

Jahresbericht 2004

Fraunhofer-Institut für
Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie
IME

Annual Report 2004

Fraunhofer Institute for
Molecular Biology and
Applied Ecology IME

Bereich Molekularbiologie
Division Molecular Biology

RWTH Aachen, Institut für Biologie VII
Worringerweg 1
52074 Aachen, Germany
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 66 31
Fax: +49 (0) 2 41/87 10 62
info@ime.fraunhofer.de
www.ime.fraunhofer.de

Bereich Angewandte Oekologie
Division Applied Ecology

Auf dem Aberg 1
57392 Schmallenberg, Germany
Postfach 1260
57377 Schmallenberg, Germany
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-0
Fax: +49 (0) 29 72/30 23 19
info@ime.fraunhofer.de

Fraunhofer Center for Molecular
Biotechnology CMB

9 Innovation Way, Suite 200
Newark, DE 19711, USA
Tel: +1 302 369 37 66
Fax: +1 302-369-8955
vyusibov@fraunhofer.org
www.fraunhofer-cmb.org

Vorwort

Das IME hat auch im Jahr 2004 mit seinen beiden Bereichen Molekularbiologie und Angewandte Oekologie die in den letzten Jahren begonnene aufstrebende Entwicklung und Dynamik kontinuierlich fortgesetzt.

Das Jahr 2004 stand weiter im Zeichen reger Bautätigkeiten. Im April wurde das 600 m² große neue Gewächshaus in Schmallenberg in Betrieb genommen und damit räumliche Engpässe im Bereich der molekularen Pflanzenbiotechnologie beseitigt. Mit dieser Anlage können nun Reis-, Weizen- und Maispflanzen in größerem Umfang kultiviert werden (s. Seite 70).

Im September wurde der Rohbau des neuen Institutsgebäudes in Aachen nahe der RWTH und in unmittelbarer Nähe der Fraunhofer-Institute für Produktionstechnik und für Lasertechnologie fertiggestellt und das Richtfest unter reger Beteiligung renommierter Politiker, Wissenschaftler und Industrievertreter zelebriert. Der Neubau soll bis zum Herbst 2005 bezugsfertig sein. Dann werden den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Molekularbiologie Labor- und Büroflächen von ca. 5 400 m² Nutzfläche zur Verfügung stehen (s. Seite 68). Ab 2006 werden wir unseren Kunden die GMP-konforme Produktion und Reinigung rekombinanter Proteine für die klinische Forschung anbieten.

Im Bereich der Molekularen Biotechnologie wurde das Geschäftsfeld „Integrierte Produktionsplattformen“ unter der Leitung von Dr. Stephan Hellwig und Dr. Jürgen Drossard etabliert, um das F&E-Spektrum des IME zu erweitern. Dr. Dirk Prüfer wurde auf einen C3-Lehrstuhl an der Universität Münster berufen und wird in Personalunion seine Abteilung für Funktionelle Genomik am IME weiterhin leiten.

Aus der Vielzahl der Präsentationen und Publikationen, die im Jahr 2004 veröffentlicht wurden, ist insbesondere die Erstellung des dreibändigen „Handbook of Plant Biotechnology“ mit vielen Beiträgen aus dem IME herauszustellen, an dem Prof. Paul Christou als Mitherausgeber maßgeblich beteiligt war (John Wiley & Sons, März 2004). Desweiteren wurde von Prof. Rainer Fischer und Dr. Stefan Schillberg ein Buch über „Molecular Farming“ im Wiley Verlag publiziert, welches die herausragende Stellung des Fraunhofer IME in diesem Bereich unterstreicht. An Primärpublikationen sind insbesondere zwei Veröffentlichungen aus dem Bereich der molekularen Pflanzenbiotechnologie in „Nature Biotechnology“ erwähnenswert.

Der Bereich Angewandte Oekologie konnte ein sehr erfolgreiches Geschäftsjahr abschließen. In allen fünf Geschäftsfeldern nahm das Auftragsvolumen durch gezielte Akquise im nationalen und internationalen Raum zu. Der Rückgang von Projekten der öffentlichen Hand konnte durch Industrieprojekte mehr als kompensiert werden.

Die Organisationsstruktur des Bereichs Angewandte Oekologie wurde gestrafft und in insgesamt sechs Abteilungen eingeteilt, die bei der gemeinsamen Projektbearbeitung ihre jeweiligen Kompetenzen einbringen: Umweltchemie, Expositionsanalyse und Risikobewertung, Umwelt- und Lebensmittelanalytik, Umweltprobenbank und Elementanalytik, Bodenbiologie sowie aquatische Ökologie und Ökotoxikologie.

Unsere Kompetenz auf dem Gebiet der Lebensmittelanalytik konnten wir mit Dr. Mark Bücking gezielt erweitern, um unser Engagement im Bereich Lebensmittelsicherheit weiter auszubauen (s. Seite 72), ein wichtiges Ziel für das laufende Jahr.

Die Kooperationsmöglichkeiten mit der RWTH Aachen wurden durch Übernahme des dortigen Lehrstuhls für Umweltbiologie und -chemodynamik durch Prof. Dr. Andreas Schäffer weiter verbessert. Durch den Aufbau der Freilandanlage des An-Instituts der RWTH Aachen gaiac und Kooperation mit einem weiteren KMU konnten im vergangenen Jahr erstmals Freiland-Mesokosmosstudien mit Pflanzenschutzmitteln durchgeführt werden.

Im Zusammenhang mit der Implementierung von Tests mit endokrin wirksamen Substanzen nahm das IME im vergangenen Jahr erstmals die Aufgaben des „Lead Laboratory Zebrafish“ im Validierungsprogramm der OECD wahr, was die weltweit anerkannte Position des Instituts auf diesem Gebiet dokumentiert.

Wir danken allen Partnern aus Industrie, Behörden, Universitäten und Forschungsinstituten für das Vertrauen, das sie dem IME bei der Auftragsvergabe entgegen gebracht haben. Es ist unser Ziel, auch in Zukunft unser FuE-Portfolio im Bereich Life Science sowie im Umwelt- und Verbraucherschutz kompetent und kundenorientiert in der Projektbearbeitung umzusetzen und stetig an die Bedürfnisse des Marktes und unserer Kunden anzupassen.

Aachen, Schmallenberg,
8. März 2005

Prof. Dr. Rainer Fischer

Prof. Dr. Andreas Schäffer

Preface

In 2004, the Molecular Biology and Applied Ecology Divisions of the IME continued with their ambitious development plans, while maintaining both the dynamism and continuity of previous years.

The year was also notable for its vigorous construction activity. In April, the 600-m² glasshouse facility in Schmallenberg became operational, abolishing the spatial restrictions that had previously hindered our molecular plant biotechnology activities. This complex facilitates the large-scale cultivation of maize, wheat and rice plants (see page 71).

The shell of the new institute building, constructed near to the RWTH Aachen and the Fraunhofer Institutes of Production Technology (IPT) and Laser Technology (ILT) was completed in September. Well-known politicians, scientists and industrialists participated in the ceremony to mark the completion of this building phase. The new building should be operational in autumn 2005, at which point approximately 5 400 m² of laboratory and office space will be available for the employees of the Molecular Biology Division (see page 71). By 2006, we will be able to offer our customers a protein production and purification service for clinical research according to GMP guidelines.

To broaden the R&D spectrum of the IME, Drs. Stephan Hellwig and Jürgen Drossard established the Integrated Production Platforms business field, within the Molecular Biology Division. Dr. Dirk Prüfer was appointed to a professorship at the University of Münster and from there will run the Functional Genomics unit of the IME.

Among the multitude of IME presentations and publications from 2004,

the three-volume „Handbook of Plant Biotechnology“ (John Wiley & Sons) which was co-edited by Prof. Paul Christou and contains numerous contributions from IME staff, deserves special mention. In addition, Prof. Rainer Fischer and Dr. Stefan Schillberg published a reference volume entitled „Molecular Farming“ (John Wiley & Sons) which emphasizes the prominent position of the Fraunhofer IME within this field. The publication of two original molecular plant biotechnology papers in the journal *Nature Biotechnology* is also noteworthy.

The Applied Ecology Division brought the 2004 business year to a very successful close. In all five business fields, the volume of orders increased as a result of selective project acquisition on a national and international level. The decline of projects financed by public authorities was more than compensated by contract work performed for private enterprises.

The organization of the Applied Ecology Division was tightened to form six departments – Environmental Chemistry; Exposure Analysis and Risk Assessment; Environmental and Food Analysis; Environmental Specimen Bank and Elemental Analysis; Soil Biology; and Aquatic Ecology and Ecotoxicology – which contribute to common projects with their specific competencies.

Our competencies in the field of food analysis were expanded by Dr. Mark Bücking, and increased engagement in the area of food safety is an important goal of the current year (see page 73).

Collaboration with the Technical University (RWTH) Aachen was improved by creating the Chair of Environmental Biology and Chemodynamics, which is

held by Prof. Andreas Schäffer. Furthermore, the first outdoor mesocosm studies with plant protection products were carried out in 2004 through the establishment of an artificial ponds facility at the Research Institute for Analysis and Assessment of Ecosystems (gaiac) at the RWTH Aachen, and co-operation with a further small-sized enterprise.

The IME also took over as leading zebrafish laboratory in 2004, within the validation program of the OECD for the implementation of tests with endocrine disrupting substances. This further emphasizes the world-leading position of the institute in this field.

We thank all our partners from industry, public authorities, universities and other research institutes for placing contracts with the IME and their confidence in our work. It is our ongoing objective to realize our R&D portfolio in the fields of Life Science and Environmental and Consumer Protection by continuing to carry out project work in a competent and customer-oriented manner and to continuously expand our R&D portfolio according to market developments and the needs of our customers

Aachen, Schmallenberg,
March 8, 2005



Prof. Dr. Rainer Fischer



Prof. Dr. Andreas Schäffer

Inhalt

Vorwort	2
Das Institut im Profil	8
Aufgaben, Schwerpunkte, Kompetenzen	8
Molekularbiologie	8
Angewandte Oekologie	12
Organigramm	14
Kuratorium	16
Forschungs- und Dienstleistungsangebot	18
Molekularbiologie	18
Angewandte Oekologie	22
Ausstattung des Instituts	26
Das Institut in Zahlen	28
Die Fraunhofer-Gesellschaft auf einen Blick	30
Fraunhofer-Verbund Life Sciences	32
Forschungsarbeiten und Anwendungen	35
Molekularbiologie	36
Virotubes in Mikrosystemen	36
Humane Antikörper als Prävention gegen Karies	38
<i>In vitro</i> Charakterisierung humaner anti-CEA scFv, diabody und Fab Antikörperfragmente	40
Tag54 – ein neuer Epitop-Tag zur Detektion und Reinigung von rekombinanten Proteinen	42
Antikörper-vermittelte Pilzresistenz in Pflanzen	44
Produktion eines Impfstoffs gegen das „Respiratory Syncytial Virus“ (RSV)	46
EU-Projekt PHARMA-PLANTA – Medizin aus der Pflanzenfabrik	48
GMP-gerechte Herstellung von Wirkstoffen für klinische Prüfungen	50

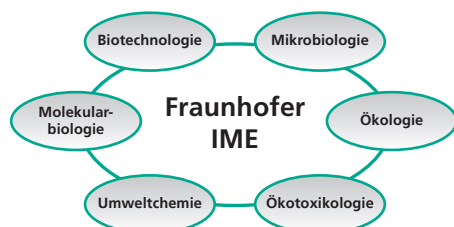
Contents

Preface	3
Fraunhofer IME Profile	9
Operational and Scientific Approach, Competencies	9
Molecular Biology	9
Applied Ecology	13
Organization	14
Advisory Board	17
Research and Development for Industrial and Public Partners	19
Molecular Biology	19
Applied Ecology	23
Institute Facilities and Equipment	27
Institute Data	29
The Fraunhofer-Gesellschaft at a Glance	31
Fraunhofer Life Sciences Alliance	33
Research Activities and Applications	35
Molecular Biology	37
Virotubes in Microsystems	37
Human Antibodies against <i>S. mutans</i> , the Causative Agent of Dental Caries	39
<i>In vitro</i> Characterization of Human anti-CEA scFv, Fab and Diabody Antibody Fragments	41
Tag54 – a New Epitope Tag for Detection and Purification of Recombinant Proteins	43
Antibody-mediated Fungal Resistance in Plants	45
Production of a Vaccine against Respiratory Syncytial Virus in Plants	47
EU Project PHARMA-PLANTA – Field-grown Medicine	49
GMP-compliant Manufacturing of API for Clinical Trials	51

