzender Fraunhofer-Verbund  
Life Sciences  
Institutsleiter Fraunhofer-Institut für  
Verfahrenstechnik und Verpackung  
IVV



# URSPRUNG



# VON ANBEGINN KEINE CHANCE FÜR ERREGER

Das menschliche Immunsystem ist höchst individuell angelegt. So kann der Kontakt mit pathogenen Erregern völlig unterschiedliche Folgen haben: Was bei einigen Menschen zu schweren Krankheitsverläufen führt, wird von anderen kaum wahrgenommen, wieder andere sind nur leicht betroffen. Die Fraunhofer-Forschung nach den Ursachen hierfür erstreckt sich entlang der ganzen Linie des Krankheitsgeschehens. Aufgrund der Variabilität des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences können hier verschiedenste Möglichkeiten zur Untersuchung von Infektionen vorgestellt werden: Von der Analyse des ersten Schritts, den Einfalls- und Andockmechanismen der Keime, über die Ausbreitung auf Zellebene bis hin zur Darstellung des gesamten Ablaufs in unterschiedlichen Modellen finden Sie hier verschiedenste Ausgangspositionen zur Aufklärung von Infektionen.

## IMMUNREZEPTOREN UND WIRKSTOFFSCREENING

**Das angeborene Immunsystem hat großen Einfluss auf die individuelle Pathogenese, den Verlauf verschiedenster Erkrankungen wie Infektionen, Krebs, Autoimmun-Erkrankungen oder Allergien.**

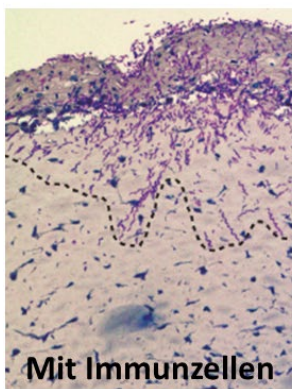
Verschiedene Klassen von Immunrezeptoren sind von zentraler Bedeutung innerhalb des angeborenen Immunsystems. Wie ihr Name »Pattern-Recognition-Rezeptoren« (PRRs) schon sagt, erkennen diese Rezeptoren konservierte molekulare Muster infektiöser Erreger und isolierte chemische Strukturen. Eine Stimulation dieser Rezeptoren führt über die Aktivierung verschiedener Signalkaskaden und Transkriptionsfaktoren zur Induktion einer Immunantwort. Damit spielen die PRRs eine bedeutende Rolle bei der Pathogenabwehr, können durch die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine aber auch an der Entstehung von pathologischen Prozessen bei akuten und chronischen Entzündungskrankheiten des Menschen beteiligt sein. Unter den PRRs stellen die Toll-like-Rezeptoren (TLRs) die größte und bekannteste Familie dar.

Durch gezielten Einsatz dieser Sensoren gelang es den Wissenschaftlern des Verbunds Nachweissysteme für Krankheitserreger und für mikrobielle Bestandteile, z. B. in pharmazeutischen Produkten zu entwickeln. Auf demselben Wege wurden Ganzzell-Biosensor-Assays aufgebaut, mit denen die Identifizierung neuer immunmodulatorischer Moleküle gelingt, die potenzielle Wirkstoffkandidaten für die Therapie der oben genannten Erkrankungen darstellen. Zudem lassen sich diese Ganzzell-Biosensor-Assays hervorragend zur Detektion mikrobieller Kontaminationen einsetzen. Diese Entwicklung wurde bis zur Patentreife fortgeführt (Patent WO002008003489A8).

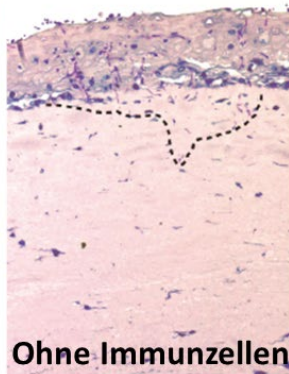


## ANSPRECHPARTNERIN

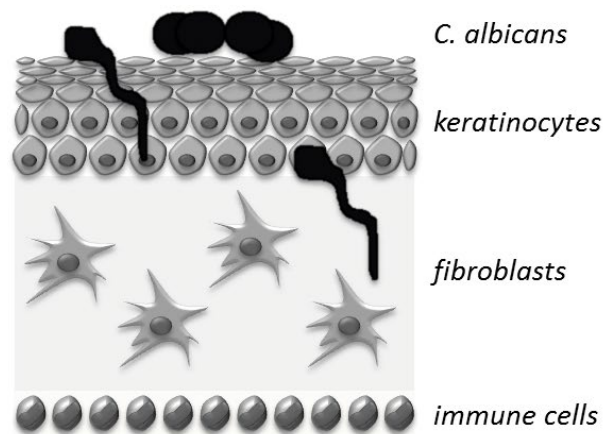
Dr. Anke Burger-Kentischer  
Telefon +49 711 970-4023  
anke.burger-kentischer@igb.fraunhofer.de



Mit Immunzellen



Ohne Immunzellen



1

**1** Vergleich der Infektionstiefe von *C. albicans* in Hautmodellen mit (links) und ohne Immunzellen (Mitte). Violette Hyphen stellen *C. albicans* dar. Rechts: Schematische Darstellung des Aufbaus des Infektionsmodells.

### IMMUNKOMPETENTE 3D-INFektionsMODELLE ZUR ERFORSCHUNG VON INFektionsIONEN MIT FAKULTATIV PATHOGENEN KEIMEN

**In-vitro-Modelle erlauben es, molekulare Vorgänge bei Wirt-Pathogen-Interaktionen zu analysieren. Besonders epitheliale Modelle sind in der Infektionsforschung geeignet, um die Interaktion zwischen Pathogenen und Wirtsoberflächen zu untersuchen.**

Infektionen mit kommensalen, fakultativ pathogenen Mikroorganismen gehören zu den am schwierigsten zu kontrollierenden Infektionserkrankungen in unseren Kliniken. Insbesondere im Alten-/Pflegebereich, wie auch bei langliegenden Patienten und Intensivpatienten führen Infektionen mit normalerweise vom Körper kontrollierbaren Keimen wie *Staphylococcus aureus* (MRSA) oder *Candida albicans* zu schwerwiegenden Erkrankungen, oft mit Todesfolge. Diese Infektionen gehen in der Regel von Mikroorganismen aus, die die epithelialen Oberflächen des Körpers, wie Haut, Schleimhäute und den Magendarmtrakt natürlicherweise besiedeln.

Zur Überprüfung von Infektionsmechanismen dieser fakultativ pathogenen Mikroorganismen stehen dem Verbund eigens entwickelte In-vitro-Infektionsmodelle zur Verfügung, die Infektionen an humanen Gewebemodellen abbilden können. An den epithelialen Barrieren im Menschen entscheidet vor allem das angeborene Immunsystem darüber, ob es zu einer Invasion der Pathogene in den Körper und nachfolgend zu einer Infektion kommt. Die angeborenen Abwehrmechanismen gegen Pathogene sind dabei stark abhängig von der Kommunikation der verschiedenen Zelltypen in einer dreidimensionalen Gewebestruktur.

Diese komplexe Ausgangssituation war für die Forscher des Verbunds Anlass zur Entwicklung von 3D-Infektionsmodellen der Haut, die neben den epithelialen Zellen (Keratinocyten) sowohl strukturelle Bestandteile wie dermale Fibroblasten und Kollagen als auch immunologisch relevante Komponenten wie verschiedene Immunzelltypen enthalten. Solche Modelle wurden bereits zur Untersuchung von Mechanismen der Wirt-Pathogen-Interaktion eingesetzt, wobei bislang insbesondere Infektionsvorgänge bei Pilzen (*Candida spp.*) und Viren (*Herpes simplex-Virus*, HSV-1) und die Abwehrmechanismen gegen diese Erreger analysiert wurden.

Mithilfe von genomweiten Analysemethoden, wie der Next-Generation-Sequenzanalyse können diese mit Immunzellen bestückten Infektionsmodelle umfassend analysiert werden. Dabei konnte gezeigt werden, dass keiner der individuellen Zelltypen für sich alleine eine effektive Abwehr des Pathogens, in diesem Fall *C. albicans*, erreichen kann. Vielmehr ist eine Zytokin-vermittelte Kommunikation zwischen den verschiedenen Zelltypen notwendig, um eine effektive antimikrobielle Antwort durch die im Modell vorliegenden dermalen Fibroblasten auszulösen. Eines der Schlüsselmoleküle, ist der für die Erkennung des Pathogens notwendige Immunrezeptor TLR2. Dieser induziert eine Signalkaskade, die die Pilzinvasion letztendlich zum Stillstand bringt.



Diese Ergebnisse unterstreichen die Rolle von Immunrezeptoren als wichtige Sensoren und Regulatoren des Immunsystems, die dem Körper helfen zu entscheiden, wann und wie die körpereigenen Abwehrmechanismen aktiviert werden müssen. Diese Modelle sind deshalb optimal geeignet um zur Identifizierung und Validierung von immun-modulatorischen Substanzen zur Bekämpfung von Infektionen aber auch von immunologischen Erkrankungen beizutragen. So können z. B. immunaktivierende Substanzen für eine schnellere Beseitigung einer Infektion sorgen und immun-supprimierende Komponenten überschießende Entzündungsreaktionen abmildern.

Mit diesem Ansatz kann das körpereigene Arsenal gegen Pathogene viel stärker in therapeutische Ansätze einbezogen und so ein schnelleres Abklingen von Infektionskrankheiten und ein besserer Schutz vor Infektionen erreicht werden.

Diese vielversprechenden Ansätze, teilimmunkompetente In-vitro-Modelle aufzubauen, werden weiter ausgebaut, um die molekularen Mechanismen der körpereigenen Abwehr an Epithelien besser zu verstehen und auf dieser Basis neue Wirkstoffe für die Therapie von Infektionserkrankungen zu entwickeln. Dies ist insbesondere bei immunsupprimierten Patienten deren Immunsystem geschwächt ist, relevant.

#### REPORTER-EPITHELIIEN ZUR OPTISCHEN ERFASSUNG VON IMMUNREAKTIONEN

**Die Interaktion und Kommunikation zwischen verschiedenen epithelialen Zellen und Immunzellen ist essentiell, um eine zielgerichtete Immunantwort gegen Pathogene zu aktivieren. Eine fehlgeleitete Kommunikation führt hingegen zu immun-medierten Erkrankungen. Screening- und Validierungssysteme, die schnell und effizient Substanzen für diese Indikationen identifizieren und validieren sollen, müssen deshalb auf dreidimensionalen Gewebeäquivalenten basieren.**

Um diese Bedingungen annähernd zu erfüllen, wurde, basierend auf den in den beiden vorangegangenen Artikeln beschriebenen Ergebnissen, im Verbund ein System entwickelt, mit dem eine Immunreaktion in einem dreidimensionalen Gewebeäquivalent optisch erfasst werden kann. Hierfür wurden Reportersysteme für die Aktivierung von Rezeptoren des angeborenen Immunsystems (PRRs) in verschiedene Zelltypen des oben beschriebenen 3D-Hautmodells eingebracht. Dabei können sowohl transient exprimierende Primärzellen, wie auch stabil transfizierte immortalisierte Zellen eingesetzt werden.

Diese 3D-Reporter-Hautmodelle ermöglichen es, die Aktivierung und Hemmung von zentralen Signalwegen des angeborenen Immunsystems im dreidimensionalen Gewebezusammenhang optisch/spektroskopisch quantitativ zu erfassen. (Patent DE102011121556B4).

Damit können sowohl der zeitliche Ablauf einer Infektion, wie auch der Effekt von Wirkstoffen auf den Verlauf der Infektion „online“ an einem, bzw. wenigen Gewebemodellen verfolgt werden. Durch die Verwendung unterschiedlicher Reporterzellen und Immunzellen, die in das System integriert werden, können damit auch komplexe Infektionsprozesse an epithelialen Barrieren beschrieben und für die weitere Wirkstoffentwicklung genutzt werden.



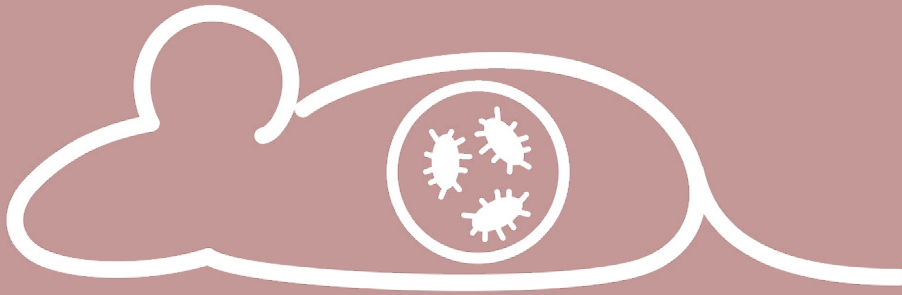
#### ANSPRECHPARTNER

Prof. Dr. Steffen Rupp  
Telefon +49 711 970-4045  
steffen.rupp@igb.fraunhofer.de



#### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Anke Burger-Kentischer  
Telefon +49 711 970-4023  
anke.burger-kentischer@igb.fraunhofer.de



1

**1** Zur Darstellung von Darm-entzündungen, der Lyme-Borreliose sowie verschiedenen Sepsisvarianten stehen spezielle Mausmodelle zur Verfügung.

**2** Die große Wachsmotte: *Galleria melonella*

## INFEKTIONEN IM TIERMODELL

**Neu aufgetretene multiresistente Keime wie z. B. MRSA (Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus) erfordern die Entwicklung einer neuen Generation bakteri-zider Arzneimittel.**

Neben der Entwicklung neuer antimikrobieller Arzneimittelkandidaten wie antimikrobielle Peptide (AMPs) und therapeutische monoklonale Antikörper gegen Krankheitserreger liegt der Fokus von Forschung und Entwicklung des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences auch auf der Bereitstellung verschiedener Tiermodelle. Diese Modelle erlauben Wirksamkeits- und Sicherheitstestung neuartiger Antibiotika wie AMPs oder Impfstoffe unter Bedingungen der Guten Laborpraxis (GLP).

Hierzu zählen Mausmodelle für akute oder chronische Darmentzündungen (Enteritiden), die durch *Salmonella enterica* (Serovar Enteritidis) ausgelöst werden. *Salmonella enterica* steht beispielhaft für gramnegative bakterielle Erreger, die, abhängig vom Immunstatus des Wirts, ein breites Spektrum von Krankheitssymptomen verursachen können, von Magen-/Darm-beschwerden bis hin zu Typhus und septischem Schock. Die Wissenschaftler verwenden für diese Modelle gut charakterisierte Salmonellenstämme mit unterschiedlicher Virulenz. Mithilfe eines attenuierten Salmonellenstammes kann der komplette akute Infektionsverlauf analog zum Menschen dargestellt werden. In diesem Modell können z. B. die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik sowie die Sicherheit von neuartigen Antibiotika untersucht werden. Für die Auslösung chronischer Darmentzündungen in der Maus sowie für die Prüfung neuer Impfstoffe gegen Salmonellen kommen virulente Salmonellenstämme zum Einsatz.

Eine weitere bakterielle Infektion, für die ein Mausmodell in enger Kooperation mit Prof. Reinhard Straubinger (LMU München) entwickelt wurde, ist die Lyme-Borreliose. Die so gewonnenen Ergebnisse sind in großen Teilen auf den Menschen übertragbar. Darüber hinaus eignen sich diese Modelle hervorragend zur Durchführung von Wirksamkeits- und Sicherheitsprüfungen neuartiger antiborrelialer Therapien sowie zur Effizienztestung neuer Vakzine gegen Infektionen mit Erregern aus der *Borrelia burgdorferi sensu lato* Gruppe.

Schließlich wurden in enger Kooperation mit Dr. Eike Hollenbach (Universität Leipzig) Mausmodelle für die durch vier unterschiedliche pathogenassoziierte molekulare Muster ausgelösten Sepsisvarianten etabliert. Bei der Sepsis, auch bezeichnet als *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS), handelt es sich um eine durch bakterielle Infektionen verursachte massive systemische Entzündungsreaktion, die auch heute noch eine hohe Mortalitätsrate aufweist. Dabei können die verursachenden bakteriellen Erreger sehr verschieden sein und erfordern jeweils spezielle Therapieansätze.



2

## INFEKTIONSMODELLE | TIERMODELLE

Die beim Verbund etablierten Mausmodelle bilden beispielhaft die Sepsisinduktion nach Infektion mit gramnegativen, grampositiven, extrazellulären oder intrazellulären Bakterien ab.

Alle Experimente unter Einsatz der aufgeführten In-vivo-Infektionsmodelle erfüllen die Anforderungen des Tierschutzgesetzes im Sinne der 3R-Strategie (Replace, Reduce, Refine) und werden behördlich überwacht. Wo die Möglichkeit dazu besteht, werden die In-vivo-Studien durch geeignete Untersuchungen in ebenso standardisierten In-vitro-Modellen substituiert. Alle Endpunkte entsprechen dem Stand der Technik und sind unter GLP-Bedingungen validiert worden.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Jörg Lehmann  
Telefon +49 341 35536-1205  
joerg.lehmann@izi.fraunhofer.de



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Ulla Schwertassek  
Telefon +49 341 35536-1206  
ulla.schwertassek@izi.fraunhofer.de

### INSEKTEN ALS ALTERNATIVE WIRTSMODELLE FÜR DIE VORKLINISCHE FORSCHUNG

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences ist eine der weltweit führenden Gruppen etabliert, die spezielle Insekten als alternative und ethisch besser vertretbare Modelle für die präklinische Forschung entwickelt, um Säugetiermodelle wie z. B. Maus und Ratte in Ganztierhochdurchsatzversuchen zu ersetzen.

Die Raupe der Großen Wachsmotte *Galleria mellonella* wurde mittlerweile zu einem weltweit akzeptierten Ersatzmodellwirt für humane Pathogene, da sie bei 37° C gezüchtet werden kann. Diese Eigenschaft ist unerlässlich, denn die Erreger von Infektionskrankheiten sind an die menschliche Körpertemperatur adaptiert. Insektenmodelle vereinigen mehrere Vorteile: Neben der preisgünstigen Aufzucht können sie durch Injektion oder Fütterung mit präzise definierten Inokula infiziert werden. Weiterhin kann man an ihnen komplexe Parameter wie Langlebigkeit, Fruchtbarkeit und Fitness bewerten, was an Zellkulturen nicht möglich ist.

Die Fraunhofer-Projektgruppe entwickelte *G. mellonella* als Wirtsmodell für Humanpathogene wie *Listeria monocytogenes*. In allen Ganztierhochdurchsatzversuchen konnten die Fraunhofer-Forscher mittlerweile Mäuse durch *G. mellonella* ersetzen. Dabei ergab sich für In-vivo-Screenings von Naturprodukten mit einer In-vitro-Aktivität gegen bakterielle Pathogene eine Kostensenkung von mehr als 90 %.

Für die Suche nach neuen Wirkstoffen für Antibiotika steht den Wissenschaftlern zudem das erst kürzlich errichtete Sanofi-Fraunhofer-Exzellenzzentrum für Naturstoffforschung zur Verfügung. Der Schwerpunkt liegt auf der Identifizierung von Stoffen, die aktiv sind gegen Humanpathogene, besonders gramnegative Bakterien.