Angewandte Oekologie	52
Herstellung von Biodiesel aus Prionen-kontaminierten Tierfetten	52
Untersuchung der im Boden ablaufenden Transformations- und Transportprozesse bei Rüstungsaltslasten	54
Umweltentlastung durch photokatalytische Schichten – Praxistests	56
Die Umweltprobenbank als Element des integrierten Umweltmonitorings und der Umweltbeobachtung	58
Triclosan und Methyl-Triclosan in Fischproben aus der Umweltprobenbank des Bundes	60
Georeferenzierte Computermodelle in der Stoffbewertung	62
Qualitätskriterien für Endpunkte in Life Cycle Tests mit dem Zebraäbrbling	64
Wiedererholung von Wasserflöhen nach Carbarylbelastung – ein Modellierungsansatz	66
Namen, Daten, Ereignisse	68
Richtfest des IME Neubaus in Aachen	68
Inbetriebnahme des neuen Gewächshauses in Schmallenberg	70
Firmenausgründung in Delaware	70
Buchveröffentlichungen	70
Brennpunkt Lebensmittelsicherheit	72
Jahrestagung SETAC-GLB und GDCh in Aachen	74
Neuer Lehrstuhl an der RWTH Aachen	74
Borchers-Plakette für Doktorprüfung	74
Wissenschaftliche Zusammenarbeit	77
Zusammenarbeit mit Hochschulen, anderen Forschungseinrichtungen und der Industrie	77
Lehr- und Hochschultätigkeit	78
Mitarbeit in Fachorganisationen und Gremien	80
Ausrichtung von Veranstaltungen, Präsentation auf Messen und Ausstellungen	81
Wissenschaftliche Veröffentlichungen	82
Veröffentlichungen, Doktorarbeiten, Diplomarbeiten, Patente	82
Vorträge und Poster	87
Impressum	96

Selected Research: Applied Ecology	53
Production of Biodiesel from Prion-contaminated Animal Fats	53
Investigation of Transformation and Migration Processes in Soils Contaminated with Military Hazardous Waste	55
Environmental Benefits of Photocatalytical Coatings – Real World Performance Testing	57
German Environmental Specimen Bank as an Element of the Integrated Environmental Monitoring and Survey	59
Triclosan and Methyl-triclosan in Fish Samples from the German Environmental Specimen Bank	61
Exposure Assessment for Substances Based on Geo-referenced Computer Models	63
Quality Criteria for Endpoints of Life Cycle Tests with Zebrafish	65
Recovery of Cladocerans after Exposure to Carbaryl – a Modelling Approach	67
Names, Dates, Events	69
New Fraunhofer IME Building in Aachen	69
New Greenhouse in Schmallenberg	71
Spin-off Company in Delaware	71
Books	71
Focal Point Food Safety	73
Annual Meeting of SETAC-GLB and GDCh in Aachen	75
New Chair at the Technical University (RWTH) Aachen	75
„Borchers Plakette“ for Doctoral Thesis	75
Network in Science and Industry	77
Co-operations with Universities, other Research Establishments and Industrial Partners	77
Additional Lecturing Assignments at Universities	79
Memberships of Editorial Boards and Committees	80
Organization of Scientific Meetings; Presentations at Fairs and Exhibitions	81
Scientific Publications	82
Publications, Doctoral Theses, Diploma Theses, Patents	82
Presentations and Posters	87
Editorial Notes	96

Aufgaben, Schwerpunkte, Kompetenzen



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

Molekularbiologie

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

Unsere Aktivitäten liegen insbesondere in den Bereichen:

Angewandte Genom- und Proteomforschung

Die heterologe Expression rekombinanter Proteine in mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Zellkulturen gehört zu den grundlegenden Techniken der „Molekularen Biotechnologie“. Entscheidend für die effiziente Durchführung ist die Bereitstellung neuer Methoden zur Transformation und Expression sowie leistungsfähiger Zellkulturen. Die Abteilung hat ein neuartiges Verfahren zur Auffindung verbesserter Kontrollelemente (Promotoren, Terminatoren) aus mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Organismen entwickelt, welches in kurzer Zeit die Bereitstellung konstitutiver und induzierbarer Promotoren ermöglicht. Neben der Bereitstellung neuer Zellkulturen und Produktionslinien beschäftigt sich die Abteilung

des Weiteren mit der Entwicklung eines alternativen Systems zur stabilen Transformation einzelner Pflanzenzellen.

Ein zusätzlicher Schwerpunkt dieses Geschäftsfeldes liegt in der Identifikation und Charakterisierung von Biomaterialien sowie neuer Substanzen und Targets für die pharmakologische Produktentwicklung und den modernen Pflanzenschutz. Hierzu werden mittels der Hochdurchsatzanalytik (2D-Analytik, Chiptechnologien und kombinatorische Bibliotheken) aus verschiedenen Organismen neue Zielsubstanzen identifiziert und in Zusammenarbeit mit den anderen Geschäftsfeldern auf potenzielle Wirksamkeiten sowie deren Applikation getestet.

Pharmazeutische Produktentwicklung

Monoklonale Antikörper (mAk) haben in den letzten Jahren eine breite Anwendung in der medizinischen Diagnostik und Therapie gefunden. Die Verfahren zur Produktion von mAk in tierischen Zellkulturen sind sehr arbeits- bzw. zeitaufwändig und teuer, insbesondere wenn größere Mengen des Produkts bereitgestellt werden müssen. Einen Ausweg weisen jüngste Fortschritte in der Immunologie und Molekularbiologie.

Hauptschwerpunkte der Abteilung sind daher sowohl die Entwicklung neuer Antikörper-basierter Wirksubstanzen für den klinischen Einsatz bei Mensch und Tier als auch die Optimierung wirtschaftlich etablierter bzw. pharmazeutisch relevanter Diagnostika und Therapeutika. Antigen-spezifische und potenziell neue Wirksubstanzen werden aus immunisierten Tieren über Hybridomtechnologie sowie die Konstruktion und den Einsatz kombinatorischer Molekülbibliotheken (v. a. „Phage Display“-Technologien) isoliert. Zur Produktoptimierung werden rekombinante

The institute's activities cover two main areas: Molecular Biology and Applied Ecology. The interdisciplinary organization of the institute provides the basis for the success of complex projects by integrating the expertise of the relevant scientific disciplines from both activity areas, and through co-operation with external institutions.

Molecular Biology

The business areas of the IME Molecular Biology division offer the pharmaceutical, agrobiotechnological and nutritional industries a contract research-oriented unit dedicated to research and development work, as well as contract services.

Our aim is to support progress in the development of novel products and procedures, ultimately bringing them to market. Further emphasis is placed on the development of novel key technologies and the resulting intellectual property.

Our activities are divided into the following business areas:

Applied Genomics and Proteomics

The expression of recombinant proteins in microbial, animal and plant cell cultures represents one of the core competencies of the Molecular Biology division. One key area of interest in the Applied Genomics and Proteomics business area is the development of novel methods for cell transformation, protein expression and increased cell culture productivity.

The members of this business area have developed a novel technique for discovering improved control elements (promoters, terminators) from microbes, animals and plants. Methods to accelerate the discovery of constitutive

and inducible promoters are also under development. As well as making new cell cultures and production lines available, this business area is also involved in developing an alternative system for the stable transformation of single plant cells.

Another focus of this business area is the identification and characterization of biomaterials and new substances as well as targets for pharmaceutical product development and modern plant protection. New target substances are identified from selected organisms using high-throughput analysis (2D-gels, chip technologies and combinatorial libraries). These substances are then tested, in collaboration with group members from other business areas, for their efficacy and safety.

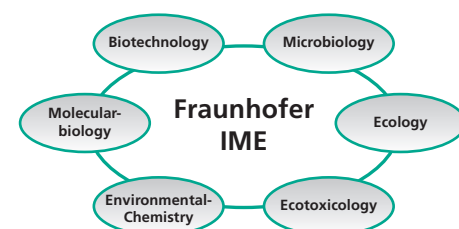
Pharmaceutical Product Development

Monoclonal antibodies (mAbs) are widely used in medical diagnosis and therapy. However, the production of mAbs in animal cell cultures is labor-intensive, time-consuming and expensive, especially if large amounts of the product are required. Recent advances in immunology, cell and molecular biology have overcome these limitations.

The primary focal points of this business area are the development of new antibody-based reagents for clinical use in humans or animals and the optimization of commercially established or pharmaceutically relevant diagnostic and therapeutic products. New reagents are either isolated from immunized animals by means of hybridoma technology or generated by phage display technology.

Combinatorial approaches involving molecular evolution are used to optimize these recombinant reagents, facilitating rational protein design.

Operational and Scientific Approach, Competencies





Methoden eingesetzt, die ein rationales Proteindesign über molekulare Evolution ermöglichen. Die biologische Effizienz der Moleküle wird in entsprechenden *in-vitro*- und *in-vivo*-Testsystemen dokumentiert. Nach Abschluss dieser Versuche werden die rekombinanten Proteine z. B. zur Entwicklung von Bio- sowie Proteinchips eingesetzt, in diagnostische Kits zur Detektion humaner bzw. tierischer Erreger integriert oder zum Einsatz als diagnostisch oder therapeutisch applizierbare Produkte, insbesondere für klinische Studien, weiterentwickelt.

Molekulares Farming

Industrielle Enzyme, neuartige Polymere und pharmazeutische Proteine werden mit Hilfe der Bio- und Gentechnologie hergestellt. Vor allem die Diagnose und Behandlung vieler Krankheiten wird in Zukunft durch den Einsatz rekombinanter Proteine leistungsfähiger werden. In vielen Fällen sind aber die Möglichkeiten der mikrobiellen und tierischen Zellsysteme gerade bei der Produktion großer Mengen an rekombinantem Protein beschränkt. Gegenüber diesen herkömmlichen Verfahren bietet das Molekulare Farming in Pflanzen einige Vorteile. Pflanzen können funktionale rekombinante Proteine im großen Maßstab bei niedrigen Kosten und geringem Arbeitsaufwand produzieren. Zur Produktion der rekombinanten Proteine werden intakte Pflanzen verwendet,

die auf dem Feld oder im Gewächshaus angebaut werden, oder pflanzliche Zellkulturen, deren Kultivierung unter kontrollierten Bedingungen in Bioreaktoren erfolgt. Auf beiden Gebieten bestehen jahrelange Erfahrungen, die in Kooperationen mit internationalen Partnern verwertet und ausgebaut werden.

Pflanzengenetik und Biotechnologie

Die Aktivitäten des Geschäftsfeldes konzentrieren sich auf fünf maßgebliche Anwendungsgebiete der Pflanzenbiotechnologie:

- a) Functional Genomics mit dem Schwerpunkt „Reis als Modellsystem für Getreide“;
- b) Optimierung des Pflanzenstoffwechsels zur Verbesserung des Nährwerts von Nahrungs- und Futtermitteln;
- c) Verbesserung der Resistenzen gegenüber Schädlingen und der Toleranz gegenüber abiotischen Stressfaktoren (z. B. Trockenheit, Salz) für eine nachhaltige Landwirtschaft;
- d) Ablagerung rekombinanter Proteine im Getreide-Endosperm;
- e) Biotechnologische Anwendungen und Technologietransfer vorzugsweise für Entwicklungsländer.

Die Abteilung hat sich zur Aufgabe gesetzt, mit Hilfe neuester molekularbiologischer Methoden eine Brücke zwischen in Modellsystemen gewonnenen wissenschaftlichen Grundkenntnissen und ihrer Anwendung an Hauptgetreidearten (Reis, Mais und Weizen) zu schlagen.

Angewandte Mikrobiologie und Biosafety

Der Verbraucher möchte sichere und unbedenkliche Lebensmittel. Das Grundvertrauen, dass die Lebensmittelhersteller und die Lebensmittelüberwachung diese geforderte Sicherheit

von Lebensmitteln gewährleisten, wurde jedoch durch die zahlreichen Lebensmittelskandale der letzten Jahre grundlegend erschüttert. Darüber hinaus ist es angesichts der rasanten Entwicklung der molekularen Biotechnologie erforderlich, Risiken, die mit der Einführung neuer Produkte einhergehen können, im Vorfeld zu erkennen und auszuschließen. Dies ist insbesondere wichtig, da in der Öffentlichkeit die Akzeptanz gegenüber gentechnisch veränderten Organismen und den daraus erzeugten Produkten – mit Ausnahme von Therapeutika – sehr gering ist. Ziel dieses Geschäftsfeldes ist die Sicherstellung eines hohen Niveaus in Sachen Verbraucherschutz und Gesundheit.