### ANSPRECHPARTNER

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

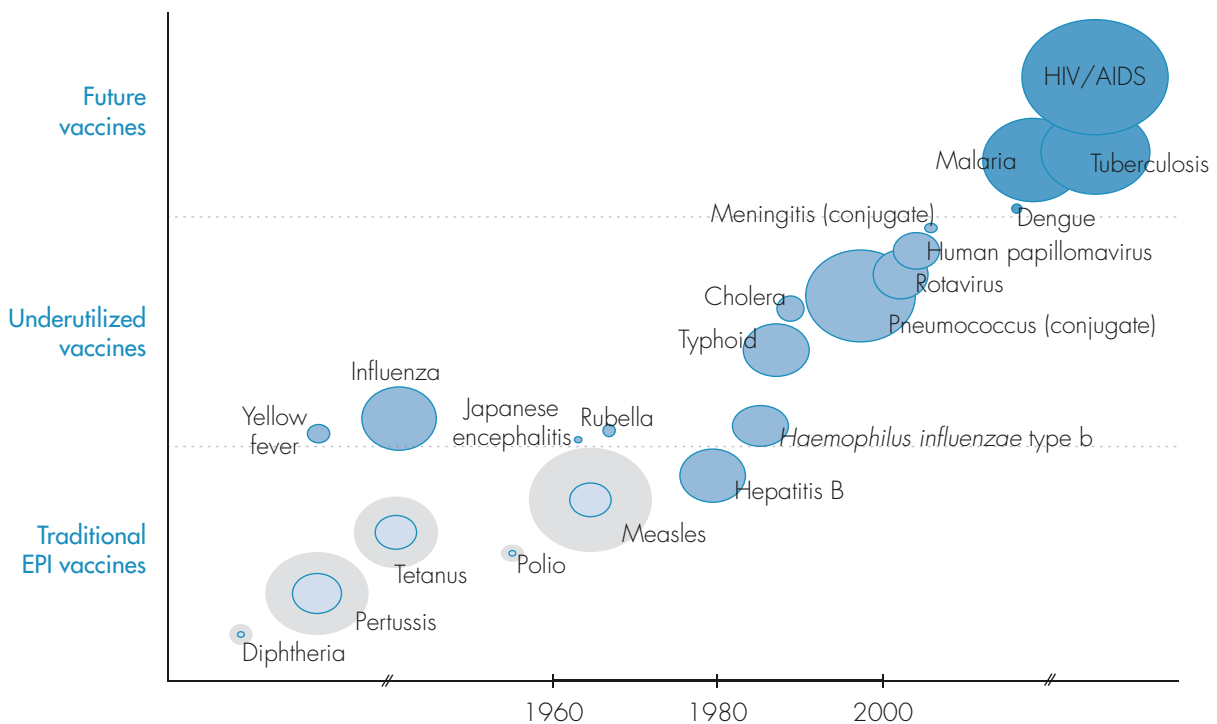


# PRÄVENTION

# DIE SÄULEN DER PRÄVENTION

Ein starkes Immunsystem und eine gute Konstitution bieten individuellen Schutz vor Infektionen. Für die Krankheitsprophylaxe der Allgemeinheit sind Hygienemaßnahmen und Impfung die wesentlichen Säulen. Obschon lange bekannt, sind deren Möglichkeiten noch längst nicht ausgereizt. Bakterienfilme erschweren nicht nur manche Therapie, sie führen auch dazu, dass Keime auf verschiedenen Materialien besonders gut haften. Bei chirurgischen Geräten, aber auch in der Nahrungsmittelerzeugung, kann dies fatale Folgen haben. Impfstoffe stehen noch längst nicht für alle Krankheiten und nicht in ausreichender Menge zur Verfügung, viele müssen laufend den Erregern angepasst werden. Diesen und weiteren Herausforderungen stellen sich alle Mitglieder des Verbunds und können vor dem Hintergrund ihrer gesamten Kompetenz ein vielfältiges, sorgfältig abgestimmtes Angebot zu präventiven Maßnahmen bieten. Dringend wird von der WHO die Entwicklung von Impfstoffen gegen AIDS, Malaria und Tuberkulose angemahnt (Siehe Grafik auf dieser Seite. Mit freundlicher Genehmigung der WHO: [www.who.int/iris/bitstream/10665/70254/1/WHO\\_IVB\\_10.02\\_eng.pdf](http://www.who.int/iris/bitstream/10665/70254/1/WHO_IVB_10.02_eng.pdf))

FIG. 1. THE POTENTIAL OF VACCINES



Area of circles is proportional to the number of deaths (2008 data). Shaded areas are proportional to the number of deaths prevented by vaccination.

Adapted from Serdobova I, Kieny MP. Assembling a Global Vaccine Development Pipeline for Infectious Diseases in the Developing World. *American Journal of Public Health*, 2006, 96(9):1554-1559.



1

**1** Mungbohnen sprossen  
unter UV-A-Licht – nicht frische  
Sprossen fluoreszieren.

## **SAFEFRESH – MIKROBIOLOGISCHE SICHERHEIT FÜR FRISCHE PFLANZLICHE LEBENSMITTEL**

**FrISChe Obst- und Salatmischungen sind ein wachsendes Marktsegment im Lebensmittelsektor. Dabei handelt es sich um Erzeugnisse, die lediglich gewaschen und vorge schnitten in den Handel kommen. Die minimale Verarbeitung garantiert einen hohen Frischegrad, bedingt aber auch die hohe Anfälligkeit gegenüber mikrobiellem Verderb. Da die Erzeugnisse gewöhnlich in rohem Zustand verzehrt werden, stellen Krankheitserreger (z. B. EHEC) eine potenzielle Gefahrenquelle dar.**

Ziel des Verbundprojekts SAFEFRESH war die Erforschung von Konzepten zum schnellen Nachweis und zur Inaktivierung von pathogenen Mikroorganismen auf Oberflächen pflanzlicher Lebensmittel.

Je schneller Kontaminationen mit Krankheitserregern erkannt werden, desto größer sind die Chancen, ihre Ausbreitung zu verhindern. Eine kulturbasierte Schnellmethode und Datenbank für den Nachweis pathogener Erreger mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight) ermöglicht je nach Ausgangskonzentration der Bakterien eine Identifikation innerhalb von sechs Stunden. Im Vergleich zu den in der Industrie etablierten kulturbasierten Verfahren resultiert daraus eine wesentliche Zeitersparnis.

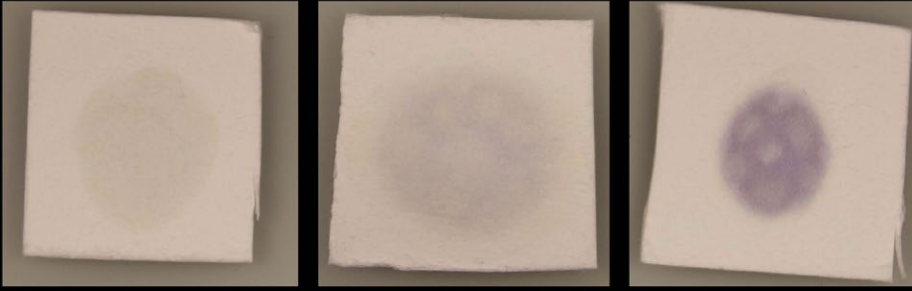
Dem Ziel, Lebensmittel im laufenden Verarbeitungsprozess zu entkeimen, sind die Wissenschaftler des Fraunhofer-Vereins Life Sciences einen großen Schritt näher gekommen. Sie beschäftigten sich mit der umfassenden Untersuchung der Wirksamkeit physikalischer (Xenon-Blitzlicht, Gasplasma) und chemischer Entkeimungsverfahren (Chlordioxid, elektrolytisch angeregtes Wasser) im Labor- und Technikumsmaßstab. Dabei konnte in praxisrelevanten Zeiten eine produktschonende Reduktion der mikrobiellen Belastung auf den Oberflächen der empfindlichen Produkte um bis zu 99 % erreicht werden.

In weiterführenden Untersuchungen muss noch die Unbedenklichkeit der behandelten Produkte für den Verbraucher belegt werden, bevor eine Realisierung im industriellen Maßstab erfolgen kann. Das Projekt SAFEFRESH wurde von Oktober 2012 bis September 2015 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert.



### **ANSPRECHPARTNER**

Dr. Peter Muranyi  
Telefon +49 8161 491-629  
peter.muranyi@ivv.fraunhofer.de



2

## SCHNELLNACHWEIS AKTIVER KEIME AUF OBERFLÄCHEN – EINFACHER WISCHTEST ZEIGT KONTAMINATIONEN AN

**Die Kontrolle bakterieller Populationen zum Schutz vor bakteriell bedingten Infektionen ist in der heutigen vernetzten Gesellschaft von großer Bedeutung.**

Da Bakterien auch feste Oberflächen besiedeln können, stellen kontaminierte Oberflächen ein erhebliches Reservoir für neue Infektionen dar. Besonders in medizinischen Einrichtungen muss neben der Vermeidung solcher bakteriellen Oberflächenanhaftungen die Besiedlung laufend kontrolliert werden, um ggf. weiterreichende Hygienemaßnahmen einzuleiten. Auch in anderen öffentlichen Bereichen sowie in der sogenannten Lebensmittelkette kommt es darauf an, einer raschen Ausbreitung der Krankheitserreger entgegenzuwirken.

Häufig ist die Auswahl der Maßnahmen zur intensiven und umfangreichen Reduktion bakterieller Belastung begrenzt, sei es aufgrund logistischer, gesundheitlicher oder kommerzieller Gegebenheiten. Aus diesem Grund sind hier vor allem präventive Methoden zur Kontrolle der bakteriellen Keimbelastung erfolgversprechend. Günstige, schnelle und möglichst universell einsetzbare Diagnoseverfahren sind notwendig, um eine Reduzierung der Keimbelastung in kurzer Zeit und gleich vor Ort zu bewirken.

NADH (Nicotinamidadenindinukleotid) und ATP (Adenosin-triphosphat) werden beim Energietransfer im Stoffwechsel lebender Organismen erzeugt. Diese beiden Stoffe lassen sich nachweisen und können semiquantitative Rückschlüsse auf eine Besiedelung mit lebenden Zellen, zunächst im weiteren Sinne, zulassen. Da es sich aber bei lebenden Zellen oder Zellverbänden auf Oberflächen fast ausschließlich um Bakterien oder Pilze handelt, ist ein »Besiedlungsnachweis« über die o.g. Stoffwechselprodukte für diese Keime möglich. Es gibt bereits Nachweisverfahren, die auf der beschriebenen Basis arbeiten, die Signale erreichen jedoch lediglich eine Stärke, die nur mit apparativen Hilfsmitteln detektierbar ist.

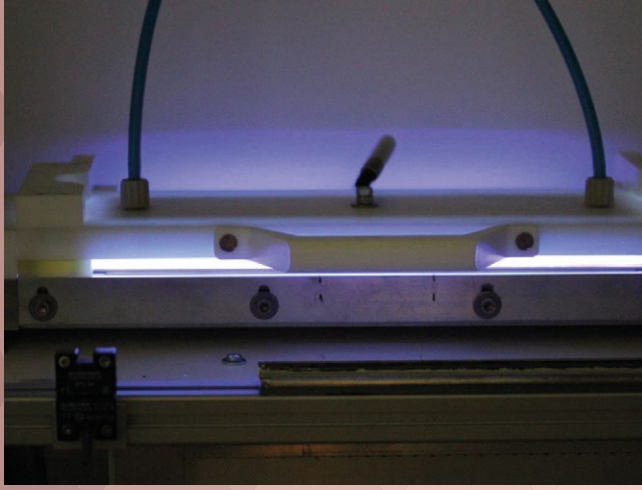
Wissenschaftler des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences führten dieses Prinzip weiter, indem sie eine chemische Vervielfältigungskaskade (wasserlösliche Komponenten, Additiva) integrierten. Ist das Signal einmal ausgelöst, wird ein sich selbst verstärkender Prozess in Gang gesetzt, sodass das Signal schließlich mit dem bloßen Auge sichtbar wird. Das vorkonfektionierte Reaktionsgemisch kann auf verschiedene Trägermaterialien, z. B. Filterpapier aufgebracht werden. Wischt man mit dem so vorbehandelten Träger über die zu untersuchende Fläche, zeigt ein Farbumschlag, bzw. eine eintretende Färbung die Keimbesiedelung an. In diesem Fall können unverzüglich weitere Analysen erfolgen oder Desinfektionsmaßnahmen eingeleitet werden.



### ANSPRECHPARTNER

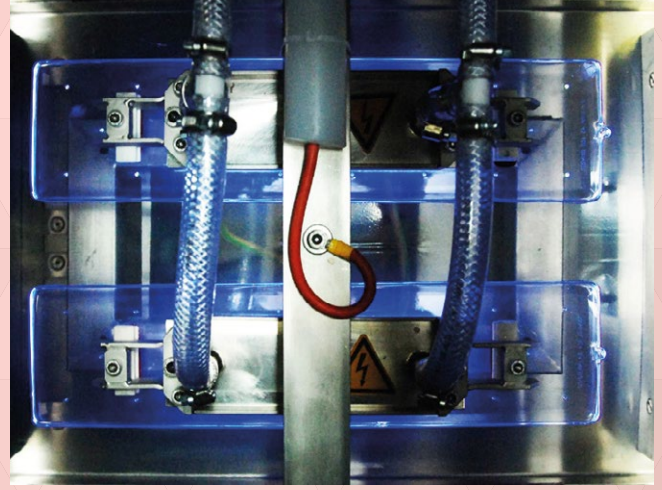
Dr. Markus von Nickisch-Rosenegk  
 Telefon +49 331 58187-207  
 markus.nickisch@izi-bb.fraunhofer.de

**2** *Zeitabhängige Darstellung eines prototypischen Wischtests.*



1

**1** Kaskadierte Barrierentladung für die Entkeimung von flachen Substraten.



2

**2** Plasmamodul für die kontinuierliche Behandlung von Packstoffen im Technikumsmaßstab.

## SCHONENDE ENTKEIMUNG MITTELS PLASMA TECHNOLOGIE

**Der Einsatz von kalten Gasplasmen ist eine innovative Technologie zur nicht-thermischen Entkeimung bzw. Sterilisation von Oberflächen. Auf diesem Wege kann Keimfreiheit auch für hitzeempfindliche Materialien erzielt werden.**

Durch Kombination und Synergie spezifischer Wirkmechanismen wie UV-Strahlung, Radikalchemie und Teilchenbeschuss ermöglichen Gasplasmen eine effiziente Inaktivierung von Mikroorganismen und Biomolekülen wie zum Beispiel Endotoxinen. Die hohe Leistungsfähigkeit im Sekundenbereich und die Vielseitigkeit der Plasmatechnik ermöglichen diverse Applikationen in der Verpackungs- und Lebensmitteltechnik.

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences besteht langjährige Erfahrung auf dem Gebiet der Plasmaentkeimung von Oberflächen. Dazu gehören neben der Bestimmung der mikrobiziden Wirksamkeit unterschiedlicher Plasmaquellen auch die Unterstützung bei der Optimierung und Weiterentwicklung solcher Systeme. Ein wichtiger Aspekt bei der Behandlung von Packstoffen, speziell aus polymeren Werkstoffen, ist der Erhalt der charakteristischen Materialeigenschaften wie z. B. Siegfähigkeit oder Gasdurchlässigkeit. In diesem Zusammenhang können physikalische und chemische Packstoffuntersuchungen jeglicher Art durchgeführt werden. Auch die Anwendung von Gasplasmen zur produktschonenden Entkeimung von Lebensmitteln ist Gegenstand aktueller Forschungsvorhaben.

Diese Kompetenzen fließen in die Beratung der Kunden ein, wenn es um spezielle Fragestellungen zur Anwendung der Plasmatechnologie geht: Der mikrobiologische Effizienznachweis von Plasmaquellen bei Packstoffen, Lebensmitteln und anderen Oberflächen und mikrobiologische Packstoffuntersuchungen nach DIN-Methoden und einschlägigen Merkblättern können ebenso durchgeführt werden wie die Beurteilung der Entkeimungseffizienz im Hinblick auf die verlängerte Haltbarkeit von Lebensmitteln in der industriellen Anwendung. Der Verbund gibt Hilfestellung bei der Optimierung und Weiterentwicklung von Plasmasystemen. Auch die Bewertung von Qualitätsveränderungen bei Lebensmitteln kann vorgenommen werden.



### ANSPRECHPARTNER

Joachim Wunderlich  
Telefon +49 8161 491-624  
joachim.wunderlich@ivv.fraunhofer.de



## **MIKROBIOLOGISCHE VALIDIERUNG VON ENTKEIMUNGSTECHNOLOGIEN, STERILISATIONSVERFAHREN UND ABFÜLLANLAGEN**

**Viele Produkte aus dem Pharma- und Lebensmittelbereich müssen aseptisch oder keimarm abgefüllt werden, um eine hohe mikrobiologische Sicherheit und Haltbarkeit zu gewährleisten.**

In der industriellen Praxis gibt es dafür unterschiedliche Maschinenkonzepte, welche chemische oder physikalische Entkeimungstechnologien nutzen. In Belastungstests, sog. mikrobiologischen Challenge-Tests, wird der qualitative und quantitative Nachweis der mikrobiologischen Entkeimungsleistung von aseptisch oder keimarm arbeitenden Abfüllanlagen erbracht. Dabei wird die Leistungsfähigkeit der Entkeimungsvorrichtungen auf der Packmittel- und Anlagenseite (Steriltunnel, Isolator) mit definierten Methoden geprüft, um mögliche Schwachstellen im Abfüllprozess aufzuzeigen und eine Aussage über den hygienischen Gesamtzustand der Anlage sowie die mikrobiologische Sicherheit des Abfüllprozesses zu erhalten. Dieser quantitative Nachweis über die Leistungsfähigkeit, Möglichkeiten und Grenzen unterschiedlicher Entkeimungsverfahren (z. B. Wasserstoffperoxid, Peressigsäure, UV- bzw. IR-Strahlung, Heißluft und Sattdampf, Elektronenstrahl) bietet häufig die Grundlage für die Prozessoptimierung und Anlagenauslegung.

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences kann der mikrobiologische Effizienznachweis von Entkeimungsmethoden und hygienischen Abfüllanlagen gemäß VDMA-Empfehlungen in der Entwicklungsphase, bei Inbetriebnahme vor Ort und bei Revalidierungen erfolgen. Neben der Überprüfung der Anlagensterilisation (Sterilization-In-Place) entwickeln die Wissenschaftler des Verbunds auch spezifische Bioindikatoren sowie deren Resistenzprüfung.

Als Serviceleistung bietet der Verbund mikrobiologische Packstoffuntersuchungen nach DIN-Methoden und Merkblättern an und bewertet die Kompatibilität der Verpackung gegenüber Entkeimungsmethoden. Auch für die Beurteilung der Gesamthygiene von Betriebsräumen und Beratung zu deren Verbesserung und im Ernstfall für die Ursachenklärung bei komplexen Schadensfällen ist die umfassende Expertise des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences abrufbar.



### **ANSPRECHPARTNER**

Joachim Wunderlich  
Telefon +49 8161 491-624  
[joachim.wunderlich@ivv.fraunhofer.de](mailto:joachim.wunderlich@ivv.fraunhofer.de)



1

## NEUE MÖGLICHKEITEN ZUR EFFIZIENTEN VOR-ORT-STERILISATION

**Bei der immer komplexeren medizinischen Versorgung zählen postoperative und nosokomiale Infektionen zu den größten Risikofaktoren. Die dabei anfallenden zusätzlichen Kosten werden auf bis zu zwei Milliarden Euro pro Jahr geschätzt.**

Zwar leisten die bisherigen Sterilisationsverfahren (hauptsächlich Dampfsterilisation) einen wesentlichen Beitrag zur Minimierung des Infektionsrisikos, problematisch sind nach wie vor thermolabile Mikrosysteme, Medizinprodukte aus Verbundwerkstoffen, Instrumente oder Implantate mit intelligenter Elektronik/Sensorik und auch zelltherapeutische Präparate.

Um diese Defizite auszugleichen, hat ein Konsortium aus sieben Fraunhofer-Instituten in dem von der Fraunhofer-Gesellschaft geförderten Projekt SteriHealth® einen hocheffektiven, schnellen und sicheren Hygienesicherungsprozess zur Bereitstellung keimfrei verpackter Medizinprodukte entwickelt.

Ein wesentliches Projektziel war die Miniaturisierung der hochwirksamen Niederenergie-Elektronenstrahltechnologie, um innerhalb weniger Sekunden eine materialschonende Vor-Ort-Sterilisation von verpackten Medizinprodukten zu ermöglichen. Zur Bestimmung der Dosisverläufe wurden zunächst unterschiedliche Modellkörper entwickelt. Darauf aufbauend wurden verschiedene Medizinprodukte (z. B. Ultraschall- und Impedanzsensoren) getestet. Selbst nach bis zu 150 Zyklen von Sterilisation und Verwendung hoher Strahlendosen zeigte sich keine signifikante Beeinflussung der Funktionalität der untersuchten Produkte.

Weitere Teilprojekte waren die Qualifizierung des Verpackungsmaterials, die Entwicklung eines Monitoringsystems zur Erhöhung der Qualitätssicherung, die Evaluierung der Sterilisationseffizienz und die Entwicklung hochwirksamer antibiotischer Peptide als zusätzliche Barriere.

Die Anforderungen an eine geeignete Verpackung waren hoch: Zulassung für Medizinprodukte, Eignung für schwere, scharfkantige und bewegliche Produkte, Fixierung des Produktes in der Verpackung sowie Strahlenbeständigkeit und Siegel-/Peelbarkeit. Für das Monitoringsystem zur indirekten Überprüfung der Produktsterilität wurden optisch aktive Partikel verwendet. Diese sind stabil in das Verpackungsmaterial integriert, verändern ihre optischen Parameter im Zuge der Elektronenbestrahlung und ermöglichen damit die Zuordnung zu einer definierten Strahlendosis. Ein Ergebnis dieses Teilpakets war die Entwicklung eines Handgeräts, das zur Detektion eingesetzt werden kann.

Die Sterilisationseffizienz, d. h. die reproduzierbare Keimfreiheit an ausgewählten verpackten Medizinprodukten, wurde an Referenzkeimen (z. B. *Bacillus pumilus*) und klinischen Isolaten (z. B. *Klebsiella pneumoniae*) getestet. Dabei konnte eine effiziente Sterilisation – Reduktion um sechs log-Stufen – bereits ab einer Strahlendosis von 10 kGy gezeigt werden.

Auch die Biokompatibilität der verwendeten Packstoffe, Medizinprodukte und optischen Partikel wurde im Vergleich mit der Ethylenoxid-Sterilisation untersucht. Hier zeigte sich selbst bei wiederholter Bestrahlung mit hohen Dosen keine signifikante Beeinträchtigung der Funktion und Biokompatibilität.

Die antibiotischen Peptide, die in Kombination mit der Verpackung als zusätzliche Barriere dienen, sollten folgende Anforderungen erfüllen: Breitbandwirkung (aktiv bei Bakterien und Pilzen), geringe Immunogenität, keine nachweisbare Zytotoxizität gegen somatische Zellen, Bindung an die Oberfläche des Verpackungsmaterials und eine Aktivität von über 50 %, selbst nach Bestrahlung mit 300 kGy. Ca. 20 Peptide bewirkten eine Hemmung des bakteriellen Stoffwechsels, wobei fast keine Ausbildung von Resistenzen erfolgte. Selbst nach Bestrahlung mit hohen Dosen (300 kGy) zeigten 10 Peptide noch eine Aktivität von über 75 %.

Insgesamt konnte das Konsortium die Funktionalität, Effizienz und Sicherheit dieses Hygiene-sicherungsprozesses nachweisen und hat dazu einen ersten Demonstrator entwickelt. Darüber hinaus ist auch das erworbene Know-how aus den Entwicklungsarbeiten an den einzelnen definierten Projektzielen für Problemstellungen im Kundenauftrag abrufbar. Dieser neuartige Prozess kann bestehende Sterilisationsverfahren z. B. in den Bereichen Augenheilkunde, Biosensoren oder biologische und theranostische Implantate sinnvoll ergänzen.

**1** *SteriHealth – Demonstrationsgerät zur schnellen Sterilisation vor Ort.*



#### ANSPRECHPARTNER

Dr. Axel Wibbertmann  
Telefon +49 511 5350-301  
[axel.wibbertmann@item.fraunhofer.de](mailto:axel.wibbertmann@item.fraunhofer.de)



1

**1** In einfachen Verhältnissen sind häufig die Infektionswege und Gefahren durch Zoonosen unbekannt. Prof. Hussein erklärt den Menschen auf dem Land Maßnahmen zur Prävention.

**2** Im Gespräch: Prof. Dr. Mark Bücking (Fraunhofer-Verbund Life Sciences) und Mitarbeiterinnen der MBRU.



2

## VOM TIER ZUM MENSCHEN – GEFAHREN DURCH ZOOSENOSEN

**Immer wieder entstehen der Landwirtschaft erhebliche finanzielle Einbußen durch Epidemien in Zucht- und Mastbetrieben. Darüber hinaus können diese Tierkrankheiten – Zoonosen – unter bestimmten klimatischen Bedingungen und hygienischen Verhältnissen auch auf den Menschen übertragen werden. Prof. Dr. Asmaa Hussein, Direktorin der Molecular Biology Research Unit (MBRU) und Professorin für Zoonosen in der Abteilung Tierhygiene und Zoonosen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Assiut, Ägypten, berichtet über ihr Engagement bei der Aufklärung der Bevölkerung über präventive Maßnahmen im Umgang mit den häufigsten Zoonosen.**

VLS: Frau Professor Hussein, Ihr Forschungsgebiet sind Zoonosen, Krankheiten, die in erster Linie Tiere befallen. Diese können aber auch für Menschen eine Gefahr darstellen. So setzten noch vor kurzem Ebola, Zika und SARS eine weltweite, fieberhafte Suche nach Maßnahmen zur Früherkennung, Prävention und vor allem nach einer geeigneten Therapie in Gang. Nicht alle Zoonosen verlaufen derart spektakulär wie die gerade erwähnten, sie stellen jedoch regional eine ernsthafte Gefahr dar. Auf welchen Erregern liegen Ihre Forschungsschwerpunkte?

Prof. Hussein: Bei uns in Ägypten, das ja zu den tropischen Ländern zählt, treten tatsächlich immer wieder Probleme mit Zoonosen auf. Wir haben es mit Tierkrankheiten wie Rindertuberkulose, Brucellose, bakteriellen Lebensmittelvergiftungen, Vogel- und Schweinegrippe, Tollwut, Maul- und Klauenseuche, Rifttalfeber, Toxoplasmose, Fasziole und vielen anderen zu tun.

VLS: Eine Ursache für die zunehmende Resistenzbildung gegen Antibiotika in der Humanmedizin liegt in ihrer übermäßigen Anwendung in der Tiermedizin. Sehen Sie dazu Alternativen?

Prof. Hussein: Ja, es gibt tatsächlich viele Alternativen. So kann man zum Beispiel das Immunsystem der Tiere auch mit Kräutern stärken. Diese Pflanzen findet man an vielen Stellen, überall in Ägypten; und das Beste ist, sie wachsen ganz von selbst. Als weitere Maßnahme müssen die Regeln für gute Tierhaltung eingehalten werden. Das bedeutet: keine Überbelegung der Ställe und gute, ausgewogene Futtermittel, sodass die Mikroflora der Tiere im gesunden Bereich bleibt.

VLS: In Ihren Publikationen analysieren Sie den Ausbruch verschiedener Zoonosenepidemien auch unter Menschen. Welches sind denn die hauptsächlichen Übertragungswege?

Prof. Hussein: Beim professionellen Umgang mit Tieren, wie z. B. bei Tierärzten, Landwirten, Schlachtern oder Laboranten findet die Übertragung hauptsächlich durch direkten Kontakt mit den infizierten Tieren, bzw. deren Sekreten statt (u. a. Urin, Milch, Fleisch). Andere Gruppen,

### INTERVIEW:

Prof. Dr. Asmaa A. A. Hussein ist Direktorin der Molecular Biology Research Unit (MBRU) und Professorin für Zoonosen in der Abteilung Tierhygiene und Zoonosen der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Assiut. Zugleich ist sie Dekanin dieser Abteilung. Sie absolvierte zahlreiche Forschungsaufenthalte in Österreich, Frankreich, Deutschland und den USA und ist als Mitglied des wissenschaftlichen Beirats und Gutachterin für zahlreiche Fachzeitschriften tätig.

etwa Hausfrauen oder Kinder infizieren sich in erster Linie über die Nahrung: Quellen sind z. B. rohe oder ungenügend gekochte Milch und Milchprodukte, unzureichend gegartes Fleisch und Fleischprodukte oder auch verunreinigtes Gemüse in Rohkostsalaten. Aber auch über Inhalation (als Staub oder Tröpfchen), Bisse von größeren Tieren wie bei der Tollwut sowie über Insektenbisse von Moskitos, Fliegen und Flöhen können viele zoonotische Krankheiten übertragen werden. Zika- und Gelbfieber, Leishmaniose, Trypanosomiasis, die Schlafkrankheit, sind typische Beispiele für diesen Übertragungsweg.

VLS: Neben Ihrer Tätigkeit als Hochschullehrerin und Forscherin bieten Sie auch niedrigschwellige Informationsveranstaltungen für die Bevölkerung an. Welche Themen vermitteln Sie dort?

Prof. Hussein: Hier geht es um etwas ganz anderes als bei meinen wissenschaftlichen Arbeiten. Hier geht es um die Aufklärung der Öffentlichkeit über Gefahren, die von diesen Krankheiten ausgehen, über Ansteckungs- und Verbreitungswege und natürlich über konkrete Maßnahmen zur Prävention und Bekämpfung. Seit 1988 halte ich in möglichst einfacher, allgemein verständlicher Sprache öffentliche Vorträge, die sich an alle sozialen Schichten wenden – Bauern, Hausfrauen, Tierärzte und deren Mitarbeiter, Studenten und Schüler. Hin und wieder äußern die Menschen auch Ängste vor Krankheiten, die in anderen Ländern auftreten und die sie aus den Medien kennen. Deshalb spreche ich auch über Krankheiten wie Ebola, Zika Virus, Corona und SARS. Gerade in letzter Zeit habe ich häufig über das Zika Virus informiert. In 2006 und in den folgenden Jahren während der Vogelgrippe habe ich viele Dörfer in den Provinzen in Oberägypten besucht und die Menschen über die Krankheit informiert und zu Schutzmaßnahmen beraten. Dieselbe Aktion haben wir auch während der Krise aufgrund der Schweinegrippe durchgeführt. Dabei wurden auch Schüler und Studenten der Hochschulen einbezogen.

Zur öffentlichen Aufklärung über die wichtigsten Zoonosen gehört auch der Kontakt über die Medien. Deshalb halte ich im »Nile Center for Media« regelmäßig eine Vorlesung über verschiedene Tierkrankheiten eigens für Beschäftigte im Gesundheitsbereich – Ärzte, Tierärzte, Mitarbeiter in Restaurants sowie in der Landwirtschaft tätige Menschen.

VLS: Sie haben schon einige Facetten des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences kennen gelernt. Welche Gebiete finden denn Ihr besonderes Interesse?

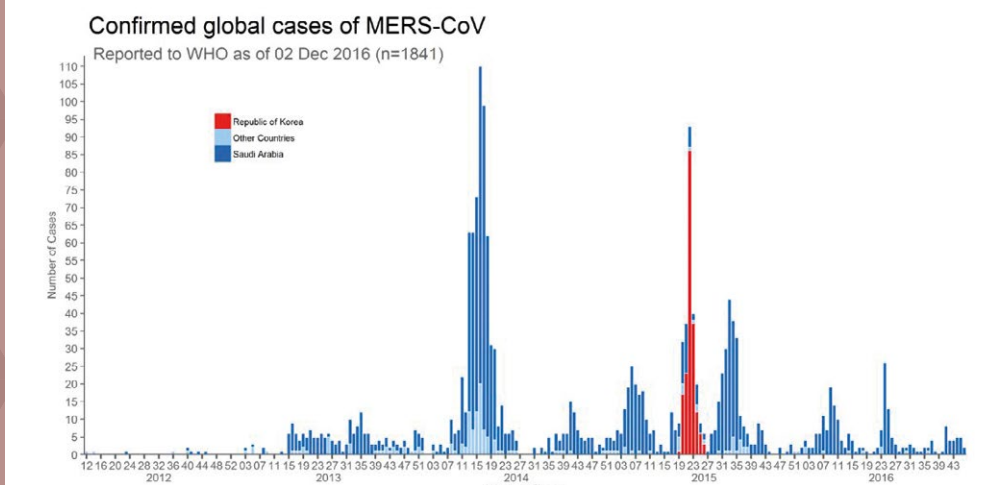
Prof. Hussein: In den letzten Jahren hatte ich verschiedene interessante Kontakte zum Fraunhofer-Verbund Life Sciences. Es begann in 2014, als mich Frau Dr. Mona El Tobgui freundlicherweise zum Workshop »Infection Biology & Aquaculture Techniques« beim DAAD in Kairo einlud. Dort habe ich eine Abordnung des Verbunds unter der Leitung von Herrn Dr. Claus-Dieter Kroggel getroffen und konnte bei dieser Gelegenheit über die Probleme hier in Ägypten durch Zoonosen berichten und die MBRU der Universität Assiut vorstellen. In 2015 wurde dank der freundlichen Unterstützung von Frau Dr. Mona El Tobgui eine wissenschaftliche Zusammenarbeit zwischen der Abteilung Molekularbiologie der Assiut Universität (Prof. Dr. Asmaa Hussein) und dem Fraunhofer-Verbund Life Sciences (Prof. Dr. Mark Bücking) initiiert. In diesem Rahmen konnten wir bereits ein gemeinsames Forschungsprojekt einreichen.

VLS: Sehr geehrte Frau Prof. Hussein, wir danken für dieses Gespräch.



#### ANSPRECHPARTNERIN

Prof. Dr. Asmaa A. A. Hussein  
asmaah@yahoo.com



1

## DAS MERS-CORONAVIRUS

**Das durch das MERS-Coronavirus (MERS-CoV) ausgelöste »Middle Eastern Respiratory Syndrome« wurde erstmals 2012 im Königreich Saudi-Arabien entdeckt.**

MERS ist eine hoch ansteckende Krankheit, für die keine zugelassene Behandlungsmethode verfügbar ist und die somit nicht nur für Saudi-Arabien von besonderer Bedeutung ist. Vermutlich dienen Kamele als Wirtsorganismen für das Virus und stellen somit die Hauptquelle für eine Primärinfektion dar, wobei auch von wenigen Fällen berichtet wird, bei denen eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung zugrunde liegt. Grundsätzlich wird jedoch davon ausgegangen, dass aufgrund von Faktoren wie Überbelegung und Herausforderungen bei der Infektionskontrolle in einer Krankenhausumgebung die Wahrscheinlichkeit für eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung zunimmt. Insgesamt hat die WHO seit September 2012 von 1.733 Labor-überprüften MERS-CoV Infektionen berichtet.

In Zusammenarbeit mit dem King Abdullah International Medical Research Center in Riyadh identifizieren derzeit Forscher des Verbunds Angriffspunkte für die Wirkstoffentwicklung gegen das MERS-CoV. Sobald geeignete Zielmoleküle definiert sind, werden die nötigen biologischen Reagenzien hergestellt und entsprechende Testsysteme entwickelt. Aufbauend auf umfassenden Erfahrungen im Bereich der Assay-Entwicklung, steht eine Vielzahl von modernsten biochemischen und zellbasierten Testsystemen für alle wichtigen Molekülklassen zur Verfügung, die zur Validierung des Zielmoleküls sowie im Screening eingesetzt werden können.

Mit Hilfe dieser Testsysteme ist es möglich, die biologische Aktivität von Ionenkanälen, Kinasen, Proteasen, Synthasen, GPCR's und epigenetisch aktiven Enzymen zu verfolgen, sowie die Interaktion zweier Bindungspartner nachzuweisen und somit den Wirkmechanismus von Zielmolekülen aufzuklären.

Diese hochspezifischen, auf die jeweilige biologische Fragestellung angepassten Assay-Systeme bilden die Grundlage der pharmazeutischen Wirkstoffsuche. Mit Hilfe einer voll automatisierten Hochdurchsatz-Screening Anlage (siehe S. 51) können die Wissenschaftler das inhibitorische Potenzial von mehreren 100.000 Wirkstoff-Kandidaten systematisch testen. Unterschiedliche Substanzsammlungen stehen hierbei zur Verfügung.

Dieses Know-how und diese Infrastruktur bietet eine breite Basis, um gegen das MERS-CoV Inhibitoren zu identifizieren, die sich als Ausgangspunkte für die Medikamententwicklung eignen.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Sheraz Gul  
Telefon +49 40 303 764-276  
sheraz.gul@ime.fraunhofer.de

**1** Mit freundlicher Genehmigung der WHO: Häufigkeit und Verbreitung des MERS-Virus. <http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/> *American Journal of Public Health, 2006, 96(9):1554–1559.*

**2** Kamele gelten als Hauptquelle für eine Primärinfektion mit MERS.



2

## VERNACHLÄSSIGTE PARASITÄRE KRANKHEITEN

**Mehr als 1,4 Milliarden Menschen leiden unter einer sogenannten vernachlässigten parasitären Krankheit – vernachlässigt, weil sie seitens Forschung und Entwicklung wenig Aufmerksamkeit erfahren.**

Das hat zur Folge, dass es für die meisten dieser Krankheiten derzeit keine sichere und wirksame Behandlung gibt. Nicht etwa fehlendes Know-how ist die Ursache für diese Lage, sondern die Armut in den hauptsächlich betroffenen Regionen: Die meisten Erkrankten könnten die Kosten für Behandlung und Medikamente nicht aufbringen. Unbehandelt führen diese Krankheiten zu Blindheit, Verstümmelung, langfristiger Behinderung oder gar zum Tod.

Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences unternimmt gegenwärtig Anstrengungen gegen vier dieser vernachlässigten Krankheiten, die Afrikanische Trypanosomiasis, die Leishmaniose, die Chagas-Krankheit und die Schistosomiasis. Verschiedene Lösungsansätze zur Identifikation neuartiger Wirkstoffe werden dabei verfolgt:

- die Inhibierung der Phosphodiesterase (PDE) – diese Enzymklasse hydrolysiert die Nukleotid-Zwischenstufen zyklisches AMP und zyklisches GMP und hat große Bedeutung bei zentralen intrazellulären Signalwegen und somit in der Biologie aller Organismen, von Bakterien über Parasiten bis hin zu Säugern.
- die Bekämpfung des parasitären Folat-Stoffwechsels mit Hilfe von Pteridin-, Benzothiazol- und Thiadiazol-Derivaten.
- die Identifizierung von verbesserten Miltefosin-Analogen (Milttefosin ist ein zugelassener Arzneistoff gegen die Protozoen der Leishmanien).
- die Prüfung von Naturstoffen als Ausgangsmaterialien für die Entwicklung anti-parasitärer Arzneimittel.

Diese Ansätze werden in den EU-geförderten Konsortialprojekten »Phosphodiesterase Inhibitors for Neglected Parasitic Diseases (PDE4NPD)« und »New Medicines for Trypanosomatid Infections (NMTrypl)« verfolgt.

Im Rahmen dieser Projekte wurde bereits eine ADME-ToxAssay-Plattform entwickelt, um die vielversprechendsten Wirkstoffkandidaten zu identifizieren und entlang der Wertschöpfungskette der Wirkstoffforschung weiter zu entwickeln.

### Diese Assays umfassen:

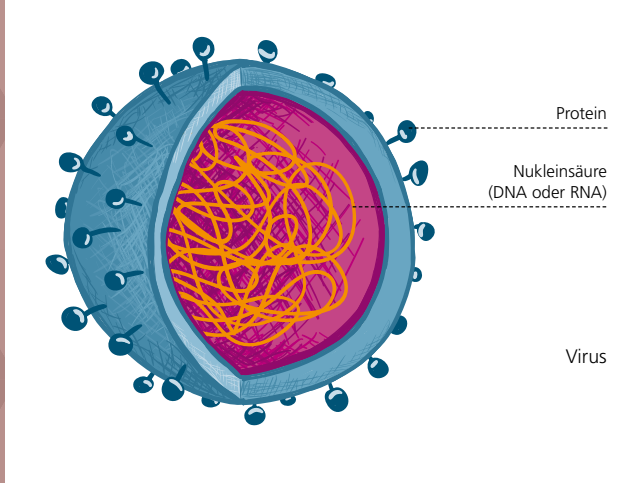
- »off-target liability Assays«, zum Beispiel für Kinasen, Histone Deacetylasen, Phosphodiesterasen und Proteasen, um grundsätzlich enzymatische Nebenwirkungen auszuschließen.
- In-vitro-Toxizitätstests (Zytotoxizität gegen Krebszelllinien der NCI-60 Sammlung, wie auch gegen primäre Hepatozyten, Apoptose, mitochondriale Toxizität, nukleare Verdichtung, mitochondriale Membranpermeabilität).
- ein In-vitro-ADME und Sicherheits-Assay Panel (Cytochrom P450 Inhibition für die wichtigsten Isoformen 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, und 3A4, hERGLiability, Teratogenitätsassay) unter Verwendung von embryonalen Stammzellen, Zebrafisch- und Micronucleus-Assays und Substanz-Löslichkeitsstudien für die unterschiedlichsten Flüssigkeiten, wie PBS, simulierte Magenflüssigkeiten und simulierte Flüssigkeiten des Verdauungstrakts.

Unter Verwendung dieser gesamten Assay Plattform konnten bei dem Projekt NMTrypl bereits Flavonol Derivate für die Entwicklung von anti-trypanosoiden Wirkstoffen identifiziert werden. Die ADME-Tox Assay Plattform kann flexibel in den unterschiedlichsten Projekten zum Einsatz kommen.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Sheraz Gul  
Telefon +49 40 303 764-276  
sheraz.gul@ime.fraunhofer.de



**Neue Impfstoffe werden von der WHO dringend gefordert (Bild). Für die Anwendung unter einfachsten Bedingungen sollten sie leicht applizierbar sein und über eine robuste Haltbarkeit verfügen. Mit dem Angebot diverser Technologien lassen sich Impfstoffe flexibel den Anforderungen entsprechend herstellen.**

### **TECHNOLOGIEN DER IMPFSTOFFENTWICKLUNG**

**Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences werden Technologie-Plattformen für Impfstoffe gegen eine Reihe von Infektionen entwickelt. Je nach Erregertyp und Anforderungsprofil an die jeweiligen Impfstoffe kann der Verbund passende Strategien zur Immunisierung anbieten und in zahlreichen Infektionsmodellen präklinisch validieren.**

#### **DNA-IMPFSTOFFE**

Mit dieser Technologie werden Impfstoff-Antigene nicht direkt sondern über ihre Erbinformation in Zellen des Impflings gebracht. Daher wirkt der Impfstoff ähnlich wie eine natürliche Infektion, jedoch ohne die Risiken einer Erkrankung. DNA-Impfstoffe gegen virale Infektionen wie das West-Nil Virus oder das Respiratorische Synzitial Virus wurden entwickelt und bereits erfolgreich im Primatenmodell getestet. Die erarbeiteten Methoden können leicht auf andere Indikationen angepasst werden und eignen sich sehr gut zur schnellen Reaktion auf Epidemien wie Influenza, Ebola oder Zika-Virus.