Auftragsarbeiten

Die FuE-Aktivitäten innerhalb der Geschäftsfelder des IME erfordern bestimmte Plattformtechnologien, die aufgrund der apparativen Ausstattung und der notwendigen Betreuung durch erfahrenes Personal als Servicebereiche von einzelnen Geschäftsfeldern entkoppelt organisiert werden. Diese Servicebereiche stehen sowohl den Arbeitsgruppen des IME als auch externen Auftraggebern zur Verfügung. Darunter fallen Sequenzierung, Chip-technologien, Proteomics, Produktion, Reinigung und Strukturaufklärung von Proteinen, Antikörperherstellung und Hochdurchsatz-Imaging-Verfahren.

The biological efficacy of the molecules is documented in different *in vitro* and *in vivo* test systems. The recombinant proteins thus identified are used for the development of protein chips, integrated into diagnostic kits for the detection of human, animal or plant pathogens, or further developed as diagnostic or therapeutic products (especially for clinical studies).

Molecular Farming

Industrial enzymes, new types of polymers and pharmaceutical proteins are manufactured with the aid of biotechnology and genetic engineering. In particular, the diagnosis and treatment of many diseases will become more efficient in the future through the increasing use of recombinant proteins. However, in many cases, the potential of microbial and animal cell systems for the production of large quantities of recombinant proteins is limited. Molecular farming in plants has a number of advantages over these conventional processes. Plants can produce functional recombinant proteins on a large scale at a relatively low cost and with much less effort. The production of recombinant proteins requires intact plants, which are cultivated in the open field or greenhouse, or plant cell cultures, which are cultivated under controlled conditions in bioreactors. In both areas, we provide many years of experience, which can be exploited and developed with international partners.

Crop Genetics and Biotechnology

This business area encompasses activities in five major applied areas of plant biotechnology:

- (a) functional genomics, with emphasis on cereals, using rice as a model system;
- (b) engineering of metabolic pathways for nutritional improvement of foods and feeds;
- (c) sustainable agriculture, focusing on pest resistance and abiotic stress tolerance (e. g. drought, salt stress);
- (d) processing, assembly and deposition of recombinant proteins in cereal endosperm;
- (e) biotechnological applications and training with a focus on developing countries.

The mission of this business area is to bridge the gap between fundamental discoveries in model systems and applications in major crops (rice, corn, wheat) using the latest tools of contemporary plant molecular biology.

Applied Microbiology and Biosafety

Consumers have a right to safe and healthy food. However, the confidence of the consumer in the ability of manufacturers and supervisory authorities to maintain the required safety standards has been severely compromised in the past few years by a number of scandals. In addition, the application of molecular biotechnology to novel products makes it essential to identify potential risks in advance and eliminate them before products reach the market.

This is particularly important, given the widespread public concerns about genetically modified organisms (GMOs) and the products manufactured from them, although there is generally a higher level of acceptance for therapeutic products. The task of this business



sector is to assure high standards with regard to consumer protection and health.

Contract Services

The R&D activities in the various IME business areas involve certain platform technologies that need sophisticated apparatus and equipment as well as highly trained staff. These platform technologies are organized as separate service units within the IME. The services thus provided, e. g. sequencing, chip technologies, proteomics, protein production, protein purification, protein structural analysis, antibody manufacturing and highthroughput imaging technologies are available to the working groups of the IME as well as to external clients.



Angewandte Oekologie

Der Bereich Angewandte Oekologie sieht seine Aufgaben darin, stoffbezogene Risiken von synthetischen oder biologischen Substanzen zu identifizieren und zu bewerten sowie Möglichkeiten zur Risikominimierung zu entwickeln.

Die Aktivitäten sind in folgenden Geschäftsfeldern gebündelt.

Pflanzenschutz

Durch Anwendung standardisierter Testverfahren zur Ermittlung intrinsischer Stoffeigenschaften, insbesondere aber durch die Entwicklung und Anwendung komplexer Umweltsimulationen werden in diesem Geschäftsfeld Pflanzenschutzmittel gemäß nationaler und internationaler Pflanzenschutzgesetzgebung geprüft und bewertet. Die experimentelle Arbeit wird durch Expositions- und Wirkungsmodellierung, Gutachten und Beratung ergänzt. Mit unseren Aktivitäten leisten wir Unterstützung bei der Identifizierung von Risiken und der Beantwortung von Fragestellungen, die zur Minimierung von Bewertungsunsicherheiten beitragen (higher tier risk assessment). So verstehen wir uns als wissenschaftliche Vermittlungsinstanz zwischen Industrie und Behörden.

Chemikalien- und Produktsicherheit

Zuverlässige Aussagen zur Umweltverträglichkeit von chemischen und biologischen Agenzien, von Produkten und technischen Verfahren werden durch Abschätzungen von Exposition und Gefährlichkeit erhalten. Das Spektrum der Untersuchungen reicht von Standardtests zur Registrierung und Kennzeichnung bis hin zu komplexen Studien zur Analyse differenzierter Fragestellungen. Das Geschäftsfeld umfasst neben experimentellen Untersuchungen und Computersimulationen auch die Verbesserung von Strategien zur Risikoabschätzung und die Erstellung von Gutachten zur ökologischen Stoff- und Produktbewertung. Hier spielt zunehmend der Aspekt der Werteorientierung im Sinne des Nachhaltigkeitsansatzes eine Rolle. Den rechtlichen Rahmen bilden die in der EU zurzeit gültigen Regelungen zur Risikobewertung und zum Risikomanagement von industriellen Chemikalien.

Boden- und Gewässerschutz

Dieses Geschäftsfeld fokussiert auf die Bewertung der Qualität der Umweltmedien Boden und Wasser. Den gesetzlichen Rahmen bildet zum einen das Bundes-Bodenschutzgesetz, zum anderen die Europäische Gewässer-Rahmenrichtlinie. Wir entwickeln und nutzen Strategien zur Erfassung des aktuellen oder möglichen Gefährdungspotenzials anthropogener Einträge im weitesten Sinne für natürliche Bodenfunktionen. Zur Bewertung von Wasser- und Sedimentqualität werden u. a. Biomarker und Bioassays eingesetzt. Die Gewässerqualität wird mittels ökologischen Monitorings untersucht. In unmittelbarem Zusammenhang mit der Umsetzung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie stehen auch Arbeiten zur Prioritätensetzung für Maßnahmen (z. B. COMMPS: Combined

monitoring-based and modeling-based priority setting scheme).

Umweltmonitoring und Bewertung

Grundlage vieler wirtschaftlicher, aber auch umweltpolitischer Entscheidungen ist die Kenntnis des Vorkommens und der Verteilung von Stoffen in der Umwelt. Wir verfügen über jahrzehntelange Erfahrungen in der Erfassung von Zielsubstanzen in allen Umweltmatrizes. Moderne Geräte und Verfahren der Spurenanalytik erlauben uns die Bestimmung von Elementen und organischen Verbindungen im Spurenbereich. Zur Qualitätssicherung sind wir für die Prüfarten Atomspektrometrie, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, Gaschromatographie und Probenvorbereitung akkreditiert. Mit der Übernahme der Umweltprobenbank des Bundes im Auftrag des Umweltbundesamtes ist das Institut zudem an einem zentralen Element der ökologischen Umweltbeobachtung in Deutschland beteiligt.

Bedarfsgegenstände, Lebens- und Futtermittel

Dieses Geschäftsfeld umfasst die Untersuchung und Bewertung von Bedarfsgegenständen, Lebens- und Futtermitteln im Kontext nationaler und internationaler vorgegebener gesetzlicher Normen sowie deren rechtliche Begutachtung. Einen Schwerpunkt stellt die Entwicklung innovativer Detektionsverfahren dar, die zur Analytik von Lebens- und Futtermitteln eingesetzt werden. Durch die Entwicklung derartiger Methoden sollen Nachweismethoden verbessert oder ergänzt werden, um eine hohe Qualität und Sicherheit für den Verbraucher zu gewährleisten.

Applied Ecology

The overall aim of the Applied Ecology division is to determine and assess the risks posed by synthetic chemicals and natural substances, and to develop appropriate strategies for the protection of humans and the environment.

The present topics and business areas are:

Plant protection

In this business area, plant protection products (PPPs) are investigated and assessed according to national and international legislation covering the registration of pesticides. Further to the determination of intrinsic substance properties, special emphasis is placed on the development and application of complex environmental simulations, including both standardized and higher-tier studies for risk assessment. Experimental work is supported and finalized by exposure and effects modeling, expert reports and consultations.

We support our clients in the identification of risks and the clarification of concerns. These issues are addressed in specific studies to minimize uncertainties in risk assessment. Thus, our role is to act as a scientific mediator between industry and regulatory bodies.

Chemical and product safety

Reliable statements about the environmental compatibility of chemical and biological agents, products and technical procedures are established by assessing exposure levels and potential hazards. Our investigations encompass standard tests for the notification and labeling of industrial chemicals and products as well as complex studies for the solution of highly differentiated, detailed problem issues. In addition to

experimental investigations and computer simulations the activities of this business area focus on the improvement of strategies for risk assessment and the production of expert reports for ecological substance and product assessments with a recent introduction of evaluative aspects under the sustainability umbrella. We operate under a legislative framework governed by the current EU-wide regulations on risk assessment and risk management for industrial chemicals.

Soil and water protection

This business area concentrates on quality assessments for soil and water, as determined by the German Federal Soil Protection Act and the EU Water Framework Directive. We develop and apply strategies to determine existing or potential hazards for natural soil functions caused by the impact of anthropogenic activities. Water and sediment quality is investigated using biomarkers, bioassays and by ecological monitoring.

We also carry out studies that investigate priority setting with respect to (legal) measures, and these are directly related to the implementation of the Water Framework Directive. One example is COMMPS (combined monitoring-based and modeling-based priority setting scheme).

Environmental monitoring and assessment

Many economic and environmental policy decisions are based on what is known about the occurrence and distribution of chemical substances in the environment. We have long experience in the detection of target compounds in all environmental matrices. Modern devices and procedures for trace analysis enable us to detect elements and organic compounds at the lowest levels. For quality assurance we hold

accreditations for atomic spectrometry, high performance liquid chromatography, gas chromatography and sample preparation.

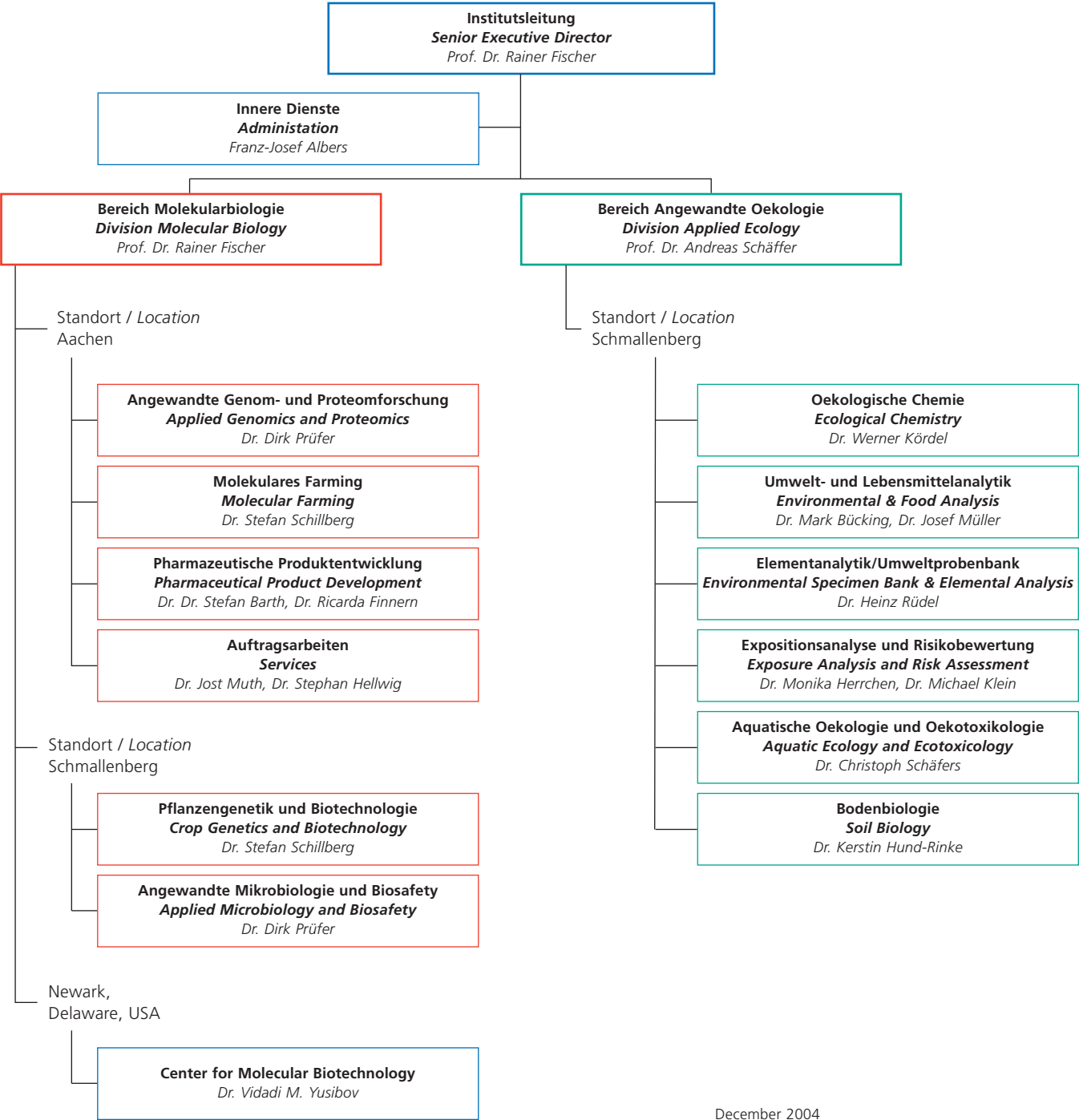
The Fraunhofer IME also maintains the German Federal Environmental Specimen Bank on behalf of the Federal Environmental Agency, and in this context we participate as a central component of the ecological environmental observation program in Germany.