Der Fokus der Arbeiten liegt auch auf der effizienten und sicheren Applikation von DNA-Impfstoffen. Hierbei kommen Nanopartikel und nicht-infektiöse Viruspartikel, aber auch die In-vivo-Elektroporation zum Einsatz.

Das Know-how zu DNA-Impfstoffen wurde von 2011 bis 2014 in das EU-Projekt WINGS (West Nile Integrated Shield Project) eingebracht. Auch die Koordination lag bei einem Institut des Verbunds.

#### **INAKTIVIERTE IMPFSTOFFE**

Inaktivierte Impfstoffe, sogenannte Totimpfstoffe, bestehen aus Erregern, welche meist über toxische Chemikalien inaktiviert wurden. Die Inaktivierung ist langwierig, und die Chemikalien müssen nach ihrer Verwendung wieder aus dem Präparat entfernt werden. Außerdem werden durch die chemische Inaktivierung oft wichtige Antigene zerstört, sodass der Impfstoff weniger wirksam ist.



Fachübergreifend gelang es mehreren Fraunhofer-Instituten in ELVIRA, einem Fraunhofer-internen Projekt zur marktorientierten strategischen Vorlaufforschung (MAVO), Technologien zu entwickeln, die diese Nachteile überwinden. Nun können Viren, Bakterien oder Parasiten über physikalische Methoden (niederenergetische Elektronenstrahlen) innerhalb von Sekunden inaktiviert werden, zugleich bleiben wichtige Antigene im Impfstoff erhalten.

#### MUKOSALE IMPfstOFFE

Bei dieser Impfstoffplattform steht die atraumatische, nadelfreie Applikationsform im Mittelpunkt. Impfstoffkandidaten auf Basis von stabilen Virus-ähnlichen Partikeln (VLPs) werden auf ihre Eignung zur Übertragung mittels Nasen- oder Rachenspray überprüft. Fällt das Ergebnis positiv aus, werden sie gleich in präklinischen Modellen getestet. Dabei werden auch Kombinationen von genetischen und VLP-Impfstoffen mit analysiert. Durch das Mimikry einer viralen Infektion sollen ähnliche Schutzmechanismen des Immunsystems erreicht und aktiviert werden, um vor entsprechend mukosal infizierenden Pathogenen zu schützen. Durch die Kombination mit genetischen Impfstoffen können hier ebenfalls schnell neue Impfstoffe gegen sogenannte »Emerging Pathogens« entwickelt werden.

Die Kompetenzen zu mukosalen Impfstoffen wurden in das Projekt MUCOVAC (Discover-Programm, 2014-2015) eingebracht.



#### ANSPRECHPARTNER

PD Dr. Sebastian Ulbert  
 Telefon +49 341 35536-2106  
 sebastian.ulbert@izi.fraunhofer.de

#### IMMUNMONITORING NEUTRALISIERENDER ANTIKÖRPER ANTWORTEN NACH VIRUSINFEKTIONEN

**Die zentrale Service-Einrichtung HSC (HIV Specimen Cryorepository) in Sulzbach ist spezialisiert auf die Herstellung von HIV-1 Pseudoviren und deren Titrationen.**

Auch die Herstellung replikationskompetenter Klone von HIV-1 und die Durchführung von Neutralisationsassays unter dem Qualitätssicherungssystem GCLP (Good Clinical and Laboratory Practice) gehören zum Angebot der Einrichtung. Im Rahmen der von der Bill und Melinda Gates Foundation geförderten CAVD (Collaboration for AIDS Vaccine Discovery) wurden mehr als 170 verschiedene Virus-Stocks hergestellt, nach bestandener Qualitätskontrolle weltweit verschickt und in diversen Impfstoffstudien eingesetzt. Dabei testen die beteiligten Labore die Seren der Teilnehmer von Impfstoffstudien in sogenannten Neutralisationsassays, um herauszufinden, ob ein Impfstoff auch tatsächlich Virus neutralisierende Antikörper induzieren kann.

Die standardisierte Beurteilung neutralisierender Antikörperantworten ist ein entscheidender Schritt im Entwicklungsprozess einer HIV-1-Vakzine. Um den wachsenden Bedarf an HIV-1 Viren abzudecken, wurde basierend auf einem modifizierten Cellerity-System der Firma Tecan ein automatisiertes System zur Zellkultur und HIV-Virus-Produktion am IBMT etabliert.



#### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Anke Schultz  
 Telefon +49 6897 9071-560  
 anke.schultz@ibmt.fraunhofer.de



# DIAGNOSE



## DIE NEUEN TECHNOLOGIEN IN DER ANALYTIK

Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation (Next-Generation Sequencing, NGS) bezeichnen eine neuartige Technologie der Nukleinsäureanalytik. Im Gegensatz zu bisher bekannten Sequenzierungsverfahren können simultan mehrere hundert Millionen Fragmente in einer Probe sequenziert werden. Diese Hochdurchsatz- oder Parallelsequenzierungstechnologien haben gänzlich neue Dimensionen in der Nukleinsäureanalytik eröffnet und unzählige Forschungsfelder im Bereich der Life Sciences revolutioniert.

### NGS – IN DREI SCHRITTEN ZUM RESULTAT

**Schon heute deckt die NGS-Technologie im Fraunhofer-Verbund Life Sciences ein breites Spektrum an Fragestellungen ab – im wissenschaftlichen wie auch im anwendungsorientierten Bereich.**

Projekte umfassen beispielsweise die De-novo-Sequenzierung industriell oder medizinisch interessanter Bakterien- und Pilzstämmen, Analysen der Transkriptionsprofile, Identifizierung relevanter Gene beispielsweise für die Früherkennung von Tumorerkrankungen oder bei Infektionskrankheiten bis hin zur Sepsis und das Screening nach Biomarkern für die Diagnostik.

Interessierte Kunden können den kompletten Arbeitsablauf von der Probenvorbereitung über die Sequenzierung bis hin zur bioinformatischen Auswertung aus einer Hand abrufen.

Für das NGS hat sich ein dreistufiger Arbeitsprozess bewährt, der die Schritte der Probenaufbereitung und der Sequenzierung im Labor wie auch die abschließende, bioinformatische Analyse abdeckt.

Bereits die Probenaufbereitung wird genau angepasst an das Ausgangsmaterial und an die Fragestellung. So wird beispielsweise für De-novo-Genomsequenzierungen unbekannter Organismen genomische DNA präpariert, während bei Transkriptomanalysen unterschiedliche RNA-Populationen (mRNA,

smallRNA, ncRNA) untersucht werden. Einige der Probenaufbereitungsprotokolle werden mit dem Pipettierroboter Biomek FX (BeckmanCoulter) vollautomatisch umgesetzt.

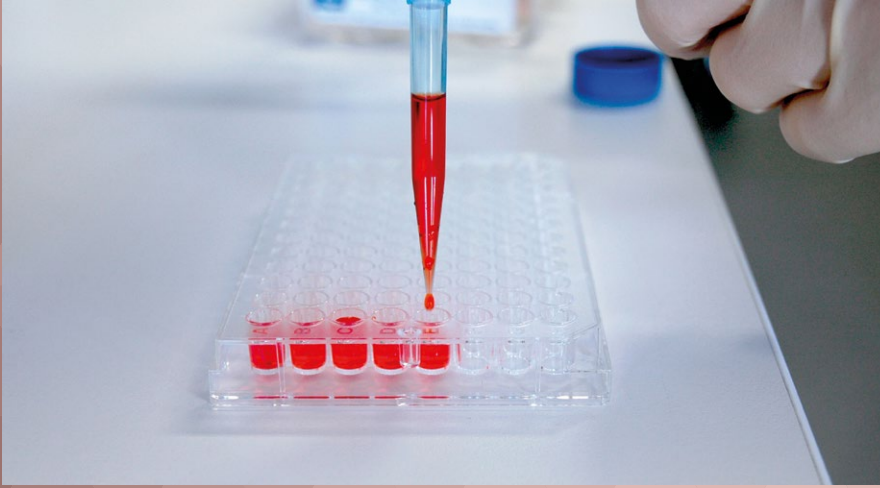
Je nach Anwendungsbereich bestimmt die Wahl der Sequenzieremethode die Lesetiefe und Fragmentlänge jeder einzelnen Sequenzierung. Dabei können mittels Illumina HiSeq2500 aus einer (c)DNA-Bibliothek Sequenzierungsdaten mit hoher Lesetiefe bei kürzeren Fragmenten (bis zu  $2 \times 250$  Basen) oder alternativ bis zu 700 Basen lange Fragmente bei geringerer Lesetiefe durch die Roche-GSjunior-Technologie erhalten werden.

Mithilfe einer leistungsstarken für NGS optimierten IT-Infrastruktur können die sequenzierten Rohdaten schließlich für verschiedenste Anwendungen, wie Genexpressionsanalysen, Genomassemblies inklusive Annotation oder Metagenomanalysen bioinformatisch ausgewertet werden. In eigener Entwicklungsarbeit entstand der Genom-Browser GeneScapes Viewer, der die Visualisierung von Sequenzdaten ermöglicht.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Kai Sohn  
Telefon +49 711 970-4055  
kai.sohn@igb.fraunhofer.de



1

## **SICHERE DIAGNOSE DURCH SPEZIFISCHE SEROLOGISCHE ASSAYS**

**Die serologische Diagnostik von Infektionskrankheiten ist einer der Schwerpunkte im Fraunhofer-Verbund Life Sciences. Dazu werden Antigene entwickelt, die für die Detektion und Quantifizierung von infektionsspezifischen Antikörpern zum Einsatz kommen.**

Ihr Anwendungsgebiet liegt nicht nur in der Humanmedizin, sondern sie sind auch in der Veterinärmedizin sehr gefragt. Im Bereich der Veterinärmedizin gelang ein wesentlicher Schritt bei der Bekämpfung des PRRS-Virus (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome). Dieses Virus ist ein gefürchteter Erreger in der Schweinezucht; er dringt über die Lunge ein und verursacht hier bereits erste Symptome. In der Folge kommt es zu Fruchtbarkeitsstörungen, verbunden mit wochenlanger erhöhter Anfälligkeit der Tiere. Jährlich entstehen der Landwirtschaft Schäden in Milliardenhöhe, weltweit.

Zur sicheren Diagnose dieser Tierseuche entwickelte der Fraunhofer-Verbund Life Sciences ein patentiertes Verfahren, das 2014 von der Analytik Jena AG auf den Markt gebracht wurde und einen ELISA-Test für den Nachweis von PRRS-Viren bei Schweinen beinhaltet. Das Projekt wird unter dem Titel »PRRSV-CHECK« (Entwicklung eines serologischen PRRS-Tests zur Marktreife, mit Analytik Jena AG) geführt.

Ein besonderer Fokus liegt auf dem Bereich der »emerging infections«, also der neu- und wiederauftretenden Infektionen und Zoonosen, insbesondere ausgelöst durch Vektor-übertragene Erreger. So wurden spezifische Assays zum Nachweis von Dengue-, Zika-, FSME-, Chikungunya- und West-Nil-Viren entwickelt, patentiert und mit Unternehmen der Diagnostikindustrie zu marktreifen Produkten weiterentwickelt.



### **ANSPRECHPARTNER**

PD Dr. Sebastian Ulbert  
Telefon +49 341 35536-2106  
sebastian.ulbert@izi.fraunhofer.de

## MIKROARRAYS ZUR IDENTIFIKATION UND VALIDIERUNG VON BIOMARKERN

**Im Zuge des humanen Genomprojektes wurden in den 1990er Jahren viele Techniken und Methoden zum Immobilisieren von Biomolekülen auf Oberflächen entwickelt. Diese Techniken trugen entscheidend zur Entschlüsselung des humanen Genoms bei und waren lange der Standard zur Identifizierung von Punktmutationen im genomweiten Maßstab (GWAS).**

Viele dieser Techniken wurden inzwischen von schnelleren Methoden z. B. Second Generation Sequencing abgelöst. Nach wie vor werden Protein- und Peptid-Microarrays als Screening-Instrument für die Identifizierung und Validierung von potenziellen Biomarkern eingesetzt. Dabei werden kleinste Mengen an Proteinen bzw. Peptiden auf modifizierten Objektträgern immobilisiert und mit geringen Volumina an Patientenserum inkubiert. Mit dieser Technik können krankheitsrelevante Biomarker von unspezifischen Signalen unterschieden werden.

Besondere Expertise besteht im Dispensieren und Immobilisieren von Biomolekülen (DNA/RNA, Peptide und Proteine aber auch Zellen) auf unterschiedlichsten Oberflächen. Zusammen mit der Erfahrung bei der Durchführung der Versuche und der Auswertung und Interpretation der Daten steht unseren Kunden damit eine Plattform zur Verfügung, um potenzielle Biomarker zu identifizieren und zu validieren. Ferner bietet die Plattform eine große Bandbreite an weiteren Anwendungsmöglichkeiten wie z. B. Epitop Mapping von Antikörpern, die ebenfalls im Kundenauftrag durchgeführt werden können.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Harald Seitz  
 Telefon +49 331 58187-208  
[harald.seitz@izi-bb.fraunhofer.de](mailto:harald.seitz@izi-bb.fraunhofer.de)

**1** *Serologische Assays zur Diagnose von emerging infections.*

**2** *Peptid Microarray nach Inkubation mit humanem Serum und der Detektion von spezifischen Bindern.*



# ENTWICKLUNG



# NEUE TARGETS – NEUE WIRKSTOFFE

## **BIG DATA ANSÄTZE IN DER ANTIBAKTERIELLEN FORSCHUNG**

**Die Therapie von Infektionskrankheiten wird zunehmend schwieriger, immer schnelleres Auftreten von Resistenzen in den Erregern steht einer verlangsamt Entwicklung von neuen antimikrobiellen Wirkstoffen gegenüber.**

Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences arbeitet entlang der gesamten Wertschöpfungskette der Medikamentenentwicklung, ein besonderer Schwerpunkt liegt auf dem Gebiet der Erforschung und Entwicklung neuer antimikrobiell wirkender Substanzen.

Gefördert unter anderem durch das IMI-Projekt TRANSLOCATION, können komplexe Datenbank-Infrastrukturen für verschiedene Datentypen aus den präklinischen Forschungsphasen der Wirkstoffforschung und Entwicklung angeboten werden. Diese sind exakt abgestimmt auf die Anforderungen im Feld der antimikrobiellen Wirkstoffe.

Komplementiert werden diese Leistungen in Datenmanagement, Qualitätskontrolle und -integration durch ein Portfolio an bioinformatischen Serviceleistungen wie Beratung und Service in experimenteller Planung und Auswertung, Training in der Nutzung von Datenbanken und Tools sowie der Unterstützung bei der Neuentwicklung von Software-Tools.

Mit dieser Expertise kann der gesamte Prozess von der Datenerzeugung, über die Auswertung bis hin zur strukturierten Datenspeicherung und Wiedernutzbarmachung historischer Daten unserer Partner unterstützt werden.

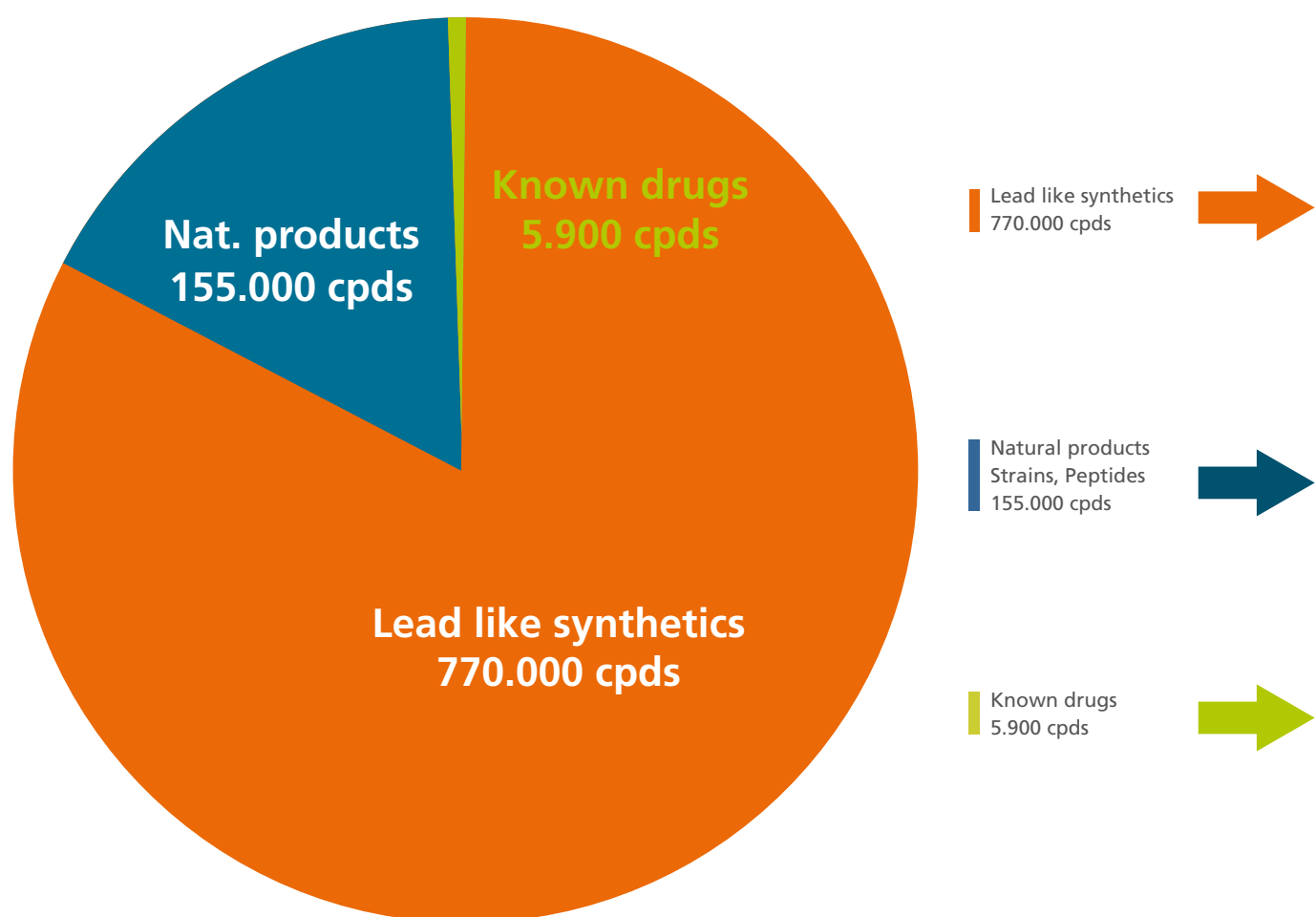
Aus einer Hand werden Training und Beratung in den Feldern Datenmanagement, Qualitätskontrolle, Data-Cleaning und Datenintegration mit besonderem Schwerpunkt im Bereich der Wirkstoffforschung und Entwicklung angeboten. Darüber hinaus leistet ein Team erfahrener Inhouse-Spezialisten kompetente und zielorientierte Beratung für experimentelle Planungen und Unterstützung bei der Erstellung von komplexen, außergewöhnlichen Auswertestrategien. Die Wissenschaftler unterstützen die Durchführung von Analysen auch im hochdimensionalen Maßstab mit eigens entwickelten Software-Lösungen sowie der Verwendung von Open-Source-Produkten.