Consumer products, food and feed

This business area is concerned with the examination and assessment of commodities, food and feed in the context of national and international legal standards as well as their expert opinion. One of our main activities is the development of innovative detection procedures for use in food and feed analysis. The objective is to improve or complement existing detection methods, thus ensuring high-quality standards and safety levels for the consumer.



Organigramm
Organization



December 2004



Prof. Dr. Rainer Fischer
Senior Executive Director
Tel +49 (0) 2 41/80-2 66 31
rainer.fischer@ime.fraunhofer.de



Prof. Dr. Andreas Schäffer
Division Director Applied Ecology
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 90
andreas.schaeffer@ime.fraunhofer.de



Dr. Dirk Prüfer
Applied Genomics and Proteomics
Applied Microbiology and Biosafety
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de



Dr. Stefan Schillberg
Molecular Farming
Crop Genetics & Biotechnology
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de



Dr. Werner Kördel
Ecological Chemistry
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 17
werner.koerdel@ime.fraunhofer.de



Dr. Heinz Rüdel
Environmental Analysis
Tel +49 (0) 29 72/3 02-3 01
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de



Dr. Dr. Stefan Barth
Pharmaceutical Product Development
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 32
stefan.barth@ime.fraunhofer.de



Dr. Ricarda Finnern
Pharmaceutical Product Development
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 30
ricarda.finnern@ime.fraunhofer.de



Dr. Josef Müller
Environmental & Food Analysis
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 16
josef.mueller@ime.fraunhofer.de



Dr. Mark Bücking
Environmental & Food Analysis
Tel +49 (0) 29 72/3 02-3 04
mark.buecking@ime.fraunhofer.de



Dr. Jost Muth
Services/DNA Sequencing
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 83 17
jost.muth@ime.fraunhofer.de



Dr. Stefan Hellwig
Production of Recombinant Proteins
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de



Dr. Monika Herrchen
Exposure Analysis, Risk Assessment
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de



Dr. Michael Klein
Exposure Analysis, Risk Assessment
Tel +49 (0) 29 72/3 02-3 17
michael.klein@ime.fraunhofer.de



Dr. Vidadi M. Yusibov
Center Molecular Biotechnology
Tel: +1 302 369 36 35
vyusibov@fraunhofer.org



Dr. Christoph Schäfers
Aquatic Ecology/Ecotoxicology
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de



Dr. Kerstin Hund-Rinke
Soil Biology
Tel +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Kuratorium

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

Mitglieder des Kuratoriums im Berichtsjahr waren:

Prof. Dr. Dieter Berg
Bayer CropScience AG, Monheim
(Stellvertretender Vorsitzender)

Dr. Erich Dorn
Bayer CropScience AG, Monheim

Prof. Dr. Peter Fritz
Umweltforschungszentrum Leipzig

Dr. Rolf Günther
EVOTEC Technologies GmbH,
Hamburg

Prof. Dr. Fritz Kreuzaler
RWTH Aachen

Dr. Manfred Lefèvre
Syngenta Agro GmbH, Frankfurt

Prof. Dr. Burkhard Rauhut
Rektor, RWTH Aachen

Dr. Thomas Reichelt
Bundesministerium der Verteidigung,
Bonn

RegDir Dr. Jürgen Roemer-Mähler
Bundesministerium für Bildung und
Forschung, Bonn

Dr. Joachim Schiemann
Biologische Bundesanstalt für Land-
und Forstwirtschaft, Braunschweig

MinRat Prof. Dr. Ulrich Schlottmann
Bundesministerium für Umwelt,
Naturschutz und Reaktorsicherheit,
Bonn (Vorsitzender)

MinDirig Karl Schultheis
Ministerium für Wissenschaft und
Forschung des Landes Nordrhein-
Westfalen, Düsseldorf

Dr. Klaus G. Steinhäuser
Umweltbundesamt (UBA), Berlin

Dr. Walter Sterzel
Henkel KGaA, Düsseldorf

Dr. Gerald Vollmer
ECB, Joint Research Centre, Ispra,
Italien

Dr. Hans-Ulrich Wiese
Fraunhofer-Gesellschaft, München

Die jährliche Kuratoriumssitzung wurde am 28. April 2004 im Fraunhofer-Institut in Schmallenberg abgehalten. Der Vorstand der Fraunhofer-Gesellschaft war durch Herrn Dr. Dirk-Meints Polter vertreten.

Advisory Board

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

Prof. Dr. Dieter Berg
Bayer CropScience AG, Monheim
(Vice chairman)

Dr. Erich Dorn
Bayer CropScience AG, Monheim

Prof. Dr. Peter Fritz
Center for Environmental Research,
Leipzig

Dr. Rolf Günther
EVOTEC Technologies GmbH,
Hamburg

Prof. Dr. Fritz Kreuzaler
RWTH Aachen

Dr. Manfred Lefèvre
Syngenta Agro GmbH, Frankfurt

Prof. Dr. Burkhard Rauhut
Rector, RWTH Aachen

Dr. Thomas Reichelt
Federal Ministry of Defence, Bonn

RegDir Dr. Jürgen Roemer-Mähler
Federal Ministry of Education and
Research (BMBF), Bonn

Dr. Joachim Schiemann
Federal Biological Research Centre
for Agriculture and Forestry (BBA),
Braunschweig

MinRat Prof. Dr. Ulrich Schlottmann
Federal Ministry for the Environment,
Nature Conservation and Nuclear
Safety, Bonn (Chairman)

MinDirig Karl Schultheis
Ministry of Science and Research,
State North Rhine-Westphalia,
Düsseldorf

Dr. Klaus G. Steinhäuser
German Federal Environmental Agency
(FEA), Berlin

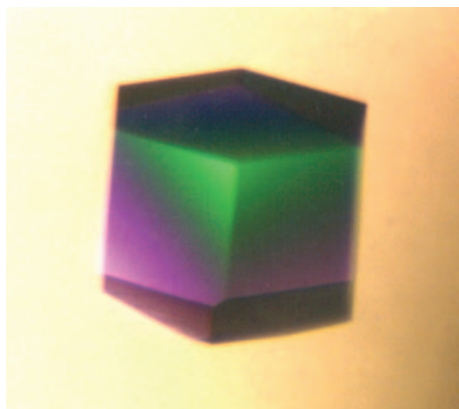
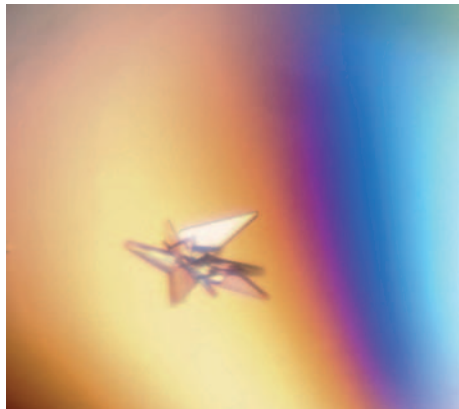
Dr. Walter Sterzel
Henkel KGaA, Düsseldorf

Dr. Gerald Vollmer
ECB, Joint Research Centre, Ispra,
Italy

Dr. Hans-Ulrich Wiese
Fraunhofer-Gesellschaft, München

The annual meeting of the Advisory Board was held on April 28th, 2004 at the Fraunhofer Institute in Schmallenberg. The Executive Board of the Fraunhofer Gesellschaft was represented by Dr. Dirk-Meints Polter.

Bereich Molekularbiologie



Auftragsarbeiten

- DNA-Sequenzierung
- Hochdurchsatz-Screening transgener Organismen
- Produktion und Analyse von DNA- und Protein-Microarrays
- Genisolierung/-charakterisierung
- 2-dimensionale Gelelektrophorese
- Massenspektrometrie
- Proteinkristallisation
- Proteinlokalisationsstudien
- *In vitro*- und *in vivo*-Proteincharakterisierung
- Transformation verschiedener Pflanzenspezies
- Fermentation in mikrobiellen, tierischen und pflanzlichen Systemen im Maßstab 1 bis 140 L
- Antikörperherstellung und -modifikation
- Produktion und Reinigung rekombinanter Proteine

Ansprechpartner

DNA-Sequenzierung/Chiptechnologien
Dr. Jost Muth
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 83 17
jost.muth@ime.fraunhofer.de

Proteomics
Dr. Kurt Hoffmann
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 34
hoffmann@molbiotech.rwth-aachen.de

Rekombinante Proteinproduktion
Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Downstream Processing
Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Kristallisation und Strukturaufklärung
Dr. Kurt Hoffmann
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 34
hoffmann@molbiotech.rwth-aachen.de

Angewandte Genom- und Proteomforschung

- Identifikation neuer Wirksubstanzen aus Medizinalpflanzen
- Herstellung neuer Targets für die Wirkstoffforschung (z. B. Fungizide)
- Chip-basierte Nachweisverfahren zur Identifikation ökonomisch interessanter Strukturgene aus Pro- und Eukaryonten und neuer Kontrollelemente (Promotoren)
- Etablierung neuer pflanzlicher Zellkulturen zur Produktion rekombinanter Pharmazeutika
- Verbesserung von Zellkulturen
- Neue Transformationstechnologien (Mikroinjektion, „*in vitro*- Agrobakterium“)
- Neue Selektionsmarker aus Pro- und Eukaryonten
- Automation und „High Throughput Screeningsysteme“
- Nanobiotechnologie

Ansprechpartner

Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Pharmazeutische Produktentwicklung

- Entwicklung rekombinanter Proteine zur Diagnose und Therapie
 - Entwicklung und Charakterisierung von Antikörper-Phagenbibliotheken (Mensch, Maus, Huhn) und Peptid-Phagenbibliotheken
 - Entwicklung mono- und höervalenter Fusionsproteine (Prodrogen, Toxine, bispezifische Antikörper)
 - Expression funktioneller rekombinanter Proteine in heterologen Expressionssystemen (Mikroben, tierische Zellen, Pflanzen)

Research and Development for Industrial and Public Partners

Contract Services

- DNA sequencing
- High throughput screening of transgenic organisms
- Production and analysis of DNA- and protein-microarrays
- Gene isolation/characterization
- Two-dimensional gel electrophoresis
- Mass spectrometry
- Protein crystallization
- Protein localization
- *in vitro* and *in vivo* characterization of proteins
- Transformation of different plant species
- Fermentation of microbial, animal and plant cells (1–140 L scales)
- Antibody production and modification
- Production and purification of recombinant proteins

Contact

DNA sequencing/chip technologies
Dr. Jost Muth
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 83 17
jost.muth@ime.fraunhofer.de