### **ANSPRECHPARTNER**

Dr. Manfred Kohler  
Telefon +49 40 303 764-277  
manfred.kohler@ime.fraunhofer.de

## IME-SP Substanz-Bibliotheken



### Virtuelle Bibliothek:

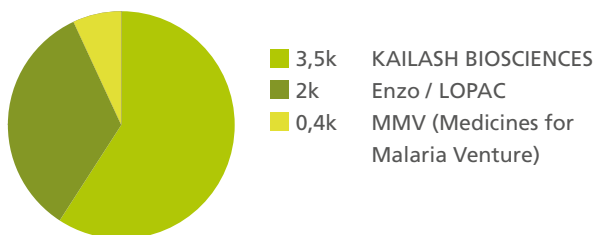
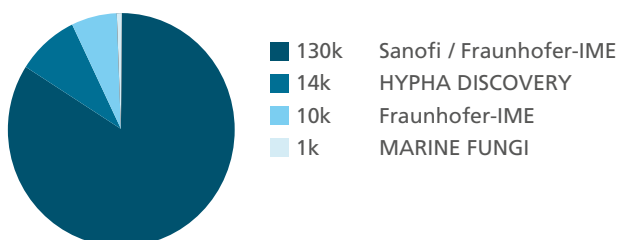
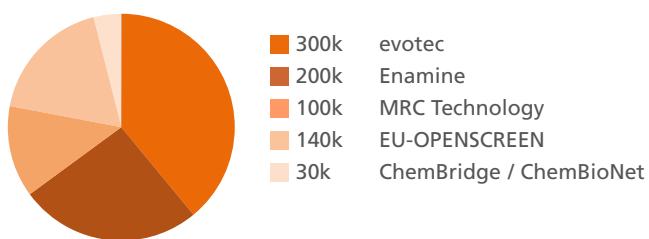
Strukturinformationen von mehr als 10. Mio. kommerziell erhältlichen Verbindungen



**SUBSTANZ-BIBLIOTHEKEN**

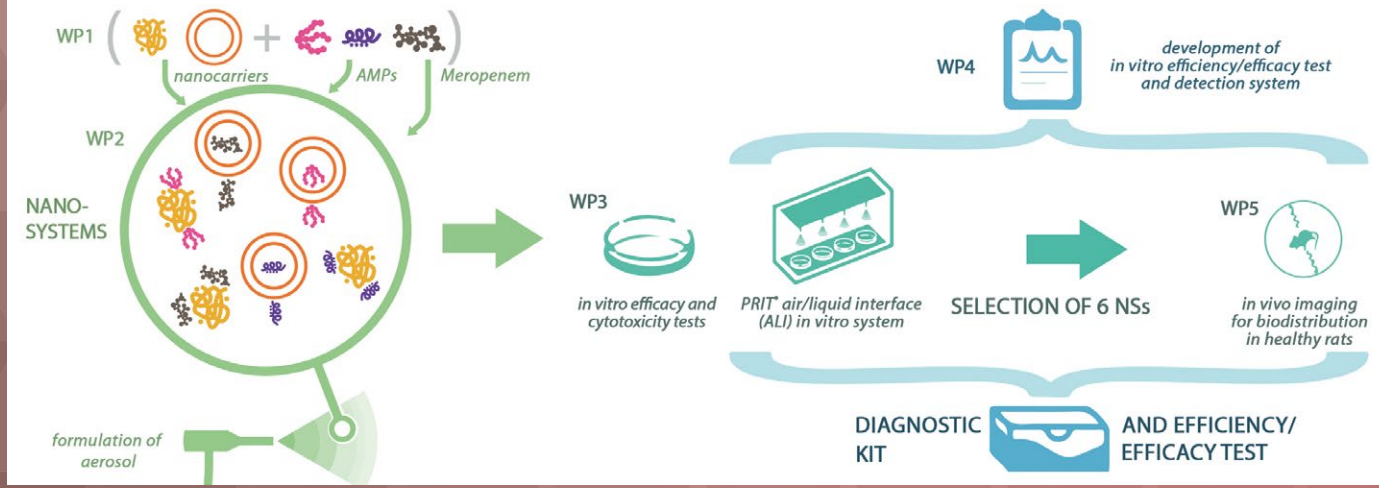
Diverse Substanzbibliotheken, die für Hochdurchsatzscreeningverfahren herangezogen werden können, befinden sich am Standort ScreeningPort in Hamburg des Fraunhofer-Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME.

Die vorliegenden Bibliotheken mit jeweils 1.000 bis 250.000 Substanzen enthalten zugelassene Arzneistoffe, klinische Kandidaten, Naturstoffe aus unterschiedlichen Organismen sowie mehrere Sammlungen synthetischer, organischer Moleküle, die nach verschiedenen Kriterien selektiert wurden. Die Hauptkriterien sind chemische Diversität, biophysikalische Eigenschaften, potenzielle Wirkung gegen verschiedene Proteinklassen (z. B. GPCRs, Kinasen, Ionenkanäle) oder gramnegative Bakterien. Die synthetischen Substanzsammlungen eignen sich aufgrund ihrer »drug-likeness« als attraktive Ausgangspunkte für die medizinalchemische Optimierung. Sie unterliegen einer strengen Qualitätskontrolle, verfügen über 90 % Reinheit und sind bei Bedarf kommerziell verfügbar.



**ANSPRECHPARTNER**

Dr. Björn Windshügel  
 Telefon +49 40 303764-286  
 bjoern.windshuegel@ime.fraunhofer.de



1

## PARODONTITIS, EINE UNTERSCHÄTZTE KRANKHEIT, IM FOCUS EINES EU-GEFÖRDERTEN PROGRAMMES

**Klinische und epidemiologische Daten zeigen, dass ein enger Zusammenhang besteht zwischen der chronischen Parodontitis, einer der am häufigsten auftretenden Infektionskrankheiten beim Menschen, und systemischen Entzündungskrankheiten, wie kardiovaskulären Erkrankungen (CVD), der rheumatoiden Arthritis (RA) und der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD).**

Dies wird vor allem den permanenten lokalen Entzündungsreaktionen zugeschrieben, die die entsprechenden Parodontitis auslösenden Keime in der Zahntasche hervorrufen. Vor dem Hintergrund, dass bis zu 30 % der erwachsenen Bevölkerung weltweit an einer mehr oder minder ausgeprägten Parodontitis leiden, ist der Einfluss dieser Erkrankung auf die menschliche Gesundheit immens. Dennoch ist die Parodontitis sowohl weltweit als auch in vielen europäischen Ländern eine vernachlässigte Krankheit.

Im EU-Projekt »TRIGGER« haben sich elf internationale Partner, darunter sieben Universitäten und vier Forschungseinrichtungen, zu einer Kooperation zusammengeschlossen, um die oben geschilderte Fehleinschätzung zu korrigieren. Hierbei werden auch neue medikamentöse Strategien zur Behandlung von Parodontitis und deren oben geschilderten Folgeerkrankungen entwickelt. Ihr gemeinsames Ziel ist dabei die Entwicklung von neuen lokal wirksamen und spezifischen Antibiotika basierend auf der Hemmung von bisher unbekanntem bakteriellen Zielenzymen. Auch die Suche nach neuen Entzündungsmarkern zur Therapiekontrolle der Antibiose steht im Fokus.

In einem sogenannten Proof-of-Principle-Versuch konnte mit einer ersten experimentellen Substanz im Reagenzglas gezeigt werden, dass für *Porphyromonas gingivalis*, einem der wichtigsten Parodontitis auslösenden Keime, wichtige Enzyme gehemmt und der Mikroorganismus damit am Wachstum gehindert wird.

Die Anwendung der neuen Wirkstoffe soll zum Beispiel mithilfe einer lang wirksamen Arzneiform, die in der Zahntasche platziert wird, erfolgen. Damit werden im Vergleich zu herkömmlichen Anitbiotika, mit den dabei notwendigen hohen Dosen und langen Einnahmezeiträumen verbundene systemische Nebenwirkungen und Resistenzbildungen vermieden.

Start der Vermarktung ist 2017.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Mirko Buchholz  
 Telefon +49 345 131428-00  
 mirko.buchholz@izi.fraunhofer.de



in vivo studies in  
pneumonic animal model;  
validation of detection system



SELECTION OF THE BEST NS



POTENTIAL INHALABLE  
NANOTHERAPEUTIC AND  
AEROSOL INHALATION SYSTEM

## PROJEKTE

### PNEUMO-NP – MIT INNOVATIVER NANOMEDIZIN GEGEN RESISTENTE ERREGER

**Bakterielle Lungeninfektionen sind heute laut WHO eine der häufigsten Todesursachen [WHO Fact sheet N°310]. Dazu zählen auch Infektionen durch das Bakterium *Klebsiella pneumoniae*, dessen ursprüngliche Stämme gut mit Antibiotika behandelt werden konnten. Inzwischen hat das Bakterium jedoch multiple Resistenzen entwickelt, sodass selbst »Reserveantibiotika« nicht mehr wirksam sind. Deshalb ist die Entwicklung neuer Therapiestrategien dringend notwendig.**

Genau hier setzen die Wissenschaftler des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences mit ihrer Forschung und Entwicklung an. Als Partner im EU-geförderten Projekt PneumoNP, einem Konsortium mit elf Partnern aus sechs europäischen Ländern, verfolgen die Wissenschaftler ihr Ziel – die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen resistente Stämme von *Klebsiella pneumoniae*. Zugrunde liegt die Idee neuartige Wirkstoffe zu nutzen, gegen die es keine Resistenzen gibt, und diese durch Inhalation direkt an den Infektionsherd zu bringen. Gleichzeitig soll das Antibiotikum auch über längere Zeit am gewünschten Ort wirksam bleiben. Das kann durch Kopplung der Wirkstoffe an Nanocarrier gelingen. Dabei werden von den Konsortialpartnern dextranbasierte Partikel und lipidartige Nanocarrier sowie neue antimikrobiell wirksame Peptide (AMP) bereitgestellt. Beide Komponenten werden zu neuartigen Nanosystemen – den sogenannten AMP-Nanocarriern – gekoppelt.

Wissenschaftler des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences prüfen diese Nanosysteme auf ihre Wirksamkeit und Sicherheit in verschiedenen In-vitro-Systemen. Schließlich sollen die AMP-Nanocarrier resistente Keime vernichten, ohne den Menschen zu schädigen. Dafür kommen eine Reihe von Techniken wie Mikrodilutionstests, Zytotoxizitätstests und Gentoxizitätstests zum Einsatz. In einer patentgeschützten Technik (In-vitro-Expositionstechnik) des Verbunds werden menschliche Lungenzellen direkt mit AMP-Nanocarriern benetzt. Damit wird die Situation im Menschen sehr lebensnah nachgestellt. Anschließend werden die besten Kandidaten für die weitere Entwicklung ausgewählt, um am Ende des Projekts ein neues, inhalativ zu verabreichendes Antibiotikum bereitzustellen, welches auch multiresistente Stämme von *Klebsiella pneumoniae* erfolgreich bekämpfen kann.

#### 1 Konzept des Projekts

Pneumo-NP:

Dieses Projekt wird gemäß der Finanzhilfvereinbarung Nr. 604434 im Zuge des 7. Rahmenprogramms der Europäischen Union für Forschung, technologische Entwicklung und Demonstration gefördert.



#### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Monika Niehof  
Telefon +49 511 5350-570  
monika.niehof@item.fraunhofer.de



1

1 Totengräberkäfer.

2 Prof. Dr. Andreas Vilcinskas.

#### INTERVIEW:

*Professor Dr. Andreas Vilcinskas ist Leiter der Projektgruppe Bioressourcen des Fraunhofer-Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME. Er ist maßgeblich an der Gründung des weltweit ersten Instituts für Insektenbiotechnologie der Universität Gießen beteiligt und richtet hier derzeit den ersten Studiengang für Insektenbiotechnologie ein. Als Koordinator des LOEWE-Zentrums für Insektenbiotechnologie und Bioressourcen erarbeitet er Strategien, um die Potenziale der verschiedenen universitären und außer-universitären Aktivitäten in der Insektenbiotechnologie/Bioressourcen effektiv zu bündeln.*

## AUF DIE SUBSTANZ KOMMT ES AN – DESIGNER-MOLEKÜLE AUS DER WELT DER INSEKTEN

Von einer Million bisher beschriebener Insektenarten hat als einzige die Honigbiene Maja Zugang zur Welt der Kuscheltiere gefunden. Dabei berichtet der Insektenforscher Prof. Andreas Vilcinskas begeistert über die faszinierenden Überlebensstrategien dieser Winzlinge. Im Laufe ihrer Evolution haben sie Fähigkeiten entwickelt, zielgenau Stoffe herzustellen, die nicht nur ihre Beute töten, sondern ihre Existenz in lebensfeindlichen Umgebungen wie z. B. Jauchegruben ermöglichen. Mit unvoreingenommenem Blick auf die Tiere in ihren Lebensräumen konnte Andreas Vilcinskas bereits vielversprechende Substanzen identifizieren, die für verschiedenste Anwendungen in Frage kommen.

VLS: Herr Prof. Vilcinskas, Sie haben sich als junger Mensch für das Studium der Biologie, bzw. Zoologie entschieden. Hatten Sie damals denn auch ein Lieblingstier?

A. Vilcinskas: Nicht direkt ein Lieblingstier, aber Fische und Insekten haben mich schon früh fasziniert. Sobald ich alleine los durfte, bin ich oft mit Käschern und Behältern ausgerüstet durch die Wiesen gestreift.

VLS: Kommt Ihnen diese Beobachtungsgabe denn auch bei Ihrer heutigen Tätigkeit zugute?

A. Vilcinskas: Indirekt vielleicht schon. Wir gehen nämlich bei unserem Screening nach einem wissensbasierten Ansatz vor. Ganz am Anfang, wenn wir Insekten als Ressource für neue Moleküle erschließen, ist die Kernfrage zunächst: Wonach suchen wir, und welches Insekt kommt dafür in Frage. Da Insekten ein großes Immunsystem haben, macht es Sinn z. B. nach Antiinfektiva zu suchen. Es ist immer ein evolutionsbiologischer, bzw. entomologischer Kontext, auf dem wir aufbauen.

VLS: Könnten Sie uns ein Beispiel dafür geben?

A. Vilcinskas: Der Totengräberkäfer ist ein sehr schönes Beispiel dafür: Wir wurden von einem Industriepartner gefragt, ob wir nach neuen Konservierungsstoffen suchen können. Auf den Totengräberkäfer kamen wir, weil er Fleisch – Aas – in der Erde für seinen Nachwuchs haltbar machen kann. Er kann über Kilometer Kadaver riechen, kommt meistens schon zu zweit hinzu, um dann schnell die tote Maus o. ä. im Boden zu vergraben. Warum macht er das? Damit die Fliegen nicht alles wegfressen, die immer als erste zur Stelle sind. Während aber normalerweise in der Erde alles verfällt, kann der Käfer dieses Verwesen des Kadavers unterbinden. Als wir auf der Suche nach den Ursachen dafür den Speichel und die Exkremente untersuchten, kamen im



Massenspektrometer 34 Substanzen heraus, darunter auch einige, die der Mensch schon zur Konservierung verwendet.

VLS: Wie wurden diese Substanzen denn eingesetzt?

A. Vilcinskas: Leider war der Kunde dann nicht so sehr an der Vermarktung interessiert. Er kam aus der Lebensmittelbranche und hätte ein Imageproblem bei der Vermarktung der Substanz vom Totengräberkäfer gehabt. Genau deshalb versuche ich immer wieder klarzumachen: Wo es herkommt ist egal, es geht um die Substanz. Deshalb nennen wir unser Gebiet nach der Hämolymphe der Insekten inzwischen auch gelbe Biotechnologie, das klingt völlig unvoreingenommen.

Aber die Geschichte des Totengräberkäfers geht noch weiter: Denn nach der Beerdigung folgt die Hochzeit, dann werden Eier abgelegt, und dann wird der ganze Fleischklops in Nahrung für die Brut umgewandelt. Das bedeutet, er verdaut den kompletten Kadaver mit Haut und Haaren, und zwar vor dem Maul. Um im Beispiel zu bleiben: Ich spucke Sie an und Sie lösen sich auf. So entstand allmählich die Idee, dass man diesen Käfer auch als Ressource für neue Enzyme für die Biokonversion oder für die Lederindustrie nutzen könnte. Damit stellt sich die Frage, wie macht er das – hat er vielleicht spezielle Bakterien im Darm, die ihm das ermöglichen. In dem Fall wäre es doch sinnvoll, diese Bakterien direkt in den Fermenter zu packen und dort das Enzym zu produzieren.

Nicht nur vorne, auch am hinteren Ende, unter aeroben Bedingungen produziert dieser Käfer interessante Stoffe: Wir haben dort Hefen gefunden, die Verwandtschaft zu einer anderen Hefe aufwiesen, der *Yarrowia lipolytica*, dem Arbeitspferd der Biotechnologen, und noch mindestens vier weitere Arten. Diese lassen wir jetzt patentieren, um sie dann für die Biotechnologie nutzbar zu machen.

VLS: Gibt es in Ihrer Zielrichtung Prioritäten, etwas, das unbedingt geschafft werden soll, vielleicht ein neues Medikament?

A. Vilcinskas: Als wir das Konzept für die Fraunhofer-Projektgruppe Bioressourcen erstellten, haben wir Wert auf eine

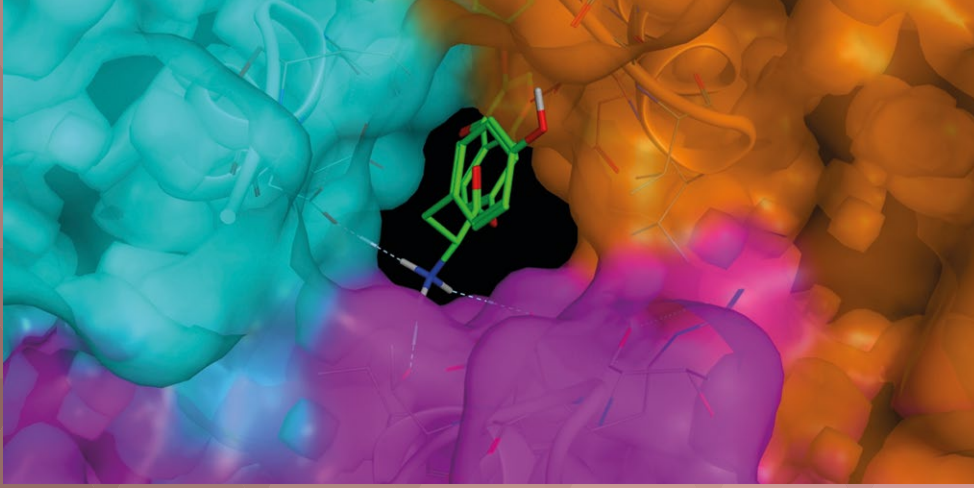
Mischkalkulation gelegt. Die Entwicklung neuer Medikamente ist eine sehr große Herausforderung, sie ist teuer und risikoreich. Wir entwickeln daher gleichzeitig neue Insektizide für den Pflanzenschutz sowie neue Konservierungs- und Aromastoffe. Unser neuestes Forschungsfeld sind Tiergifte. Diese Mischkalkulation aus kurz-, mittel- und langfristig wird sich hoffentlich langfristig bewähren.

VLS: Das wünschen wir Ihnen und bedanken uns für das Gespräch.



#### ANSPRECHPARTNER

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



1

## ANTIMIKROBIELLE WIRKSTOFFE GEGEN GRAMNEGATIVE BAKTERIEN

**Die zunehmende Resistenzbildung gramnegativer Bakterien gegen Antibiotika schränkt die therapeutischen Möglichkeiten bei bakteriellen Infektionskrankheiten immer weiter ein.**

Das vermehrte Auftreten multiresistenter gramnegativer Bakterien in den letzten Jahren hat zu einer Wiederbelebung der lange vernachlässigten Antibiotika-Forschung geführt. Hier bringt der Fraunhofer-Verbund Life Sciences seine Kompetenzen mit mehreren Projekten ein.

Im Rahmen der durch die Europäische Union geförderten Marie-Sklódowska-Curie ITN-Konsortien (Initial Training Networks) »Translocation« und »Integrate« werden neue antimikrobielle Zielproteine gramnegativer Bakterien hinsichtlich deren Modulationsfähigkeit durch kleine organische Moleküle untersucht.

Im ITN-Projekt »Translocation« suchen Forscher gezielt nach Substanzen, die die Wirksamkeit bislang eingesetzter Antibiotika verbessern, indem sie ihrer vorzeitigen Ausschleusung mittels bakterieller Resistenzmechanismen entgegenwirken. Durch die Kombination von computer-basiertem Hochdurchsatzscreening und verschiedenen experimentellen Validierungsmethoden wurden bereits mehrere vielversprechende Substanzen mit inhibierender Wirkung auf den Resistenzmechanismus identifiziert.

Im Rahmen des ITN-Projekts »Integrate« wird ein Enzym, das essenziell für die Aufrechterhaltung der bakteriellen Homöostase ist, gezielt durch kovalent bindende Inhibitoren adressiert. In enger Zusammenarbeit mit der Universität Antwerpen werden durch Kombination verschiedener Methoden – computer-basierte, biologische, sowie medizinisch-chemische – neue Wirkstoffe mit antibakteriellem Potenzial aus großen Substanzbibliotheken identifiziert und optimiert.