Proteomics
Dr. Kurt Hoffmann
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 34
hoffmann@molbiotech.rwth-aachen.de

Production of recombinant proteins
Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
stephan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Downstream processing
Dr. Jürgen Drossard
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Protein crystallization and structural prediction
Dr. Kurt Hoffmann
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 34
hoffmann@molbiotech.rwth-aachen.de

Applied Genomics and Proteomics

- Identification of novel active substances from medicinal plants
- Production of novel targets for drug discovery (e.g. fungicides)
- Chip-based identification of valuable structural genes and control elements from prokaryotes and eukaryotes
- Establishment of novel plant-based systems for the production of recombinant pharmaceuticals
- Optimization of cell cultures
- Novel transformation techniques (microinjection, „*in vitro* agrobacterium“)
- Novel selectable markers from prokaryotes and eukaryotes
- Automated systems for high throughput screening
- Nanobiotechnology

Contact

Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Development of Pharmaceutical Products

- Development of recombinant proteins for diagnosis and therapy
 - development and characterization of antibody-phage libraries (human, mouse, chicken), and peptide-phage libraries
 - development of monovalent and multivalent fusion proteins (pro-drugs, toxins, bispecific antibodies)
 - expression of functional recombinant proteins in heterologous expression systems (microbes, animal and plant cells)

Molecular Biology Division



- Optimierung selektionierter Bindungsstrukturen
 - rekombinante Techniken und molekulare Evolution
 - Entwicklung neuer Plattformtechnologien
- Entwicklung 'neuer' Vakzine und Vakzinierungsstrategien (oral applizierbare Impfstoffe)
- Entwicklung neuer Strategien zur Diagnose und Behandlung von Tumorerkrankungen, Allergien und Autoimmunerkrankheiten
- Assayentwicklung, Optimierung und Qualitätskontrolle

Ansprechpartner

PD Dr. Dr. Stefan Barth
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 32
stefan.barth@ime.fraunhofer.de

Dr. Ricarda Finnern
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 30
ricarda.finnern@ime.fraunhofer.de

Molekulares Farming

- Identifizierung und Klonierung der gewünschten Target-Gene
- Pflanzentransformation und Expression rekombinanter Pharmazeutika
- Produktion von Toxin-, Tumor-, Pathogen-, Hormon-, Allergen-spezifischen Antikörpern
- Produktion Pathogen-abgeleiteter Proteine (Antigene) zur Entwicklung von vorzugsweise essbaren Impfstoffen
- Produktion von Plasmaproteinen
- Produktion von Cytokinen und Wachstumsfaktoren
- Optimierung der Expressionsstärke rekombinanter Pharmazeutika im Fermenter (cGMP) in der Pflanze
- Massenproduktion rekombinanter Pharmazeutika
- Entwicklung neuer Reinigungsstrategien

- Qualitätskontrolle (QC) und Validierung rekombinanter Pharmazeutika
- Produktion rekombinanter Pharmazeutika in alternativen Expressionssystemen (Bakterien, Hefen, tierische Zellkulturen)

Ansprechpartner

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Molecular Farming (USA)

- Transiente Genexpression
- Funktionale Genomik anhand Virus-induziertem Gene Silencing
- Real time PCR
- Impfstoffentwicklung
- Gerichtete Evolution
- Entwicklung viraler Vektoren
- Entwicklung industrieller Biokatalysatoren

Ansprechpartner

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

Pflanzengenetik und Biotechnologie

- Identifikation, Klonierung und Verbesserung von Targetproteinen
- Pflanzentransformation (Mono- und Dicots)
- Herstellung pathogen- und stress-resistenter Pflanzen
- Entwicklung transgener Nutzpflanzen (Nutraceuticals)
- Verfahren zur Charakterisierung neuer Genfunktionen
- Entwicklung von Pflanzensystemen mit verringertem „gene silencing“
- Identifikation neuer pflanzlicher Expressionssysteme

- Optimierung pflanzlicher Expressionssysteme

Ansprechpartner

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Angewandte Mikrobiologie und Biosafety

- Umweltmikrobiologie
- Charakterisierung der Struktur und Funktion mikrobieller Gemeinschaften (T-RFLP, PLFA, Dot-Blot Hybridisierung, DNA Microarray)
- Metagenomik
- Lebensmittelmikrobiologie
- Identifikation von Pathogenen
- Allergen-, Mykotoxin- und GVO-Nachweis
- Antibiotikaresistenzgen-Nachweis

Ansprechpartner

Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Dr. Kerstin Hund-Rinke
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Optimization of selected binding structures

- recombinant techniques and molecular evolution
- development of novel platform technologies
- Development of novel vaccines and novel strategies for vaccination (orally applied vaccines)
- Development of novel strategies for the diagnosis and treatment of cancer, allergies and autoimmune diseases
- Assay development, optimization and quality control

Contact

PD Dr. Dr. Stefan Barth
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 32
stefan.barth@ime.fraunhofer.de

Dr. Ricarda Finnern
Tel: +49 (0) 2 41/9 63-21 30
ricarda.finnern@ime.fraunhofer.de

Molecular Farming

- Modification and cloning of target genes
- Plant transformation and expression of recombinant pharmaceuticals
- Production of antibodies specific for toxins, tumors, pathogens, hormones and allergens
- Production of pathogen-derived proteins (antigens) for the development of edible vaccines
- Production of plasma proteins
- Production of cytokines and growth-regulators
- Optimization of the expression of recombinant pharmaceuticals during fermentation
- Optimization of the expression of recombinant pharmaceuticals in plants and plant cells (fermentation)
- Production scale-up for recombinant pharmaceuticals

- Development of novel purification strategies
- Quality control (QC) and validation of recombinant pharmaceuticals
- Production of recombinant pharmaceuticals in alternative expression systems (bacteria, yeast, animal cell cultures)

Contact

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Molecular Farming (USA)

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

Contact

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

Crop Genetics and Biotechnology

- Identification, cloning and optimization of target proteins
- Plant transformation (monocots and dicots)
- Production of pathogen- and stress resistant plants
- Development of transgenic crops (nutriceuticals)
- Techniques for the characterization of novel gene functions
- Development of plant systems with reduced gene silencing
- Identification of novel plant expression systems

- Optimization of plant expression systems

Contact

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Applied Microbiology and Biosafety

- Environmental microbiology
- Structural and functional characterization of microbial communities (T-RFLP, PLFA, dot-blot hybridization, DNA microarray)
- Metagenomics
- Food microbiology
- Identification of pathogens
- Detection of allergens, mycotoxins, and GMOs
- Detection of antibiotic resistance

Contact

Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Dr. Kerstin Hund-Rinke
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Bereich Angewandte Oekologie



Pflanzenschutz

- Standard-Risk-Assessment: Studien und Berechnungen nach Richtlinien (zumeist OECD) und GLP in den Bereichen physikalisch-chemische Eigenschaften, Verbleib (z. B. Expositionsmodellierung, Lysimeterstudien, Metabolismus in Boden, Wasser/Sediment, Pflanzen, Bioakkumulation), Ökotoxikologie
- Higher Tier Risk Assessment (HTRA): Entwicklung, Implementierung und Durchführung von z. B. Tests mit Nicht-Standardarten, Fish-Full-Life Cycle-Tests, Mikro-/Mesokosmenstudien; Expositions- und Wirkungsmodellierung (Population, Nahrungsnetze); Auswertung oder Gutachten zu HTRA-Studien anderer Einrichtungen
- Forschungs- und Entwicklungsprojekte und Gutachten zu generellen und speziellen Bewertungsfragen

Ansprechpartner

Dr. Dieter Hennecke (Chemie)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 09
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Dr. Michael Klein (Modellierung)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 17
michael.klein@ime.fraunhofer.de

Dr. Christoph Schäfers (Ökotoxikologie)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de

Chemikalien- und Produktsicherheit

- Standardstudien für die Registrierung und Kennzeichnung von Industriechemikalien:
Erfassung von physikalisch-chemischen Eigenschaften, Verbleib, Bioakkumulation und Ökotoxikologie
- Komplexe Studien für spezielle Fragestellungen:
modifizierte Standardtests für leicht flüchtige und/oder schwerlösliche Substanzen, Mikrokosmenstudien, Expositionabschätzung von chemischen und biologischen Agenzien in Wasser, Böden, Nahrungsmitteln und Verbraucherprodukten durch Entwicklung bzw. Anpassung von Expositionsszenarien und -modellen
- Verfahrensanpassung zur Risikoabschätzung:
Entwicklung/Anpassung von Test- und Bewertungsstrategien
- Gutachten zur ökologischen Stoff- und Produktbewertung:
Umweltverträglichkeit von Produkten, Verfahren oder Produktionsstandorten, Ökobilanzen; Ermittlung der Aussagezuverlässigkeit von Risiken, Risikokommunikation
- Unterstützung bei der Registrierung und Zulassung von Chemikalien:
Beratung in Zusammenhang mit der REACH-Strategie der EU

Ansprechpartner

Dr. Monika Herrchen (Bewertung)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de

Dr. Josef Müller (chemische Analytik)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 16
josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Dr. Christoph Schäfers (Ökotoxikologie)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de

Plant Protection

- Standard risk assessment: Studies and calculations according to international guidelines (mostly OECD) and GLP in the areas physico-chemical properties, fate (e.g. exposure modeling, lysimeter studies, metabolism in soil, water/sediment, plants, bioaccumulation), ecotoxicology
- Higher Tier Risk Assessment (HTRA): Development, implementation and performance of e.g. tests with non-standard species, fish full life cycle-tests, microcosm and mesocosm studies; exposure modeling and effects modeling (population, food webs), and evaluations or expert reports on HTRA studies of other institutions
- Research and development projects and expert reports on general and specific issues in pesticide assessment

Contact

Dr. Dieter Hennecke (chemistry)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 09
dieter.hennecke@ime.fraunhofer.de

Dr. Michael Klein (modeling)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 17
michael.klein@ime.fraunhofer.de

Dr. Christoph Schäfers (ecotoxicology)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefer@ime.fraunhofer.de

Chemical and Product Safety

- Standard studies for the notification and labelling of industrial chemicals: Determination of physico-chemical properties, fate, bioaccumulation and ecotoxicology
- Complex studies for specific problems: Modified standard tests for slightly volatile and/or poorly soluble substances, microcosm studies, exposure assessment for chemical and biological agents in water, soils, food and feed and consumer articles by the elaboration and adaptation of exposure scenarios and exposure models
- Improvement of existing procedures for risk assessments: Elaboration and adaptation of test and assessment strategies
- Expert reports concerning ecological substance and product assessments: Assessment of environmental impact of products, procedures or production sites; determination of the reliability of risks; risk communication
- Support for the registration of pesticides or notification of chemical substances: Consultation in the context of the REACH strategy (EU)

Contact

Dr. Monika Herrchen (assessment)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de

Dr. Josef Müller (chemical analytics)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 16
josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Dr. Christoph Schäfers (ecotoxicology)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefer@ime.fraunhofer.de

Applied Ecology Division



Boden- und Gewässerschutz

- Ableitung von Grenzwerten chemischer Belastungen nach Bodenschutzgesetz:
z. B. Erfassung von Verhalten und Wirkung anthropogener Kontaminanten im Rahmen der Bodensanierung; Schadstoffaufnahme in Nutzpflanzen
- Erfassung und Bewertung des aktuellen Bodenzustands:
Physikochemische Analysen; boden-biozönotische und ökotoxikologische Untersuchungen; Feststellung der Beeinträchtigung ökosystemarer Strukturen und Funktionen; Identifizierung und Bereitstellung von Referenzböden
- Erfassung kritischer Stoffe und tolerierbarer Einträge in Böden
- Monitoring zur Bestimmung der Gewässerqualität:
Biomarkeranalysen (Östrogen-Rezeptortests, UMU-Tests, Vitellogenin-Untersuchungen); Fisch-Embryotests mit Abwasserproben; ökologisches Gewässermonitoring
- Ableitung von Wasserqualitätszielen im Rahmen der europäischen Gewässerrahmenrichtlinie:
Entwicklung von Expertensystemen zur Identifizierung prioritärer Problemfelder und Problemstoffe

Ansprechpartner

Dr. Kerstin Hund-Rinke (Bodenbiologie)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Dr. Werner Kördel (Ökologische Chemie)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 17
werner.koerdel@ime.fraunhofer.de

Dr. Peter Lepper (Gewässerqualität)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 24
peter.lepper@ime.fraunhofer.de