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Björn Windshügel  
Telefon +49 40 303764-286  
[bjoern.windshuegel@ime.fraunhofer.de](mailto:bjoern.windshuegel@ime.fraunhofer.de)

## NEUARTIGE SUIZID-ANTIBIOTIKA GEGEN GRAMPOSITIVE BAKTERIEN

**Infektionen mit multiresistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen wie MRSA (*Methicillin-resistenter S. aureus*) stellen vor allem in Krankenhäusern weiterhin ein großes Problem dar.**

Bislang stehen nur wenige Reserveantibiotika zur Behandlung dieser MRSA-Infektionen zur Verfügung. In Kooperation mit Partnern von der Universität Hamburg und dem Bernhard-Nocht-Institut, Hamburg, wurden essenzielle Synthesewege des MRSA-Erregers auf ihre Eignung als Angriffspunkt für sogenannte Suizid-Substrate überprüft.

Im Gegensatz zu herkömmlichen Antibiotika, deren Wirkmechanismus vor allem in der Hemmung enzymatischer Prozesse liegt, werden diese neuartigen Verbindungen von den bakteriellen Enzymen als Substrat akzeptiert und prozessiert, da sie in ihrem chemischen Aufbau nur wenig von dem natürlichen Substrat abweichen. Die dabei entstehenden Produkte sind chemisch dem ursprünglichen enzymatischen Produkt (z. B. essenzielle Vitamine) ähnlich, sind aber nicht funktional. Als Folge werden alle Enzyme inhibiert, die von dem funktionalen Enzymprodukt abhängig sind. Bei der Adressierung der richtigen Synthesewege kann dies zum Absterben des Bakteriums führen. Ein großer Vorteil der Methode liegt in dem geringen Resistenzbildungspotenzial im Vergleich zu herkömmlich wirkenden Antibiotika.

Im Rahmen des von der Landesexzellenzinitiative Hamburg geförderten Forschungsprojektes wurden am Verbund-Standort Hamburg durch ein computerbasiertes Hochdurchsatzscreening potenzielle Suizidsubstrate für ein Enzym des Vitamin-B-Stoffwechsels in MRSA identifiziert.

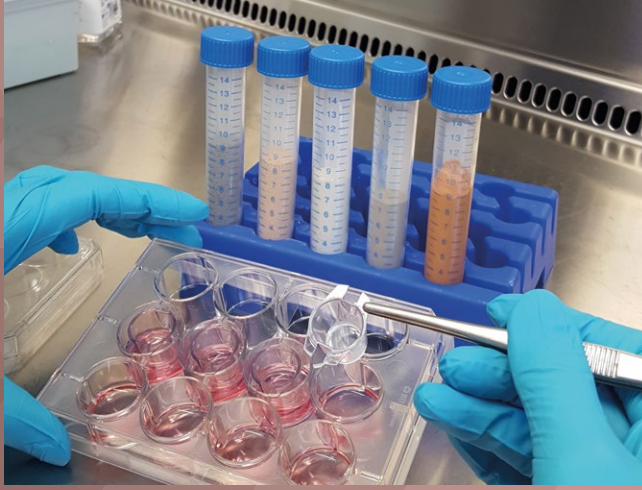
Alle durch das In-silico-Verfahren ausgewählten Verbindungen wurden experimentell am Bernhard-Nocht-Institut hinsichtlich ihrer Wirksamkeit überprüft und als tatsächliche Substrate bestätigt. Darüber hinaus ergaben die Kristallisation des Enzym-Suizidsubstratkomplexes an Bord der Shenzhou-8-Raumfahrtmission und anschließende Strukturaufklärung am Deutschen Elektronensynchrotron in Hamburg für mehrere Verbindungen denselben Bindungsmodus wie er zuvor durch das In-silico-Verfahren ermittelt wurde.

**1** *ITN-Translocation, Einbau eines Inhibitors mit kovalenter Bindung.*



### ANSPRECHPARTNER

Dr. Björn Windshügel  
Telefon +49 40 303764-286  
[bjorn.windshuegel@ime.fraunhofer.de](mailto:bjorn.windshuegel@ime.fraunhofer.de)



1

## DAS DEFEKTE ORGAN MACHT DAS GIFT

**Es gibt eine Reihe von Erkrankungen, denen eine Organ-dysfunktion zugrunde liegt. Oft bilden sich als Folge potenziell toxische Substanzen, die sich in Blut und Gewebe anreichern.**

So entsteht das Urämietoxin in Folge einer Nephropathie, auch zu hohe Serumkonzentrationen des essenziellen Körperbausteins Phosphat setzen unter anderem Gefäßverkalkungsprozesse in Gang. Gastrointestinale Erkrankungen, die mit einer gestörten Darmbarriere, dem sogenannten »leaky gut« einhergehen, führen zu einer erhöhten Konzentration von bakteriellen Endotoxinen und Allergenen, was chronische Entzündungen und Allergien fördert. Daher ist es erforderlich den Körper von Substanzen zu befreien, die pathologische Prozesse auslösen.

Wissenschaftler einer Projektgruppe innerhalb des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences arbeiten an der Entwicklung von Testsystemen zur Evaluierung von neuartigen, potenziell entgiftenden Wirkstoffen. Ein Wirkstoff mit großem Potenzial kommt aus der Natur und gehört zu einer Gruppe der Tonminerale, zu den Smektiten. Tonminerale sind ubiquitär und finden seit Jahrhunderten äußerlich und innerlich Anwendung in Form von Kosmetika und bei der Therapie von gastrointestinalen Beschwerden.

Die Anwendung von Smektiten zur Entgiftung ist naheliegend, denn spezifische Eigenschaften wie ihre Ionenaustauschkapazität, eine große Oberfläche sowie ein besonders hoher Anteil an dreiwertigen Eisenionen machen sie zu einem effizienten Adsorber potenziell toxischer Substanzen. Studien zeigten, dass die physikalische Modifikation der Tonminerale eine entscheidende Rolle bei der Effizienzsteigerung der Adsorption spielt. So gelang es mit diesem Wirkstoff verschiedene Substanzen zu binden. Die so erzielte Abreicherung dieser Stoffe trug in Tiermodellen bereits zu einem wesentlichen Therapieerfolg bei, vor allem bei der chronischen Niereninsuffizienz

und bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. In der Therapie von Organdysfunktionen bedeutet es einen großen Fortschritt, die Folgen der Dysfunktion mithilfe detoxifizierender Wirkstoffe auszugleichen, und so die zusätzliche Belastung für den Körper durch toxische Substanzen zu minimieren. Das Aufspüren solcher Wirkstoffe ist die Grundlage für zukünftige Therapieoptionen – die Entwicklung innovativer Dialyseverfahren könnte eine davon sein.



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Jacqueline Hofrichter  
Telefon +49 381 494-2641  
jacqueline.hofrichter@izi.fraunhofer.de



### ANSPRECHPARTNERIN

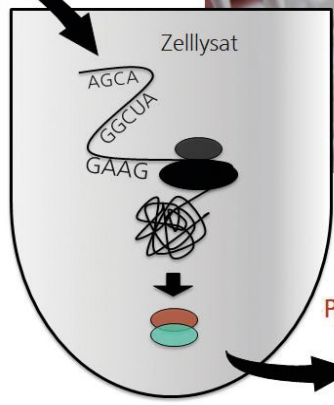
Dr. Anne Breitrück  
Telefon +49 381 494-2641  
anne.breitrueck@izi.fraunhofer.de

**1** *Smektite zur Adsorption körpereigener Giftstoffe.*

**2** *Prinzip der zellfreien Proteinsynthese.*



DNA/  
mRNA



## ENTWICKLUNG

- Toxizitätstests
- Assay-Entwicklung
- Referenztoxine
- Domänen-Screening
- Antikörper-Evaluierung
- Epitop-Mapping

2

### ZELLFREIE PROTEINSYNTHESE ZUR DETEKTION BAKTERIELLER TOXINE

**Bakterielle Toxine spielen eine wichtige Rolle im Infektionsgeschehen. Besonders Bakterien, deren Toxine über Lebensmittel und Wasser in den menschlichen Organismus aufgenommen werden, sind dabei von besonderer Bedeutung.**

Die Wirkung der Toxine im Organismus ist unterschiedlich und bedingt häufig ein typisches Krankheitsbild. Durch die thermische Stabilität vieler Toxine können diese auch in schon gegarten Lebensmitteln vorkommen, in denen die bakteriellen Produzenten nicht mehr nachzuweisen sind.

Toxine werden von unterschiedlichen Bakterienspezies produziert und unterscheiden sich nach ihrer Funktion (Enzym oder Porenbildner), nach ihren eukaryotischen Bindungsrezeptoren (entscheidet über Zell- und Wirtsspezifität) und nach ihrem biochemischen Aufbau (Monotoxin oder Komponenten). Innerhalb eng verwandter Klassen von Toxinen (Botulinumtoxine, Shigatoxine, hitzestabile Enterotoxine) existiert häufig eine Vielzahl genetischer Varianten, die mit erheblichen Unterschieden in der Wirtsspezifität und in der Virulenz einhergehen können.

Im Krankheitsfall kommt es darauf an, Toxine bakterieller Krankheitserreger schnell nachzuweisen, bei der Risikobewertung von Lebensmitteln spielen zudem die Kosten eine Rolle. Zur Detektion dieser Toxine kommen häufig antikörperbasierte Analysemethoden zum Einsatz, optimalerweise in Form von Assays. Für derartige Assay-Entwicklungen werden jedoch toxisch wirkende Proteine im aktiven Zustand und in ausreichender Menge benötigt.

Hier bietet die zellfreie Proteinsynthese die Möglichkeit, Limitierungen zellulärer Systeme bei der Synthese proteinogener Toxine zu überwinden. Eine große Zahl von Proteinen, die nur unzureichend oder überhaupt nicht mit den üblichen zellbasierten Expressionsmethoden darstellbar ist, kann in zellfreien

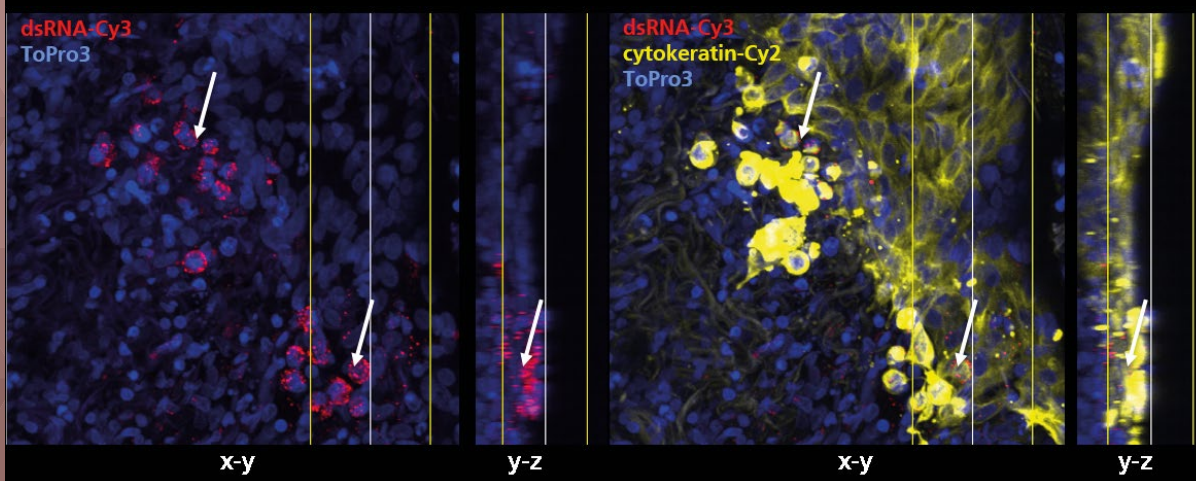
Systemen in funktionell aktiver Form hergestellt werden. Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences werden diese neuen zellfreien Proteinsynthesysteme kontinuierlich weiterentwickelt. Dies ermöglicht erstmals Studien zur Aufklärung der molekularen Wirkmechanismen vieler Toxine. Umfangreiche Forschungsaktivitäten haben insbesondere zu Verbesserungen auf den Gebieten der Produktivität zellfreier Systeme geführt. So liefern derzeit hochproduktive batch-basierte Synthesysteme bereits Proteinausbeuten in der Größenordnung von über 1 mg pro ml Reaktionslösung und können in mehreren, aufeinanderfolgenden Synthesen genutzt werden.

Die sich hieraus ergebenden Möglichkeiten zur Synthese von pharmakologisch und toxikologisch relevanten Proteinen konnten in jüngster Zeit bereits mehrfach demonstriert werden: So wurde das zur Familie der ADP-Ribosyltransferasen gehörende Toxin Pierisin zellfrei hergestellt und in seiner Funktionalität detailliert charakterisiert. Erfolgreich verliefen erste zellfreie Synthesen membranständiger funktioneller zytotoxischer Proteine: Thermostabile Hämolyse von *Vibrio parahaemolyticus*, einem Bakterium, das häufig in Fischprodukten und Meeresfrüchten vorkommt, konnten bereits zellfrei produziert werden. Hierauf aufbauend ist der spezifische Nachweis dieser Toxine mit neu entwickelten Detektionssystemen Gegenstand intensiver FuE-Arbeiten. Den Wünschen der Kunden entsprechend können diese von der Analyse bakterieller Kulturüberstände bis zur Herstellung von Lebensmittelproben reichen, die durch Spiken mit Toxinen als Testmaterialien für die Validierung neuartiger immunologischer Verfahren notwendig sind. Sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität sowie eventuelle Einflüsse der Lebensmittelmatrixen werden untersucht.



#### ANSPRECHPARTNER

Dr. Stefan Kubick  
Telefon +49 331 58187-306  
stefan.kubick@izi-bb.fraunhofer.de



1

## AGONISTEN UND ANTAGONISTEN VON IMMUNREZEPTOREN IN DER THERAPIE

**Der Einsatz von Agonisten und Antagonisten von Immunrezeptoren ist ein neuer therapeutischer Ansatz für die Therapie von pathologischen Entzündungsprozessen, wie sie bei Infektionserkrankungen (bis hin zur Sepsis), Allergien und Autoimmunerkrankungen eine Rolle spielen. Selbst bei der Beseitigung von Tumorzellen sind diese Stoffe beteiligt.**

Rezeptor-Agonisten stimulieren das angeborene Immunsystem und werden häufig als Wirkstoff-Adjuvantien eingesetzt, während Antagonisten Entzündungsprozesse hemmen. Der Fraunhofer-Verbund Life Sciences verfügt über eine Reihe von mammalischen Ganzzell-Biosensor-Assays, welche die Aktivität aller bekannten humanen TLR-Rezeptoren und einiger C-Lectine über spektroskopische Verfahren im High-Throughput-Screening (HTS) messen können. Mit diesem Verfahren gelingt es, funktionelle Moleküle zu identifizieren, die potenzielle Arzneimittelkandidaten für die Prävention und Therapie immunologischer Erkrankungen darstellen.

Erste TLR9 Antagonisten konnten nach Einreichung zum Patent bereits mit Partnern identifiziert werden. Durch den Einsatz ganzer Zellen oder sogar von Gewebeteilen lassen sich nicht nur einfache Rezeptor-Ligand-Interaktionen analysieren, sondern auch sehr komplexe Interaktionen innerhalb der Zelle oder im Gewebeverband erfassen. Dieser Ansatz ist inzwischen so weit entwickelt, dass dafür ein Patent erteilt wurde (Patent DE10201112156B4).



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Anke Burger-Kentischer  
Telefon+49 711 970-4023  
anke.burger-kentischer@igb.fraunhofer.de



### ANSPRECHPARTNER

Prof. Dr. Steffen Rupp  
Telefon +49 711 970-4045  
steffen.rupp@igb.fraunhofer.de

## NATÜRLICHES VIELSTOFFGEMISCH GEGEN VIRALE ATEMWEGSINFEKTE

**Niesen, Husten, Unwohlsein – Erkältungen, sogenannte grippale Infekte, kennt jeder Mensch. Ursache dafür sind vor allem Infektionen mit Viren, gegen die wir uns im Gegensatz zur echten Grippe nicht mit einer Impfung schützen können.**

Auch wenn der Verlauf meist ungefährlich ist, sind diese Infekte für Millionen Menschen eine Belastung und führen zu hohen ökonomischen Kosten – jedes Jahr wieder. Oft können verschiedene Hausmittel und Medikamente die Symptome lindern; ursächlich lassen sich solche viralen Infekte allerdings bisher nicht behandeln.

Forscher suchen daher nach neuen Medikamenten, die virale Infektionen erfolgreich bekämpfen können. Vielversprechende Kandidaten sind zum Beispiel natürliche Wirkstoffe. Dabei sind nicht nur direkt antiviral wirkende Substanzen im Fokus, sondern auch Stoffe, die die Immunantwort im Menschen unterstützen und so die Infekte abwehren können.

Die Wirkung eines natürlichen Vielstoffgemisches wurde kürzlich in Kooperation mit der Biologischen Heilmittel Heel GmbH untersucht. Dafür wurde in Mäusen eine Virusinfektion in der Lunge induziert, welche nach einer kurzen milden Infektion wieder abklingt und ausheilt. Um zu prüfen, ob die niedrigdosierten, natürlichen Wirkstoffe diesen Infektionsverlauf positiv beeinträchtigen können, wurden die Tiere mit dem Vielstoffgemisch behandelt und ebenso der Infektion ausgesetzt.

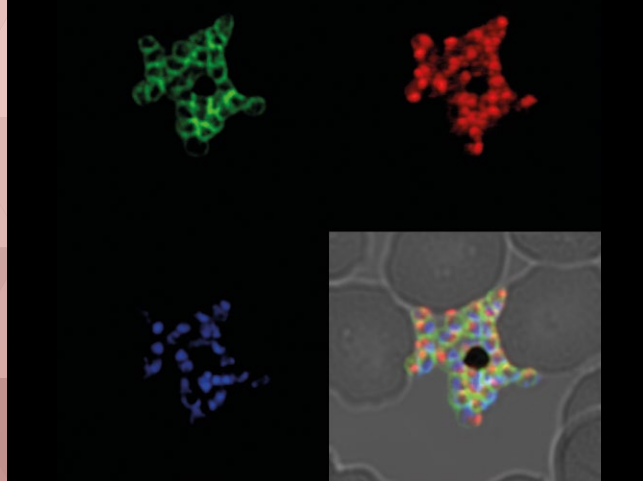
Es wurden unterschiedliche Parameter, die den Verlauf der Infektion darstellen, analysiert. Die Entzündungsreaktion klang schneller bei den Tieren ab, die das Vielstoffgemisch erhalten hatten, als bei nicht behandelten Tieren, was sich auf eine Aktivierung des angeborenen Immunsystems zurückführen ließ. Das natürliche Vielstoffgemisch ist somit ein vielversprechendes Arzneimittel für die Behandlung von viralen Atemwegsinfekten.

**1** *3D-Aufnahme am konfokalen Laserscanning-Mikroskop: Das Schnupfenvirus HRV (rot) infiziert die menschlichen Atemwegs-Epithelzellen (gelb).*



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Sabine Wronski  
Telefon +49 511 5350 444  
sabine.wronski@item.fraunhofer.de



## PLATTFORM FÜR INNOVATIVE THERAPIEN

**Die Forscher des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences haben eine eigene Plattform zur Generierung therapeutischer Antikörper aufgebaut.**

Bei dieser Methode werden gegen die Erkrankung spezifische B-Gedächtniszellen über einen High-Speed Sorter aus den Blutproben isoliert und für eine kurze Zeit in Kultur genommen. Hierbei werden die Gedächtniszellen in Antikörper-produzierende Zellen umgewandelt. Die aus den einzelnen Zellkulturen produzierten Antikörper können dann unmittelbar auf ihre spezifischen Eigenschaften getestet werden, bevor die genetische Information der Antikörper gewonnen wird um, die Antikörper rekombinant in größerem Maßstab zu produzieren.

Am Beispiel der Malariainfektion wurde dieses Prinzip bereits durchlaufen. Im Rahmen eines durch die Fraunhofer-Zukunftsstiftung geförderten Projekts wurden gezielt Antikörper gegen bestimmte Oberflächenproteine des extrazellulären Stadiums des Malariaparasiten generiert. Die Forscher konnten zeigen, dass diese Antikörper den für den Malariaparasiten essenziellen Invasionsschritt in rote Blutkörperchen spezifisch verhindern. Zusätzlich zu der direkten inhibitorischen Wirkung der Antikörper spielt auch die spezifische Rekrutierung von Immunzellen eine wichtige Rolle bei der Immuntherapie.

Speziell entwickelte Verfahren können die Effizienz dieser Zellrekrutierung (wie z. B. Neutrophile oder auch natürliche Killerzellen) quantifizieren, insbesondere auch der rekombinanten Antikörper, die in unterschiedlichen Expressionssystemen wie Pflanzen oder der tierischen Zellkultur produziert werden können. Im Verbund ist hierbei insbesondere die Produktion von Antikörpern in Tabakpflanzen eine etablierte Methode, um in kurzer Zeit hohe Mengen produzieren zu können. Pflanzen gelten als sichere Produktionssysteme, da sie keine humanpathogenen Viren enthalten oder Endotoxine produzieren.

Daneben werden die Antikörper auch in tierischen Zellkulturen sowohl transient (schnell mit guter Ausbeute) als auch stabil (nach Selektion von Produktionsstämmen mit sehr hoher Ausbeute) produziert. In diesem Expressionssystem entsprechen die Glykosylierungsmuster der rekombinanten Antikörper den natürlichen Antikörpern.

Diese Plattform wird in Zukunft für die gezielte Entwicklung innovativer Therapien in der Infektiologie und Onkologie genutzt werden.



### ANSPRECHPARTNER

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

### MIMIKRY IM IMMUNSYSTEM – THERAPEUTISCHE ANTIKÖRPER:

*Therapeutische Antikörper sind eine der am schnellsten wachsenden Zweige der pharmazeutischen Industrie. Laut dem Paul-Ehrlich-Institut sind momentan 46 Antikörper für den therapeutischen Einsatz zugelassen, viele weitere befinden sich in der klinischen Entwicklung. Die meisten Antikörper werden momentan als therapeutische Antikörper in der Onkologie, bei Autoimmunerkrankungen oder rheumatischen Erkrankungen eingesetzt.*

*Antikörper spielen in der natürlichen Immunantwort gegen Infektionen eine zentrale Rolle. Sie erlauben es dem menschlichen Körper, sich gezielt auf einen Virus, ein Bakterium oder einen Parasiten einzustellen und ihn zu beseitigen. Während einer Infektion werden diese Antikörper durch spezifische Immunzellen, die B-Lymphozyten, gebildet. Bei einer aktiven Immunisierung werden nach diesem Prinzip im menschlichen Körper Antikörper generiert, die ihn vor zukünftigen Infektionen schützen können.*

## KÜNSTLICHE VIREN ZUR KREBSTHERAPIE

**Krebs tritt in unterschiedlichen Organen und Geweben auf – die Ursachen sind vielfältig und schließen erbliche Anlagen und Umweltgifte ein.**

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences erfolgt die Entwicklung innovativer Verfahren zur Krebstherapie: Künstliche Viren, sogenannte onkolytische Viren, können Krebszellen spezifisch erkennen, zerstören und damit den Tumor eliminieren.

Viren sind gemeinhin als krankheitsauslösende Erreger bekannt, darüber hinaus haben sie jedoch großes Potenzial, therapeutisch eingesetzt zu werden. Dabei wird ihre Fähigkeit, Zellen selektiv anzusteuern, in diese einzudringen, dabei ihr Genom, Proteine bzw. neue Informationen einzuschleusen und/oder dabei Zellen zu zerstören, ausgenutzt und an den jeweiligen therapeutischen Bedarf angepasst. Entsprechend programmierte Viren sind für eine ganze Reihe von Anwendungen attraktiv, etwa in der Krebs-, Gen- und Schmerztherapie.

Eine erste Generation onkolytischer Viren konnte bereits in präklinischen und klinischen Studien evaluiert werden. Die Ergebnisse lassen erwarten, dass Viren zukünftig eine therapeutische Option für Patienten mit Tumoren werden. Trotz bereits ermutigender Ergebnisse sind weitere Verbesserungen für die effiziente Virustherapie notwendig. So ist die Durchdringung und Virolyse der Tumorumgebung mit derzeitigen Viren gering, was auf die limitierte Zahl der applizierten infektiösen Partikel und die tumorinduzierte Immunevasion zurückgeführt wird.

Um diese Limitierungen zu adressieren, entwickeln wir Next-Generation-therapeutische-Viren auf der Basis von *Herpes simplex-Virus* Typ1. Unser Ziel sind onkolytische Viren, die hocheffizient und gleichzeitig sicher sowie nachhaltig wirken.

**1** *Antikörper auf Malaria-parasiten.*



### ANSPRECHPARTNERIN

apl. Prof. Dr. Susanne M. Bailer  
Telefon +49 711 970-4180  
susanne.bailer@igb.fraunhofer.de

## MIT GESUNDEN IMMUNZELLEN GEGEN DIE SEPSIS

**Die Sepsis ist eine komplexe systemische inflammatorische Reaktion auf eine Infektion. In Deutschland erkranken laut der Deutschen Sepsis Gesellschaft ca. 154.000 Menschen pro Jahr an einer Sepsis, mehr als ein Drittel von ihnen verstirbt trotz adäquater Behandlung.**

Somit ist die Sepsis nach Myokardinfarkten und onkologischen Erkrankungen die dritthäufigste Todesursache hierzulande. Heilungs- und Überlebenschancen bei einer Sepsis hängen wesentlich von einer schnellen und adäquaten Behandlung ab. Neben der kausalen Therapie, wie der Gabe von Antibiotika und der Entfernung des Infektionsherdes, finden auch verschiedene supportive Therapien Anwendung. Dazu zählen die Stabilisierung des Allgemeinzustandes (Blutdruck, Atmung, Herzfrequenz, Ernährung, etc.), die Unterstützung von Organen (z. B. der Niere durch Dialyse) und die Infusion von Blutprodukten.

Ein neuer innovativer Behandlungsansatz der Sepsis ist das durch die Firma ARTCLINE GmbH Rostock entwickelte und patentierte ICE-Verfahren (Immune Competence Enhancement). In einem extrakorporalen System, bestehend aus einem Blutkreislauf, einer Plasmaseparation und einem Zellkreislauf, kommen Immunzellen (Leukozyten) eines gesunden Spenders zum Einsatz. Die Leukozyten übernehmen die gestörte Funktion der patienteneigenen Immunzellen und unterstützen die Regeneration des Immunsystems durch die Abreicherung von mikrobiellen Partikeln und der Abgabe von immunstimulierenden Botenstoffen. Im Rahmen einer Phase I/II-Studie konnte gezeigt werden, dass die Behandlung durch die Patienten gut vertragen und ohne Sicherheitsbedenken angewandt werden kann. Auch die immunmodulatorischen Effekte konnten nachgewiesen werden.

In Kooperation mit der ARTCLINE GmbH arbeitet die Projektgruppe Extrakorporale Immunmodulation an einer Vereinfachung des bisher sehr komplexen Systems. Dabei wurde die zelluläre Komponente des Systems durch ein patentiertes Aufreinigungs- und Lagerungsverfahren verbessert. Der Einsatz alternativer Zellquellen (induzierte pluripotente Stammzellen (iPS), Buffy Coats, etc.) wird durch das Team untersucht. Zusätzlich arbeiten die Wissenschaftler an der Optimierung der technischen Komponente, um eine einfachere klinische Anwendbarkeit des Systems zu gewährleisten. Derzeit wird die Durchführung einer klinischen multizentrisch ausgerichteten, randomisierten Phase II-Studie vorbereitet.

Neben der Weiterentwicklung des ICE-Verfahrens beschäftigt sich die Projektgruppe mit der Testung und Charakterisierung des toxischen Potenzials von septischem Plasma, das durch verschiedene Behandlungsverfahren (Großvolumen-Plasmaaustausch, Adsorber, etc.) modifiziert wurde. Hierfür wurde ein immunzellbasierter Biosensor entwickelt und etabliert, der sowohl die Vitalitäts- als auch die Funktionalitätsparameter umfasst und abbildet.

Die Projektgruppe vereint aufgrund ihrer interdisziplinär arbeitenden Wissenschaftler und eines eigenen Studienzentrums alle technischen, zellanalytischen und studienregulatorischen Aspekte, um den Einfluss von Behandlungsmethoden, Medizinprodukten, etc. auf humane Immunzellen oder humanes Plasma zuverlässig in In-vitro-, präklinischen oder klinischen Studien für Interessenten aus Wissenschaft und Wirtschaft zu untersuchen.



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Stephanie Koch  
Telefon +49 381 494-2640  
stephanie.koch@izi.fraunhofer.de



1

**PRÄDIKTIVE WIRKSTOFFENTWICKLUNG:  
LUNGENINFEKTIONEN, IM BRUTSCHRANK SIMULIERT**

**1** *Precision-Cut Lung Slices  
(PCLS) in Gewebekulturschalen.*

**Precision-Cut Lung Slices (PCLS) sind Ex-vivo-Lungengewebschnitte, die nahezu alle Zellen der Lunge aufweisen: Epithelzellen, Endothelzellen, Fibroblasten, glatte Muskelzellen, Makrophagen, Mastzellen und weitere Immunzellen.**

Diese PCLS werden aus Mäusen, Ratten, vor allem aber aus humanem Spendermaterial gewonnen. PCLS sind in Zellkultur lebendig und reagieren spezifisch auf externe Stimuli. So kann beispielsweise durch bakterielles Endotoxin eine angeborene Immunantwort im Gewebe hervorgerufen werden. Ein maßgeblicher Vorteil ist der hohe translationale Charakter solcher Gewebekulturen: Durch humane PCLS gelingt es von in vitro auf in vivo zu schließen.

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences werden PCLS bereits erfolgreich zur Testung von Wirksamkeit und Toxizität neuer Arzneimittelkandidaten eingesetzt. Erstmals wurden die PCLS jetzt zur Nachstellung viraler Lungeninfektionen im Rahmen des EU-geförderten Projekts U-BIOPRED angewandt.

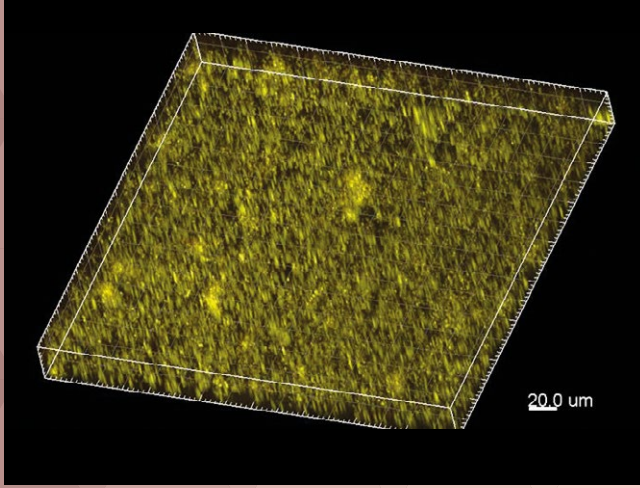
Dafür wurden humane PCLS mit dem Schnupfenvirus HRV infiziert und die Immunantwort des Gewebes analysiert. Es zeigte sich, dass das Virus Lungengewebe auch ex vivo infiziert. Die Zellen im Gewebe reagieren auf das HRV-Virus mit einer typischen Abwehrantwort und schütten antivirale Proteine aus. Zudem induziert HRV wichtige Signalwege einer antiviralen Immunantwort. Eine solche Reaktion lässt sich auch im Menschen beobachten.

Erste antivirale pharmakologische Interventionen deuten auf eine erfolgreiche Unterdrückung der Immunantwort in PCLS hin und zeigen, dass zukünftig PCLS als Infektionsmodell in der Arzneimittelentwicklung genutzt werden können.

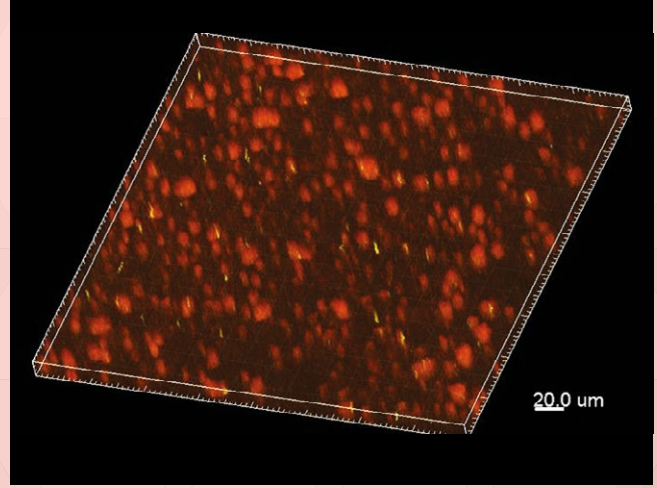


**ANSPRECHPARTNERIN**

Dr. Sabine Wronski  
Telefon +49 511 5350-444  
sabine.wronski@item.fraunhofer.de



1



2

## BIOFILME – BAKTERIEN IN KAMPFFORMATION

**Bakterien bilden häufig Schleimschichten an Grenzflächen. Das passiert nicht nur dort, wo wir es im Alltag kennen, z. B. an verdorbenen Lebensmitteln, sondern auch bei bakteriellen Infektionen, z. B. in der Lunge. Bakterien in diesen Biofilmen, wie die Beläge auch genannt werden, verhalten sich vollkommen anders als freie Schwärme von Bakterien.**

So werden Bakterien, die einzeln vorliegend empfindlich gegen ein Antibiotikum sind, äußerst resistent, sobald sie einen Biofilm gebildet haben. Ein Umstand, der vor allem bei Patienten mit persistierenden Lungeninfektionen fatal sein kann: Die Bakterien bilden Biofilme im Lungengewebe und werden unempfindlich für die Antibiotika-Therapie.

Im Labor müssen daher Wirksamkeitstests nicht nur wie in der klassischen mikrobiologischen Testung mit einzeln vorliegenden Keimen, sondern auch mit Biofilmen durchgeführt werden. Nur so lässt sich abschätzen, ob ein Antibiotikum auch bei Biofilm-assoziierten Lungeninfektionen wirkt.

Eine inhalative Therapie ist bei der Behandlung solcher Infektionen das Mittel der Wahl: Das Medikament gelangt zum einen unmittelbar zum Infektionsherd, zum anderen können höhere Dosierungen bei geringerer Belastung des Körpers eingesetzt werden. Allerdings muss bei der Entwicklung solcher inhalierbarer Medikamente überprüft werden, ob das Antibiotikum nach der Verneblung noch wirksam ist.

Im Fraunhofer-Verbund Life Sciences wurde ein In-vitro-System zur Exposition von bakteriellen Biofilmen gegenüber vernebelten Antibiotika entwickelt. Das Bakterium *Pseudomonas aeruginosa*, ein typischer »Problemkeim« bei Lungeninfektionen, wird dafür als Biofilm angezüchtet. Über ein spezielles Expositionssystem werden anschließend Antibiotika auf die Biofilme vernebelt. Dadurch können wirksame Dosierungen ermittelt werden. Dieses neue Testsystem soll in Zukunft vor allem

zur vergleichenden Prüfung neuer inhalativer Formulierungen bzw. Carrier-Systeme genutzt werden, um vorherzusagen, welche Wirkstoffkombination die Biofilm-Schutzhülle am besten überwindet und so die Erreger am effektivsten abtötet.



### ANSPRECHPARTNERIN

Dr. Sabine Wronski  
 Telefon +49 511 5350-444  
 sabine.wronski@item.fraunhofer.de

### EIGENSCHAFTEN VON BIOFILMEN:

*Biofilme sind Gemeinschaften von Bakterien in einer von den Keimen selbst produzierten »Schutzhülle«, einer extrazellulären Matrix. Diese kann die Bakterien gegenüber Angriffen des Immunsystems oder Antibiotika abschirmen. Aber nicht nur das: Das Mikromilieu im Biofilm, die begrenzte Verfügbarkeit von Sauerstoff und Nährstoffen, verändert auch das Verhalten der Bakterien. Besonders im Inneren des Biofilms gelangen die Bakterien in einen »Ruhezustand« und können so durch Antibiotika, die oft nur sich teilende Bakterien angreifen, nicht effektiv bekämpft werden. Bei einer Antibiotika-Behandlung werden so oft nur die äußeren Bereiche der Biofilme abgetötet, im Inneren jedoch überleben die Bakterien, werden resistent und verursachen hartnäckige und schwer behandelbare Infektionen.*





## SICHERHEITSABSCHÄTZUNGEN BEI INHALATION MIKROBIELLER WIRKSTOFFE

**Keime umgeben uns überall. Meist gefürchtet als Infektionserreger, sind sie vielfältig von hohem Nutzen. So werden z. B. spezielle Keime als biologisches Pflanzenschutzmittel auf Feldern eingesetzt, um das Pflanzenwachstum zu schützen und die Ernteerträge zu verbessern.**

Für die Zulassung muss jedoch sichergestellt werden, dass das Versprühen der Keimlösungen für den Menschen ungefährlich ist. Eine solche Prüfung wurde im Fraunhofer-Verbund Life Sciences in einer Tierstudie durchgeführt. Der zu untersuchende mikrobielle Wirkstoff wurde Ratten in einer hohen Dosis inhalativ verabreicht und der Gesundheitszustand der Tiere eng überwacht. Zusätzlich wurde beobachtet, wie sich der Keim im Tier verhält. Wird er einfach abgebaut oder vermehrt er sich und wird dadurch gefährlich? Kommt es zu einer Entzündungsreaktion in der Lunge oder gar einer pathologischen Veränderung in anderen Organen?

Die Inhalation des mikrobiellen Wirkstoffs verursachte trotz hoher Keimzahl-Exposition keine gesundheitsschädigenden Effekte bzw. Mortalität. Es wurde keine Vermehrung des Keims sondern ein schneller Abbau durch die Wirtsimmunzellen beobachtet. Dies zeigte sich auch in der bronchoalveolären Lavage als zeitweilige Erhöhung der typischen Effektorzellen zur Abwehr von Mikroorganismen, den neutrophilen Granulozyten. Innerhalb weniger Tage waren die inhalierten Keime abgebaut und die Immunantwort wieder abgeklungen. Es wird demnach kein toxikologisches bzw. infektiologisches Risiko durch den mikrobiellen Wirkstoff bei einer möglichen inhalativen Exposition während der Anwendung erwartet.



### ANSPRECHPARTNERIN

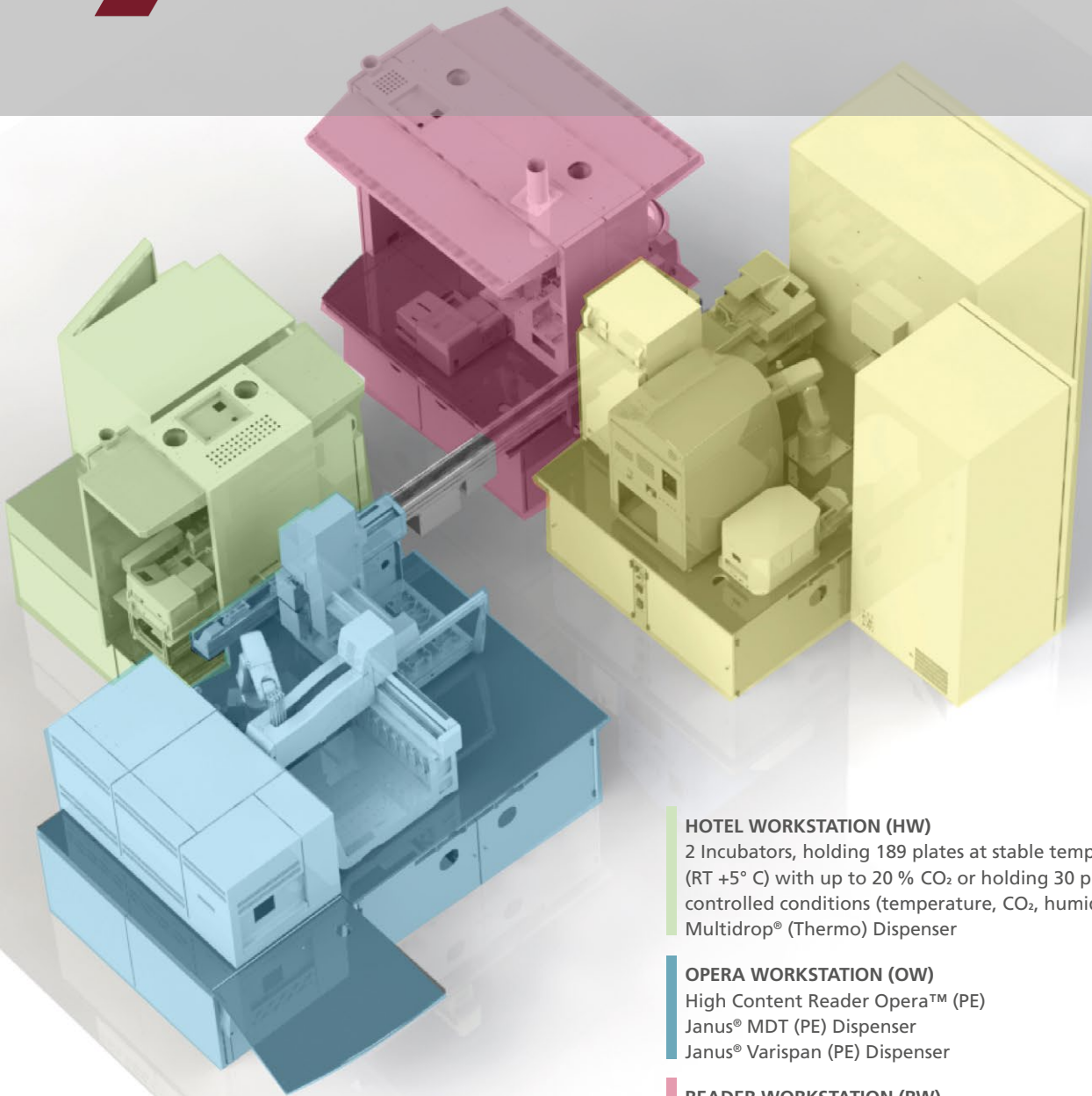
Dr. Sabine Wronski  
Telefon +49 511 5350-444  
sabine.wronski@item.fraunhofer.de

**1–2** Mittels Fluoreszenzfärbung und anschließender Mikroskopie kann die Vitalität eines Biofilms nach der Behandlung mit Antibiotika-Aerosol beurteilt werden. Gelb: vitaler Biofilm ohne Behandlung – rot: fast vollständig abgetöteter Biofilm nach Exposition gegenüber Tobramycin-Aerosol.