Umweltmonitoring und Bewertung

- Problemorientierte Probennahme von Wasser-, Boden- und Luftproben
- Schwermetallanalytik im Spurenbereich in Wasser, Boden, Staubproben und biologischen Matrices
- Elementspeziesanalytik, z. B. mittels GC-AED- oder HPLC-ICP/MS-Kopplung
- Erfassung von organischen Kontaminanten in Wasser- und Sedimentphase sowie in Boden, Luft und biologischen Matrices
- Analytik ziviler und militärischer Altlasten
- Prüfung und Dekontamination belasteter Materialien (z. B. Schutzkleidung)
- Probenvorbereitung und -lagerung unter Cryobedingungen
- Bewertung der ökologischen Bedeutung stofflicher Belastungen in abiotischen und biotischen Matrices

Ansprechpartner

Dr. Josef Müller (Analytik)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 16
josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Dr. Heinz Rüdel (Cryobanking)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 01
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Dr. Monika Herrchen (Bewertung)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de

Bedarfsgegenstände, Lebens- und Futtermittel

- Stoffbezogene Lebens- und Futtermittelanalytik auf Grundlage von internationalen Richtlinien, DIN-Normen bzw. der § 35 LMBG-Methoden
- Biochemische und molekularbiologische Detektionsverfahren:
z. B. Tierartendifferenzierung in Lebens- und Futtermitteln tierischer Herkunft
- Instrumentelle Spezialanalytik zur Untersuchung von Lebens- und Futtermitteln (einschließlich Trinkwasser) sowie von Bedarfsgegenständen komplexer Zusammensetzung und zur Detektion charakteristischer Inhaltsstoffe, von Kontaminanten und Rückständen (z. B. LC/MS, SBSE-GC/MS/O)
- Entwicklung kostengünstiger Screening-Verfahren, die Analysen im Hochdurchsatz ermöglichen, und einfach durchzuführender Schnelltests
- Beratung in Fragen der Deklaration von Lebensmitteln

Ansprechpartner

Dr. Mark Bücking
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 04
mark.buecking@ime.fraunhofer.de

Dr. Björn Seidel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 30
bjoern.seidel@ime.fraunhofer.de

Soil and Water Protection

- Derivation of threshold values for the impact of chemicals according to the Federal Soil Protection Act: For example, determining the fate and effects of anthropogenic contaminants in the context of soil remediation; pollutant uptake in crops
- Determination and assessment of the current state of soils: Physicochemical analysis; analysis of soil biocoenosis, ecotoxicological investigations; impairment of ecosystem structures and functions; identification and supply of reference soils
- Determination of critical substances and tolerable inputs in soils
- Monitoring water quality: Biomarker analysis (estrogen receptor tests, UMU tests, vitellogenin analysis); fish embryo assays using waste water samples; ecological monitoring of surface waters
- Derivation of water quality objectives according to the European Water Framework Directive: Elaboration of expert systems for the identification of priority emerging issues

Contact

Dr. Kerstin Hund-Rinke (soil biology)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Dr. Werner Kördel (ecological chemistry)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 17
werner.koerdel@ime.fraunhofer.de

Dr. Peter Lepper (water quality)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 24
peter.lepper@ime.fraunhofer.de

Environmental Monitoring and Assessment

- Problem-oriented sampling of water, soil and air
- Heavy metal trace analysis in water, soil, filter samples and biological matrices
- Elemental speciation analysis, e. g. using GC-AED or HPLC-ICP/MS-coupling
- Tracking organic contaminants in the water and sediment phase, in soil, air and in biological matrices
- Analytical determination of hazardous wastes (industrial and military sites)
- Testing and decontamination of contaminated materials (e. g. protective clothing)
- Sample preparation and storage under cryogenic conditions
- Assessment of the ecological relevance of substance impact in biotic and abiotic matrices

Contact

Dr. Josef Müller (analysis)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 16
josef.mueller@ime.fraunhofer.de

Dr. Heinz Rüdel (cryobanking)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 01
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Dr. Monika Herrchen (assessment)
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de



Consumer Products, Food and Feed

- Substance related analysis of food and feed according to international guidelines, DIN-standards and the so-called § 35 methods of the German food law (LMBG)
- Detection procedures using biochemistry and molecular biology methods: For example, identification of animal species in food and feed
- Special instrumental analysis for food and feed (including drinking water) as well as consumer products of complex composition, and the detection of characteristic ingredients, contaminants and residues (e. g. LC/MS, SBSE-GC/MS/O)
- Development of cost-effective screening methods suitable for high throughput, and development of feasible and rapid test methods
- Consulting in problems relating to the declaration and labeling of food

Contact

Dr. Mark Bücking
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 04
mark.buecking@ime.fraunhofer.de

Dr. Björn Seidel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 30
bjoern.seidel@ime.fraunhofer.de

Ausstattung des Instituts

Liegenschaft und Nutzflächen

Das Institut verfügt in Schmallenberg über ein Grundstück von 34 000 m² mit einer Nutzfläche von ca. 6 000 m² und an der RWTH Aachen über eine Nutzfläche von 800 m². Ca. $\frac{3}{4}$ der Fläche in Schmallenberg werden als Laboratorien bzw. Umweltsimulationsanlagen genutzt. Für die Umweltprobenbank des Bundes stehen 220 m² mit Möglichkeit zur Cryolagerung zur Verfügung. Ein neues Gewächshaus (600 m²) wurde im Juli 2004 in Betrieb genommen.

Momentan wird in Aachen ein Institutsneubau mit einer Hauptnutzungsfläche von 5 400 m² auf einem Grundstück von 32 000 m² errichtet, der im Herbst 2005 bezugsfertig ist. Sowohl in Schmallenberg als auch in Aachen sind Laborräume des Sicherheitsstandards S1 und S2 vorhanden; der Institutsteil in Schmallenberg verfügt zudem über Laboratorien des Sicherheitsstandards L3.

Versuchseinrichtungen, -geräte und Arbeitswerkzeuge:

Molekularbiologie

- vollautomatische DNA-Aufarbeitungsstationen
- Biomek 2000 Robotic Stationen
- Biomek FX 96 Kanal Roboter
- Tecan Proteinkristallisationsroboter
- ABI 3700 Sequenzier-Station
- ABI PRISM 7700 Sequence Detection System
- QPix Colony Picker mit Microarray Option
- ScanArray 5000 Biochip Analyse System
- Fuji Phosphor und Chemiluminescent Imaging System
- Leica Spektral-konfokales Mikroskop
- Evotec Opera System (Hochdurchsatz konfokales Laserimaging System)

- Evotec Cytocon 300 (Einzelzellklonierungssystem)
- Backilluminiertes Frametransfer CCD Kamera System und Leica Research Mikroskop
- Fuji LAS 1000 gekühltes Kamerasystem
- Fuji FLA 2000 Bio Imaging Analyzer Mess-System
- Luigs und Neumann Mikroinjektionseinrichtung
- Beckton Dickenson FACScalibur
- Beckton Dickenson FACSvantage
- Dade Serocent Waschzentrifuge
- Schäfer System Casy Cell Counter
- Zellkulturlaboratorien
- PALM microbeam laser microdissection system
- Geräte zum ballistischen Gentransfer (Particle Gun)
- Fermenter für pflanzliche, tierische und mikrobielle Zellkulturen
- Carr P6 Powerfuge
- Pharmacia Äkta Explorer
- Pharmacia Prozesssysteme
- ELISA Reader
- SLM Aminco Bowman AB-2 Fluorimeter
- BIAcore 2000
- Oxford Cryostream
- Oxford Xenon Cell zur Erzeugung von Xenon Schweratomderivativen
- Bruker-Nonius FR591 Anoden X-ray Generator, Osmic konfokale Max-Flux™ blaue Optik X-ray Spiegel, X-Ray Research Mar345 Bildplatte
- Silicon Graphics Workstations einschließlich Stereo Device Software zur Proteinstrukturanalyse (M.S.I. Insight II/Discover, Denzo, Scalepack, CCP4, SHEL-X, SHARP, PHASES, X-PLOR, O)
- Micromass Massenspektrometer-Suite für Proteomanalysen

Angewandte Ökologie

Umweltkontamination und Stoffverhalten

- Geräte für anorganische Spurenanalytik (z. B. ICP-MS, ICP-OES, GF-AAS, FIMS, IC)

- Ausstattung für organische Spurenanalytik (z. B. AED, GC-MS/MS, SBSE-GC/MS/O, HPLC-MS/MS)
- Hochauflösendes Sektorfeldgerät in Kopplung mit GC und HPLC
- Geräte für ¹⁴C-Analytik
- Durchflussanlagen für ökotoxikologische Langzeitstudien
- Durchflusszytrophotometer
- Modellkläranlagen
- Bioinkubatoren

Anlagen zur Umweltsimulation innerhalb des Kontrollbereichs

- Terrestrische Mikrokosmen (Freilandlysimeter)
- 32 aquatische Mikrokosmen (Volumen: 1 m³) mit Jahreszeit-Simulation
- Freiland-Mesokosmen (in Kooperation mit der RWTH Aachen, gaiac)
- Fließgewässersimulationsanlage
- Anlage zur Simulation von Boden- und Abfallbehandlung unter umweltrelevanten Extrembedingungen
- Versuchsfeld zur gezielten Belastung von Ökosystemausschnitten in Plotversuchen

Spezialsoftware/Simulationsmodelle

- Modelle zur Expositionsabschätzung: z. B. PELMO, STEPS 1-2 in FOCUS, FOCUSPELMO, ABIWAS, SimpleTreat, PopFate, ASSESS
- Ökologische Modelle: Populationsmodelle, z. B. für Daphnia und Zebrafisch; Nahrungsnetzmodelle
- Ökologische Statistik: CANOCO, Community Analysis
- QSAR-Software: PropertEst, MOPAC, ClogP, ECOSAR
- Datenbanken: z. B. PropertBase, AQUATOX, COMMPs
- Verschiedene Modellierungsumgebungen und -tools inklusive GIS (ArcView 8)

Institute Facilities and Equipment

The Fraunhofer IME in Schmallenberg comprises about 34.000 m² including office and laboratory space of approximately 6.000 m². The institute departments located at the University of Technology (Aachen) provide an additional 800 m² of laboratory space. The new greenhouse (600 m²) started operating in July 2004.

Currently, a new institute building composed of 5.400 m² office and laboratory space is built on a 32.000 m² area in Aachen and will be completed by fall 2005.

About 75% of the area in Schmallenberg is used for laboratories and environmental simulations. Level 1 and Level 2 containment facilities are available in Schmallenberg and Aachen. Furthermore, Level 3 laboratories have been available in Schmallenberg since 2003. In Schmallenberg, a further 220 m² of laboratory space, including cryostorage facilities, is available for the Federal Environmental Specimen Bank.