**3** Die Vermehrung verschiedener Keime wird mit modernsten Methoden geprüft.



# EQUIPMENT



## **HOTEL WORKSTATION (HW)**

2 Incubators, holding 189 plates at stable temperature (RT +5° C) with up to 20 % CO<sub>2</sub> or holding 30 plates under controlled conditions (temperature, CO<sub>2</sub>, humidity)  
Multidrop® (Thermo) Dispenser

## **OPERA WORKSTATION (OW)**

High Content Reader Opera™ (PE)  
Janus® MDT (PE) Dispenser  
Janus® Varispan (PE) Dispenser

## **READER WORKSTATION (RW)**

ELx405™ (Bio Tek) Plate Washer to remove cell medium, washing adhered cells, formaldehyde fixation of cells  
Flex Drop™ (PE) Dispenser  
EnVision® (PE) multifunction Plate Reader (FI, FP, Lum., Abs., AlphaScreen)

## **COMPOUND WORKSTATION (CW)**

2 Dry StorageSystems holding 1000 or 500 plates at temperatures from 4° to 25° C and an active dehumidification  
Echo® 550 (Labcyte) for touchless liquid transfer via ultrasonic  
Plate centrifuge VSpin® (Agilent)  
Incubator holding up to 30 plates under controlled conditions (temperature, CO<sub>2</sub>, humidity)  
Multidrop® (Thermo) Dispenser

# EQUIPMENT

**Die Entwicklung eines pharmazeutischen Produkts ist ein zeit- und kostenintensiver Prozess, der sich in eine Vielzahl von einzelnen Phasen unterteilen lässt. Ist die Grundidee erst einmal entwickelt, folgen die ersten Schritte im Labormaßstab. Die Voraussetzungen zu weiteren Scaling-up Stufen bis hin zu ersten vorklinischen Tests sind in den meisten Labors nicht mehr gegeben. Die Fraunhofer-Gesellschaft mit ihrer expliziten Aufgabe zur Förderung der angewandten Forschung hat sich auch in diesem Forschungs- und Entwicklungsbereich positioniert. Mit dem Verbund Life Sciences ist sie in der Lage den Prozess der Medikamentenentwicklung von den Anfängen bis hin zur Marktreife zu begleiten. Der Verbund verfügt neben dem notwendigen Know-how im Bereich der Infektionsbiologie über eine spezialisierte Ausstattung. Im Kundenauftrag werden Aufgaben wie Scaling-up, Anpassung an spezielle Aufgabenstellungen oder die Anzucht eigener Kulturen ausgeführt.**

## **HOCHDURCHSATZ-SCREENING-ANLAGE FÜR DIE WIRKSTOFFSUCHE**

**Die in Hamburg bereitstehende Hochdurchsatz-Screening-Plattform (HTS-Plattform) ermöglicht eine zielgerichtete Suche nach Ausgangspunkten für die Arzneimittelforschung.**

Herzstück der Hochdurchsatz-Screening-Anlage ist ein vollständig integriertes, hochflexibles Automatisierungssystem. Die Plattform ist mit modernsten biochemischen und zellbasierten Assay- und Screening-Technologien ausgestattet. Alle gängigen fluoreszenzbasierten und biologisch relevanten Assay-Formate können abgedeckt werden. Bei einem Einsatz von High-Content Screening (HCS) Technologien steht für die Analyse der Bilddaten ein hochmodernes Bildgebungsverfahren zur Verfügung, das speziell für die zellbasierte Wirkstoffsuche entwickelt wurde.

Die HTS-Plattform ist gemäß der aktuellsten Industriestandards konzipiert und modular zusammengesetzt. Sie bietet ein weites Spektrum an automatisiert kontrollierten Lager- und Inkubationsmöglichkeiten. Gleichzeitig können hier Zellen unter idealen Proliferationsbedingungen gehalten, die Substanzbibliothek gekühlt gelagert und auch biochemische Reaktionen bei definierter Inkubationstemperatur durchgeführt werden. Flexible Liquid-Handling-Systeme ermöglichen das automatische Waschen von Platten im 96- und 384-Well Format und den Transfer von geringen Flüssigkeitsmengen ( $>0,5 \mu\text{l}$ ), wodurch Reaktionsansätze parallel erstellt und prozessiert werden können. Mittels einer berührungslosen, ultraschallbasierten Technologie ist es möglich, kleinste Volumina ( $>2,5 \text{ nl}$ ) in Assayplatten zu übertragen (Echo550 (Labcyte)), was zum Beispiel für die Verteilung der Substanzen genutzt wird.

Dreh- und Angelpunkt der Screening-Anlage sind die integrierten Mikrotiterplatten-Lesegeräte, wie der multimodale EnVision (PerkinElmer), welcher alle gängigen Auslese-Technologien bereitstellt (Fluoreszenz-Intensität, Fluoreszenz-Polarisation, FRET, TR-FRET, AlphaScreen, Lumineszenz, Absorption) sowie ein automatisiertes konfokales laserbasiertes Fluoreszenzmikroskop (Opera (Perkin Elmer)) für das bildgestützte High-Content Screening.

Die HTS Plattform eignet sich für das Screening von bis zu 1 Million Substanzen oder die Charakterisierung von bis zu 10.000 Verbindungen in Dosis-Wirkungs-Studien.



### **ANSPRECHPARTNERIN**

Dr. Mira Grättinger  
Telefon +49 40 303764-270  
mira.graettinger@ime.fraunhofer.de



1

**1** Spatenstich für den Fraunhofer-Neubau (v.l.): Prof. Dr. Alfred Gossner, Vorstandsmitglied der Fraunhofer-Gesellschaft für den Bereich Finanzen, Controlling und IT; Dietlind Grabe-Bolz, Oberbürgermeisterin der Universitätsstadt Gießen; Volker Bouffier, Ministerpräsident des Landes Hessen; Prof. Dr. Andreas Vilcinskas, Koordinator des LOEWE-Zentrums für Insektenbiotechnologie und Bioressourcen und Leiter der Projektgruppe Bioressourcen des Fraunhofer-IME; Prof. Dr. Joybrato Mukherjee, Präsident der Justus-Liebig-Universität Gießen und Prof. Dr. Rainer Fischer.

## **NATURSTOFFFORSCHUNG IM AUFWIND – INNOVATIVE STRUKTUREN ERÖFFNEN NEUE CHANCEN**

**Zufällig entdeckt führte das Penicillin, eine Substanz der klassischen Naturstoffforschung, in der Medizin zu bahnbrechenden Erfolgen. Inzwischen gibt es in Deutschland 21 verschiedene zugelassene Antibiotika-Klassen, 17 davon sind auch heute noch Naturstoffe. Trotz dieser enormen Bedeutung in der Medizin geben viele Pharmaunternehmen die Naturstoffforschung auf.**

Entwicklungskosten von bis zu einer Milliarde Euro sind ausschlaggebend dafür; denn, im Vergleich zu Blockbustern wie z. B. Blutdrucksenkern, garantieren diese Medikamente keine hohen Umsätze, weil sie jeweils nur kurzfristig eingesetzt werden. Angesichts der zunehmenden Verbreitung multiresistenter Keime werden neue Antibiotika jedoch dringend benötigt. Tatsächlich wurden aber für die Bekämpfung der Bakterien mit dem höheren Bedrohungspotenzial, den gramnegativen Bakterien, in den letzten 60 Jahren keine gänzlich neuen Strukturen bis zur Marktreife gebracht. Für grampositive Bakterien folgten nach 50 Jahren Stillstand immerhin zwei neue Wirkstoffe. Da das Screening von chemischen Substanzbibliotheken weitgehend erfolglos blieb, wendet man sich wieder den Naturstoffen als Ressource für neue antibakterielle Wirkstoffe zu. Allerdings sind die niedrig hängenden Früchte bereits geerntet. Extrem aufwendige Forschung, die geringe Wahrscheinlichkeit, neue Antibiotika zu finden, und die hohen Entwicklungskosten haben dazu geführt, dass viele große Industrieunternehmen aus der Antibiotikaforschung ausgestiegen sind.

Mit diesem Dilemma wollten sich Prof. Dr. Andreas Vilcinskas, der Leiter der Fraunhofer-Projektgruppe Bioressourcen in Gießen, und Prof. Dr. Peter Hamann von Sanofi nicht abfinden. Sie haben 2014 das Sanofi-Fraunhofer-Exzellenzzentrum für Naturstoffforschung gegründet und leiten gemeinsam dieses neuartige Joint-Venture. Sanofi bringt seine weltweit größte Stammsammlung an Mikroben sowie die Expertise bei der Entwicklung marktreifer Produkte ein, die Fraunhofer-Projektgruppe innovative Ansätze für ein effizientes Screening nach neuen Naturstoffen gegen gramnegative Bakterien. Auch für die weitere Entwicklung zum Medikament – vom Scaling-Up für die Substanzgewinnung, über die Co-Fermentation der Mikroorganismen mit Krankheitserregern, die Pharmakologie bis hin zur klinischen Erprobung – gibt es auf beiden Seiten komplementäre Expertisen.

Enthusiasmus für das Fachgebiet und das Anliegen, das Potenzial der Naturstoffforschung weiter für die Medizin vorzuhalten, ließen ein »Open Innovation-Projekt« entstehen, das Synergien der Partner in bisher einzigartiger Weise nutzt: Buchstäblich Tür an Tür, in gemeinsamen Laboren bringen Wissenschaftler des Fraunhofer IME und von Sanofi als ein Team des



2

»Sanofi-Fraunhofer-Exzellenzzentrum für Naturstoffforschung« ihre Kompetenzen zusammen. Standort sind derzeit Räumlichkeiten auf dem Campus der Justus-Liebig-Universität Gießen. Für 2019 ist der Umzug in den bis dahin fertig gestellten Fraunhofer-Neubau geplant.

**2** *Modell des Neubaus in Gießen.*

Von dem neuen Exzellenzzentrum sollen nicht nur die beiden Gründungspartner profitieren, sondern die Stammsammlung kann von weiteren Industriepartnern genutzt werden. Dabei wird vorausgesetzt, dass in den jeweiligen Produktpaletten keine Konkurrenz untereinander besteht. Derzeit ist z. B. Dow AgroSciences eingebunden. In dieser Konstellation können die Überstände der kultivierten Mikroorganismen nicht nur gegen gramnegative Bakterien, sondern auch gegen Pflanzenpathogene und gegen Insekten gescreent werden. Indem sich mehrere Partner die Kosten und Risiken für eine moderne Naturstoffforschung teilen und die mögliche Wertschöpfung erweitern, ergeben sich neue Chancen, um mit innovativen Ansätzen die Entdeckung von neuen Antibiotika zu forcieren.

Andreas Vilcinskas ist begeistert: »Hier liegt eine Win-win-Situation vor, die zu sehr starken Synergismen führt. Wir hoffen, dass wir diese Situation ausbauen und weitere Industriepartner integrieren können, die von der Kompetenz in der Naturstoffforschung profitieren und neue Wirkstoffe für andere Anwendungsbereiche entwickeln wollen.«



#### ANSPRECHPARTNER

Prof. Dr. Andreas Vilcinskas  
 Telefon +49 641 9939-500  
[andreas.vilcinskas@ime.fraunhofer.de](mailto:andreas.vilcinskas@ime.fraunhofer.de)



1

**1** *Automatisiertes System für die Herstellung von HIV-1 Env Viren (Cellerity, Tecan).*

## **AUTOMATISIERTES SYSTEM ZUR ZELLKULTUR- UND HIV-VIRUS-PRODUKTION**

**Die standardisierte Beurteilung neutralisieren der Antikörperantworten ist ein entscheidender Schritt im Entwicklungsprozess für eine HIV-1-Vakzine. Mithilfe eines neuen automatisierten Systems zur Zellkultur und HIV-Virus-Produktion gelingt es nicht nur Standards einzuhalten, sondern auch den wachsenden Bedarf an HIV-1 Viren abzudecken.**

Es basiert auf einem modifizierten Cellerity-System der Firma Tecan. Der Automat nimmt eine Fläche von etwa 15 m<sup>2</sup> ein und besteht aus einer Robot-Plattform, einem Gerät zur Zellzählung, einem CO<sub>2</sub>-Inkubator zur Zellkultivierung und einem Medien-Kühlschrank. Das komplette System ist durch eine Haube der Sicherheitsklasse 2 eingehaust, sodass der Schutz von Personal, Produkt und Umgebung gewährleistet ist. Damit ist es für die Herstellung von S3-Organismen geeignet. Das automatisierte System zur Zellkultur und Virusherstellung selbst ist ebenfalls nach den GCLP-Richtlinien validiert: Für die Validierungsparameter Genauigkeit, Präzision, Spezifität und Robustheit wurden ein Validierungsplan erstellt und die dazugehörigen Akzeptanzkriterien definiert.

Anhand der Ergebnisse des Validierungsberichtes konnte das Verfahren zur automatisierten Virusproduktion erfolgreich validiert werden und steht somit für die GCLP-konforme Herstellung von HIV-1 Env Viren im großen Maßstab für kommende HIV-Vakzine-Studien zur Verfügung.



### **ANSPRECHPARTNER**

Prof. Dr. Hagen von Briesen  
Telefon +49 6897 9071-285  
hagen.briesen@ibmt.fraunhofer.de



### **ANSPRECHPARTNERIN**

Dr. Anke Schultz  
Telefon +49 6897 9071-560  
anke.schultz@ibmt.fraunhofer.de



## PRÄKLINISCHE VALIDIERUNG UNTER OPTIMALEN RAHMENBEDINGUNGEN

2 *Das tierexperimentelle Zentrum TEZ*

### **Das tierexperimentelle Zentrum bildet einen Knotenpunkt für die präklinische Entwicklung innerhalb des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences.**

Die Entwicklung neuer Medikamente, Therapien und diagnostischer Verfahren erfordert deren Überprüfung in geeigneten Tiermodellen. Das tierexperimentelle Zentrum des Fraunhofer IZI ermöglicht als zentrale Einheit wichtige Schritte bei der Translation von Forschungsergebnissen in die klinische Anwendung am Menschen.

Am Fraunhofer IZI steht dazu eines der modernsten Tierhäuser Deutschlands zur Verfügung. Dieses zeichnet sich durch eine hochtechnisierte Ausstattung aus, die für die Bearbeitung von präklinischen Forschungsprojekten optimiert ist.

Die Gesundheit und die Versorgung der Tiere haben dabei höchste Priorität. Qualifiziertes Personal unterstützt das wissenschaftliche Personal bei der täglichen Pflege, der Gesundheitsüberwachung und Zucht sowie bei der Durchführung von Behandlungen.

Alle experimentellen Arbeiten können unter nahezu sterilen Bedingungen durchgeführt werden. Mehrere komplett eingerichtete Operationssäle ermöglichen Untersuchungen und Behandlungen an Klein- und Großtieren. Der umfangreiche Gerätepark für bildgebende Technologien am Fraunhofer IZI ermöglicht zum Teil nichtinvasive Analysemethoden und trägt damit zur Reduktion der Tierversuche bei. So können In-vivo-Bildgebungsanalysen unter anderem mittels 7-Tesla Magnetresonanztomographen, Biolumineszenz-Imaging oder Kleintier-CT durchgeführt werden.

Für verschiedenste Fragestellungen stehen dem tierexperimentellen Zentrum entsprechende Bereiche der gentechnischen Sicherheitsstufen von S1-S3 zur Verfügung sowie die Möglichkeit, In-vivo-Studien gemäß GLP (Good Laboratory Practice) durchzuführen.

Selbstverständlich wird die Einhaltung der Tierschutzrichtlinien durch den Tierschutzbeauftragten des Instituts streng überwacht und regelmäßig durch die regionale Tierschutzbehörde kontrolliert.



### **ANSPRECHPARTNER**

Dr. Thomas Grunwald  
Telefon +49 341 35536 5423  
thomas.grunwald@izi.fraunhofer.de

## DER FRAUNHOFER-VERBUND LIFE SCIENCES

**Das umfassende und individuell abgestimmte Leistungsangebot des Fraunhofer-Verbunds Life Sciences zur Anwendung neuer Technologien ist nur mit einer thematisch, methodisch und apparativ breit aufgestellten Organisation möglich. Unter dem Motto »Forschung für die Gesundheit und die Umwelt des Menschen« bietet der Fraunhofer-Verbund Life Sciences den Kunden ein gebündeltes Know-how an.**

Sechs leistungsstarke Fraunhofer-Institute und eine Fraunhofer-Einrichtung mit verschiedensten Schwerpunkten in den Life Sciences bringen ihre Kompetenzen in diesen Verbund ein: die Fraunhofer-Institute für Biomedizinische Technik IBMT, Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, Molekularbiologie und Angewandte Ökologie IME, Toxikologie und Experimentelle Medizin ITEM, Verfahrenstechnik und Verpackung IVV, Zelltherapie und Immunologie IZI sowie die Fraunhofer-Einrichtung für Marine Biotechnologie EMB. Damit wird Know-how aus Biologie, Chemie, Biochemie, Biotechnologie, Medizin, Pharmakologie, Ökologie und Ernährungswissenschaft in diesem Verbund gebündelt und potenziert. Mit der Aufnahme der Fraunhofer-EMB in den Verbund Life Sciences kam als weiterer Fokus die Marine Biotechnologie hinzu. In all diesen Fraunhofer-Instituten arbeiten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler fachübergreifend zusammen, sodass auch speziell adaptiertes Fachwissen aus der IT, den Ingenieurwissenschaften und zu den rechtlichen Bestimmungen zur Verfügung steht. Forschung und Implementierung beim Kunden gehen damit Hand in Hand.

Die Fraunhofer-Gesellschaft steht für eine zuverlässige Partnerschaft in der angewandten Forschung. Als größte Forschungseinrichtung dieser Art in Europa entwickelt sie marktorientierte Lösungen nach konkreten Zielvorgaben ihrer Kunden. Als solide Basis dient eigene Vorlaufforschung, an den Grundlagen orientiert und oft in enger Kooperation mit Universitäten und Hochschulen.

Eine unserer wichtigsten Erfahrungen: Von der ersten Idee bis zur perfekten Lösung führt jedes Mal ein spannender Weg – wir gehen ihn gerne mit Ihnen.

### **Die Geschäftsfelder des Fraunhofer-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



**Sie haben Fragen zum Fraunhofer-Verbund Life Sciences,  
Anregungen oder Wünsche?**

**Wenden Sie sich an**

Prof. Dr. Horst-Christian Langowski  
Verbundvorsitzender Life Sciences der Fraunhofer-Gesellschaft  
Institutsleiter des Fraunhofer-Instituts für Verfahrenstechnik  
und Verpackung IVV

**und**

den Leiter der Geschäftsstelle, Dr. Claus-Dieter Kroggel.  
Er wird sich um Ihr Anliegen kümmern, sodass Sie schnell  
zu Ihrem Ziel kommen.



**ANSPRECHPARTNER**

Dr. Claus-Dieter Kroggel  
Leiter der Geschäftsstelle

Fraunhofer-Verbund Life Sciences  
Nikolai-Fuchs-Str. 1  
30625 Hannover

Telefon+49 511 5350-449  
Fax +49 511 5350-155  
[claus-dieter.kroggel@vls.fraunhofer.de](mailto:claus-dieter.kroggel@vls.fraunhofer.de)



# DIE SYNERGISTEN



# DIE SYNERGISTEN

**Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik IBMT**

[www.ibmt.fraunhofer.de](http://www.ibmt.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB**

[www.igb.fraunhofer.de](http://www.igb.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie IME**

[www.ime.fraunhofer.de](http://www.ime.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin ITEM**

[www.item.fraunhofer.de](http://www.item.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV**

[www.ivv.fraunhofer.de](http://www.ivv.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Institut für Zelltherapie und Immunologie IZI**

[www.izi.fraunhofer.de](http://www.izi.fraunhofer.de)

**Fraunhofer-Einrichtung für Marine Biotechnologie und Zelltechnik EMB**

[www.emb.fraunhofer.de](http://www.emb.fraunhofer.de)