Special Equipment and Work Tools

Molecular Biology

- Automated DNA-isolation station
- Biomek 2000 robotic stations
- ABI 3700 sequencer
- ABI PRISM 7700 Sequence Detection System
- QPix colony picker and micro array system
- ScanArray 5000 biochip analysis system
- Fuji phosphor and chemiluminescent imaging system
- Leica TCS-SP spectral confocal microscope
- Evotec Opera System (high throughput dual confocal laser imaging system)
- Evotec Cytocon 300 (single cell cloning system)

- Princeton back illuminated frame-transfer cooled CCD camera system, two photometrics cooled CCD cameras and Leica DM-RB research microscopes
- Fuji LAS 1000 cooled camera system
- Fuji FLA 2000 bio imaging analysis system
- Luigs and Neumann microinjection suite
- Beckton Dickenson FACScalibur
- Beckton Dickenson FACSvantage
- Dade SeroCent Wash Centrifuge
- Schäfer Casy Cell Counter
- Cell culture laboratories
- Palm microbeam laser microdissection system
- Particle gun
- Fermentors for plant, animal and microbial cell cultures
- Carr P6 Powerfuge
- Pharmacia Äkta Explorer
- Pharmacia Process System
- ELISA Reader
- SLM Aminco Bowman AB-2 fluorimeter
- BIAcore 2000
- Oxford Cryostream
- Oxford Xenon Cell to produce xenon heavy atom derivatives
- Bruker-Nonius FR591 rotating anode X-ray generator, Osmic Confocal Max-Flux™ blue optic X-ray mirrors, X-Ray Research Mar345 image plate
- Silicon Graphics workstations including stereo device software for solving protein structure (M.S.I. Insight II/Discover, Denzo, Scalepack, CCP4, SHEL-X, SHARP, PHASES, X-PLOR, O)
- Micromass mass spectrometer-suite for proteom analysis

Applied Ecology

Environmental Contamination and Fate of Substances

- Equipment for inorganic trace analyses (e. g. ICP-MS, ICP-OES, GF-AAS, FIMS, IC)

- Equipment for organic trace analyses (e. g. AED, GC-MS/MS, SBSE-GC/MS/O, HPLC-MS/MS)
- Mass spectrometers (including high resolution instruments) coupled with GC and HPLC
- Equipment for ¹⁴C-analysis
- Flow-through facilities for ecotoxicological long-term studies
- Flow-through cytophotometer
- Model sewage treatment plants
- Bioincubators

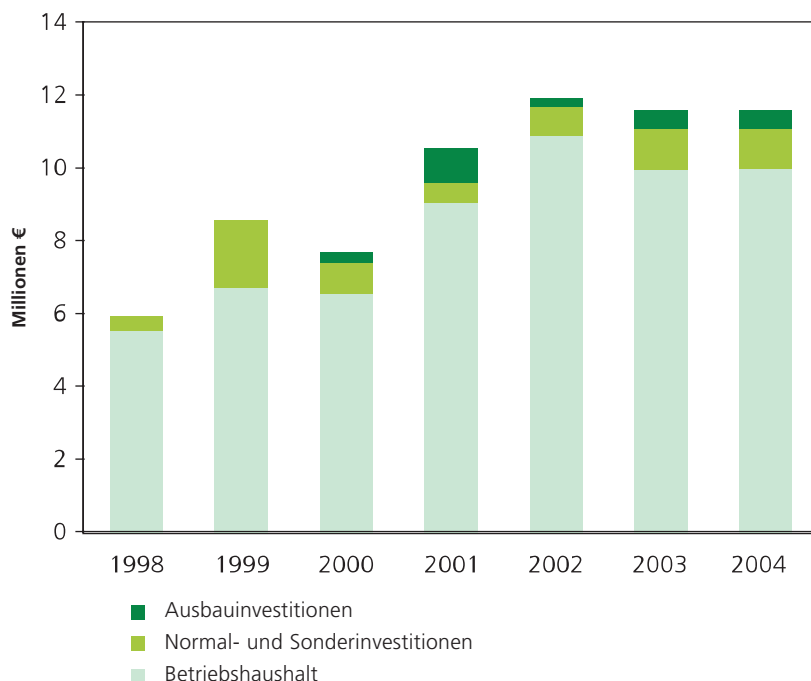
Facilities for Environmental Simulations (isotopically labeled chemicals)

- Terrestrial microcosms (outdoor lysimeter facilities)
- 32 aquatic microcosms (1 m³ volume) including seasonal simulation
- Artificial stream system
- Outdoor mesocosms in co-operation with the University of Aachen (gaiac)
- Facilities for simulating soil and waste treatments under extreme ecological conditions
- Facility for field studies involving special exposure of ecosystem compartments in plot trials

Software Tools and Simulation Models

- Exposure assessment models: e. g. PELMO, STEPS 1-2 in FOCUS, FOCUSPELMO, ABIWAS, SimpleTreat, PopFate, ASSESS
- Ecological models: population models, e. g. for daphnia and zebrafish; food web models
- Ecological effect statistics: CANOCO, Community Analysis (CS)
- QSAR-software: PropertEst, MOPAC, ClogP, ECOSAR
- Data bases: e. g. PropertBase, AQUATOX, COMMPS
- Several modeling environments and tools including GIS (ArcView 8)

Gesamthaushalt des Fraunhofer IME



Haushalt

Der Gesamthaushalt des Instituts betrug in 2004 ca. 11,1 Mio. €. Davon entfielen 10 Mio. € auf den Betriebshaushalt, 1,1 Mio. € wurden für Normal- und Sonderinvestitionen getätigt. Die eigenen Erträge betrugen 8,0 Mio. €. Dabei konnten insbesondere die Erträge aus der Industrie deutlich gesteigert werden.

Zusätzlich standen 0,53 Mio. € an Ausbauinvestitionen für den Neubau in Aachen zur Verfügung.

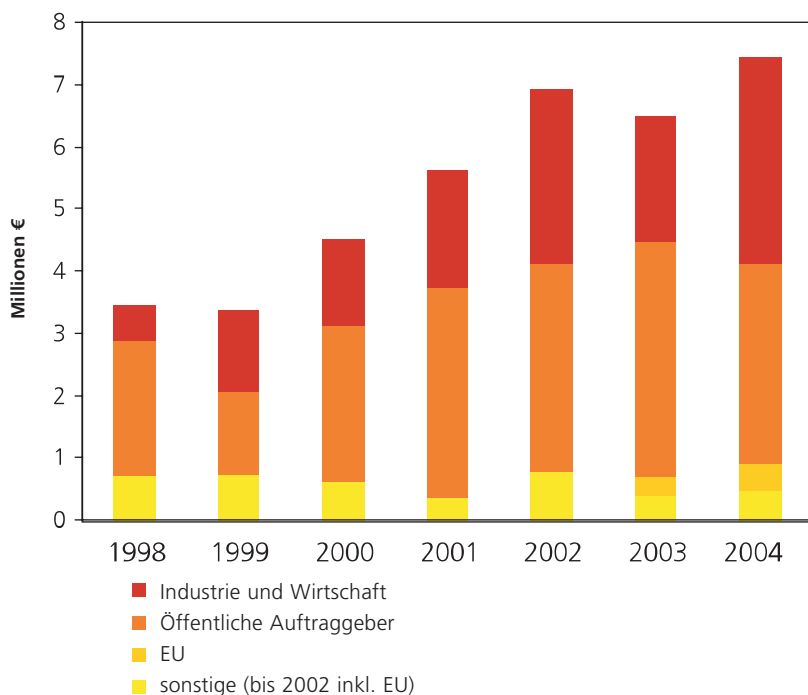
Personal

Zum Jahresende 2004 waren im Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie 137 Personen angestellt.

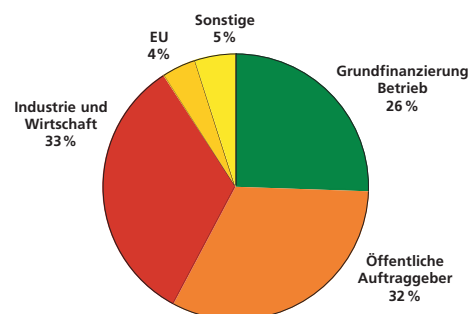
Der Frauenanteil betrug 48,9%.

Wissenschaftliche Mitarbeiter	45
Graduierte Mitarbeiter	7
Technische Mitarbeiter	51
Doktoranden	5
Diplomanden	4
Infrastruktur/Verwaltung	25
Gesamt	137

Auftraggeber und externe Erträge des Fraunhofer IME



IME Finanzierung 2004



Budget

The institute's total budget for the year under review was approximately 11.1 million Euros. Proceeds towards the institute's budget originating from contract research amounted to 8.0 million Euros. Especially the proceeds from industry could be increased. Basic and special investments carried out by the two divisions of the institute amounted to 1.1 million Euros. In addition, € 530,000 was allocated to building investments in Aachen.

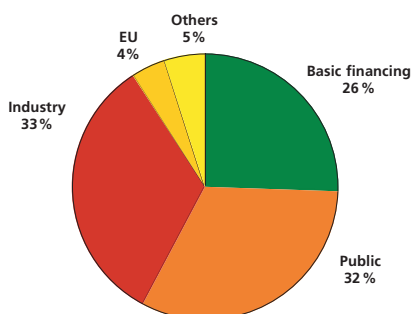
Staff

At the end of 2004, the Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology had 137 employees.

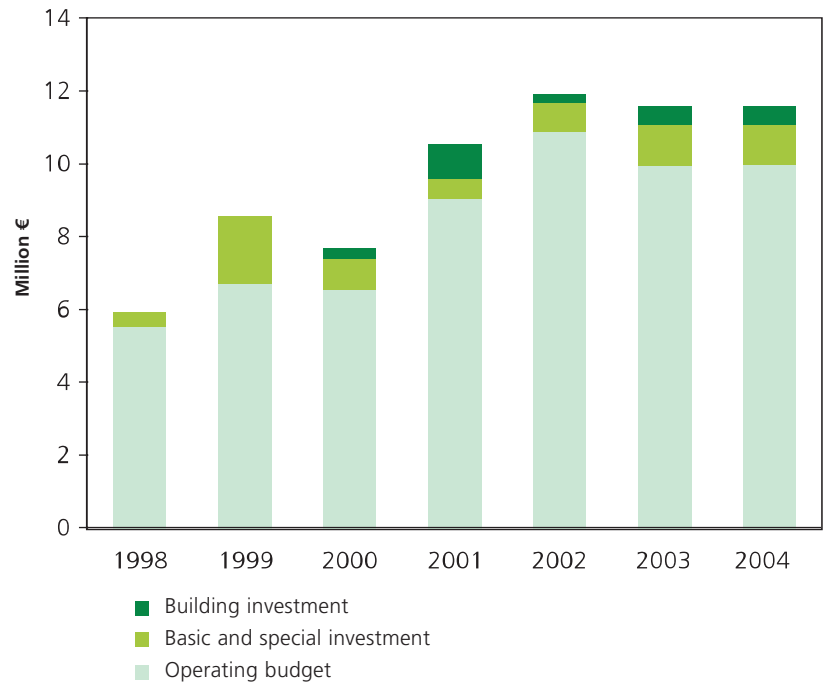
Approximately 49 % of the employees are female.

Scientists	45
Graduate employees	7
Technicians	51
Doctoral candidates	5
Graduate students	4
Infrastructure/administration	25
	137

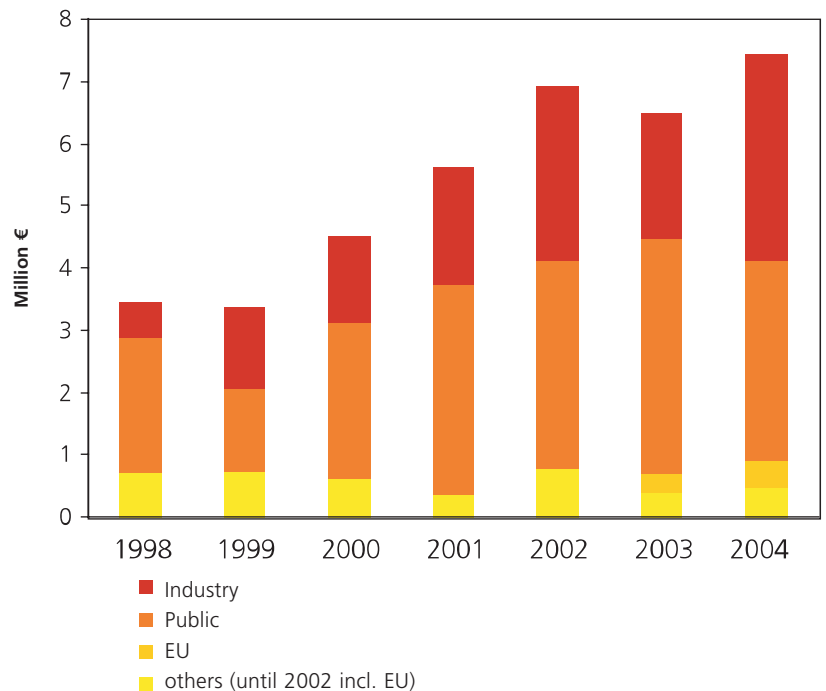
IME Financing 2004



Total budget of the Fraunhofer IME



External financing of the Fraunhofer IME



Die Fraunhofer-Gesellschaft auf einen Blick



Die Forschungsorganisation

Die Fraunhofer-Gesellschaft betreibt anwendungsorientierte Forschung zum direkten Nutzen für Unternehmen und zum Vorteil der Gesellschaft. Vertragspartner und Auftraggeber sind Industrie- und Dienstleistungsunternehmen sowie die öffentliche Hand. Im Auftrag und mit Förderung durch Ministerien und Behörden des Bundes und der Länder werden zukunftsrelevante Forschungsprojekte durchgeführt, die zu Innovationen im öffentlichen Nachfragebereich und in der Wirtschaft beitragen.

Mit technologie- und systemorientierten Innovationen für ihre Kunden tragen die Fraunhofer-Institute zur Wettbewerbsfähigkeit der Region, Deutschlands und Europas bei. Dabei zielen sie auf eine wirtschaftlich erfolgreiche, sozial gerechte und umweltverträgliche Entwicklung der Gesellschaft.

Ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern bietet die Fraunhofer-Gesellschaft eine Plattform zur fachlichen und persönlichen Qualifizierung für anspruchsvolle Positionen in ihren Instituten, in anderen Bereichen der Wissenschaft, in Wirtschaft und Gesellschaft.

Rund 80 Forschungseinrichtungen sind an über 40 Standorten in ganz Deutschland tätig. Etwa 12 700 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, überwiegend mit natur- oder ingenieurwissenschaftlicher Ausbildung, bearbeiten das jährliche Forschungsvolumen von

über einer Milliarde €. Davon fallen mehr als 900 Millionen € auf den Leistungsbereich Vertragsforschung. Ungefähr zwei Drittel dieses Leistungsbereichs erwirtschaftet die Fraunhofer-Gesellschaft mit Aufträgen der Industrie und öffentlich finanzierten Forschungsprojekten. Ein Drittel wird von Bund und Ländern beigesteuert, auch um damit den Instituten die Möglichkeit zu geben, Problemlösungen vorzubereiten, die in fünf oder zehn Jahren für Wirtschaft und Gesellschaft aktuell werden.

Die Fraunhofer-Gesellschaft ist auch international aktiv: Niederlassungen in anderen Ländern Europas, in den USA und in Asien sorgen für Kontakt zu den wichtigsten gegenwärtigen und zukünftigen Wissenschafts- und Wirtschaftsräumen.

Mitglieder der 1949 gegründeten und als gemeinnützig anerkannten Fraunhofer-Gesellschaft sind namhafte Unternehmen und private Förderer. Von ihnen wird die bedarfsorientierte Entwicklung der Fraunhofer-Gesellschaft mitgestaltet.

Ihren Namen verdankt die Gesellschaft dem als Forscher, Erfinder und Unternehmer gleichermaßen erfolgreichen Münchner Gelehrten Joseph von Fraunhofer (1787–1826).

Die Forschungsgebiete

- Werkstofftechnik, Bauteilverhalten
- Produktionstechnik, Fertigungstechnologie
- Informations- und Kommunikationstechnik
- Mikroelektronik, Mikrosystemtechnik
- Sensorsysteme, Prüftechnik
- Verfahrenstechnik
- Energie- und Bautechnik, Umwelt- und Gesundheitsforschung
- Technisch-Ökonomische Studien, Informationsvermittlung

Die Vorteile der Vertragsforschung

Der schnelle Innovationstransfer zählt zu den Zielen der Unternehmenspolitik der Fraunhofer-Gesellschaft.

Durch die Zusammenarbeit aller Institute stehen den Auftraggebern der Fraunhofer-Gesellschaft zahlreiche Experten mit einem breiten Kompetenzspektrum zur Verfügung. Gemeinsame Qualitätsstandards und das professionelle Projektmanagement der Fraunhofer-Institute sorgen für verlässliche Ergebnisse der Forschungsaufträge. Modernste Laborausstattungen machen die Fraunhofer-Gesellschaft für Unternehmen aller Größen und Branchen attraktiv. Neben der Zuverlässigkeit einer starken Gemeinschaft sprechen auch wirtschaftliche Vorteile für die Zusammenarbeit, denn die kostenintensive Vorlaufforschung bringt die Fraunhofer-Gesellschaft bereits als Startkapital in die Partnerschaft ein.

The Fraunhofer-Gesellschaft at a Glance

The Fraunhofer-Gesellschaft

The Fraunhofer-Gesellschaft undertakes applied research of direct utility to private and public enterprise and of wide benefit to society. Its services are solicited by customers and contractual partners in industry, the service sector and public administration. The organization also accepts commissions and funding from German federal and *Länder* ministries and government departments to participate in future-oriented research projects with the aim of finding innovative solutions to issues concerning the industrial economy and society in general.

By developing technological innovations and novel systems solutions for their customers, the Fraunhofer Institutes help to reinforce the competitive strength of the economy in their local region, and throughout Germany and Europe. Through their work, they aim to promote the successful economic development of our industrial society, with particular regard to social welfare and environmental compatibility.

As an employer, the Fraunhofer-Gesellschaft offers a platform that enables its staff to develop the professional and personal skills that will allow them to take up positions of responsibility within their Institute, in other scientific domains, in industry and in society.

The Fraunhofer-Gesellschaft maintains roughly 80 research units, including 57 Fraunhofer Institutes, at over 40 different locations in Germany. A staff of some 12.700, predominantly qualified scientists and engineers, works with an annual research budget of over one billion euros. Of this sum, more than € 900 million is generated through contract research. Roughly two thirds of the Fraunhofer-Gesellschaft's contract

research revenue is derived from contracts with industry and from publicly financed research projects. The remaining one third is contributed by the German federal and *Länder* governments, partly as a means of enabling the institutes to pursue more fundamental research in areas that are likely to become relevant to industry and society in five or ten years' time.

The Fraunhofer-Gesellschaft is also active on an international level: Affiliated research centers and representative offices in other European countries, the USA and Asia provide contact with the regions of greatest importance to present and future scientific progress and economic development.

The Fraunhofer-Gesellschaft was founded in 1949 and is a recognized non-profit organization. Its members include well-known companies and private patrons who help to shape the Fraunhofer-Gesellschaft's research policy and strategic development.

The Research Areas

The focal research and development activities at the Fraunhofer Institutes are grouped into the following fields:

- Materials technology, component behaviour
- Production technology, manufacturing engineering
- Information and communications technology
- Microelectronics, microsystems technology
- Sensor systems, testing technology
- Process technology
- Energy and building technology, environmental and health research
- Technical and economic studies, information transfer



Fraunhofer Gesellschaft

Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V.

Postfach 12 04 20
80603 München
Hansastraße 27c
80031 München
Tel: +49 (0) 89/12 05-0
Fax: +49 (0) 89/12 05-75 31
info@fraunhofer.de

Executive Board

Prof. Dr. Hans-Jörg Bullinger
President of the Fraunhofer-Gesellschaft

Dr. Alfred Gossner
Finance and Controlling

Dr. Dirk Meints Polter
Human Resources and Legal Affairs

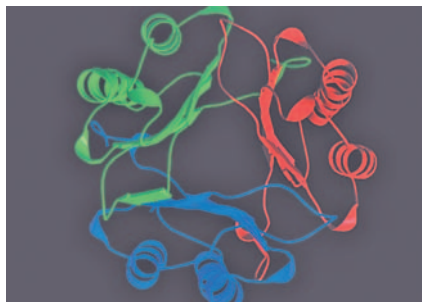
Prof. Dr. Dennis Tsichritzis
Chief Information Officer (CIO),
International Business Development

Contact / Ansprechpartner

Corporate Management, Marketing
Dr. Lothar Behlau
Tel: +49 (0) 89/12 05-12 00, -12 11
lothar.behlau@zv.fraunhofer.de

International Business Development
Dr. Dieter R. Fuchs
Tel: +49 (0) 89/12 05-47 00
international@zv.fraunhofer.de

Fraunhofer-Verbund Life Sciences



Durch die Bündelung der komplementären Kernkompetenzen der Fraunhofer-Institute IBMT, IGB, IME und ITEM im Fraunhofer-Verbund Life Sciences (VLS) ergibt sich ein breites Methodenspektrum und Dienstleistungsangebot, das durch den Dialog mit unseren Kooperationspartnern in der Wirtschaft zur Steigerung unserer Innovationskraft führt. Die internationale Ausrichtung des Verbundes – dokumentiert durch Niederlassungen in Nordamerika (IME) und China (IBMT) – trägt der Globalisierung des Wirtschaftslebens Rechnung.

Im Geschäftsfeld „Prozessentwicklung für biologische und medizinische Anwendungen“ beschäftigt sich der VLS unter anderem mit Verfahren zur optimierten Gewinnung rekombinanter Pharmawirkstoffe und industriell nutzbarer Enzyme aus mikrobiellen, pflanzlichen, tierischen und humanen Expressionssystemen, mit der Entwicklung und Anwendung von Biochips, mit mikrosystembasierten Biohybriden, mit der Kryobiotechnologie und auch mit der Membrantechnologie zur effektiven Trennung von Stoffen.

Für die Indikationen Herz-Kreislauf- und Stoffwechselerkrankungen, Multiple Sklerose, Allergien sowie Tumor- und Autoimmunerkrankungen wird im Geschäftsfeld „Entwicklung und Prüfung von Pharmawirkstoffen und Medizinprodukten“ auf der Basis von Genom- und Proteomuntersuchungen nach neuen Targets für Diagnostik und Therapie gesucht. Die Entwicklung von Antikörpern spielt hier eine besondere Rolle. Vielfältige präklinische, pharmakologische und klinische (Atemtrakt-) Forschungsprojekte sowie Zulassungsstudien, auch nach GLP/GCP, zählen ebenso zu den Kernkompetenzen dieses Geschäftsfeldes.

Im Geschäftsfeld „Biomaterialien und Tissue Engineering“ bietet der Verbund Innovationen für bioadaptive Materialien, biomimetische Grenzflächen, organoide Zellsysteme und Implantate. Die Entwicklung zelltherapeutischer Ansätze bildet hier einen weiteren Schwerpunkt.

Im vierten Geschäftsfeld des Verbundes, „Umweltbiotechnologie, Umwelt- und Verbraucherschutz“, werden in erster Linie toxikologische und ökotoxikologische Untersuchungen, Stoffbewertungen und Risikobetrachtungen durchgeführt, auch im Hinblick auf genetisch veränderte Organismen und Lebensmittelsicherheit. Von großem Interesse ist weiterhin die Entwicklung biotechnologischer Möglichkeiten zur Dekontamination von Boden, Wasser und Luft.

Ansprechpartner

Fraunhofer-Verbund Life Sciences

Verbundvorsitzender:
Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
Nikolai-Fuchs-Str. 1
30625 Hannover
Tel: +49 (0) 5 11/53 50-1 20
Fax: +49 (0) 5 11/53 50-1 32
heinrich@item.fraunhofer.de

Assistent des Verbundvorsitzenden:
Dr. Claus-Dieter Kroggel
Tel: +49 (0) 5 11/53 50-1 03
Fax: +49 (0) 5 11/53 50-1 55
kroggel@item.fraunhofer.de

Fraunhofer Life Sciences Alliance

By pooling their main areas of expertise in the Fraunhofer Life Sciences Alliance (VLS), the Fraunhofer Institutes IBMT, IGB, IME and ITEM have joined forces to offer a broad range of methods and services.

Due to its extensive dialog with numerous collaborative partners in industry, the Alliance can effectively enhance its innovation capabilities. Moreover, the international orientation of the Alliance, which maintains branches in North America (IME) and China (IBMT), is a prerequisite for meeting the globalization challenges of today's business.

The key activities of the VLS business area „Process Development for Biological and Medical Applications“ include methods for an optimized production of recombinant pharmaceuticals and enzymes for industrial use with microbial, plant, animal, and human expression systems, and development and use of different biochips. Microsystem-based biohybrids, cryo-biotechnology, and membrane technology for effective substance separation are further important areas of research work.

On the basis of genome and proteome studies, the business area „Development and Testing of Pharmaceuticals and Medical Products“ aims at finding novel targets for diagnostic and therapeutic purposes, including cardiovascular diseases, metabolic disturbances, multiple sclerosis, allergies, tumor and autoimmune diseases. Within this context, the development of antibodies is of pivotal importance. The expertise of this business area also includes numerous pre-clinical, pharmacological and clinical (airway) research projects and registration studies, which can be carried out in accordance with GLP/GCP guidelines. Within its business area „Biomaterials

and Tissue Engineering“, the Alliance develops innovative ideas for bioadaptive materials, biomimetic interfaces, organoid cell systems, and implants; equally important, this business area focuses on the development of cell-based therapy approaches.

The fourth business area, „Environmental Biotechnology and Environmental and Consumer Protection“, deals primarily with toxicological and ecotoxicological studies as well as substance and risk assessments, including genetically modified organisms (GMOs) and food safety. Finally, emphasis is also placed on the development of biotechnological methods for decontamination of soil, water and air.



Fraunhofer Verbund
Life Sciences

Business Areas

- Process Development for Biological and Medical Applications
- Development and Testing of Pharmaceuticals and Medical Products
- Biomaterials and Tissue Engineering
- Environmental Biotechnology and Environmental and Consumer Protection

Contact

Fraunhofer Life Sciences Alliance

Spokesperson:

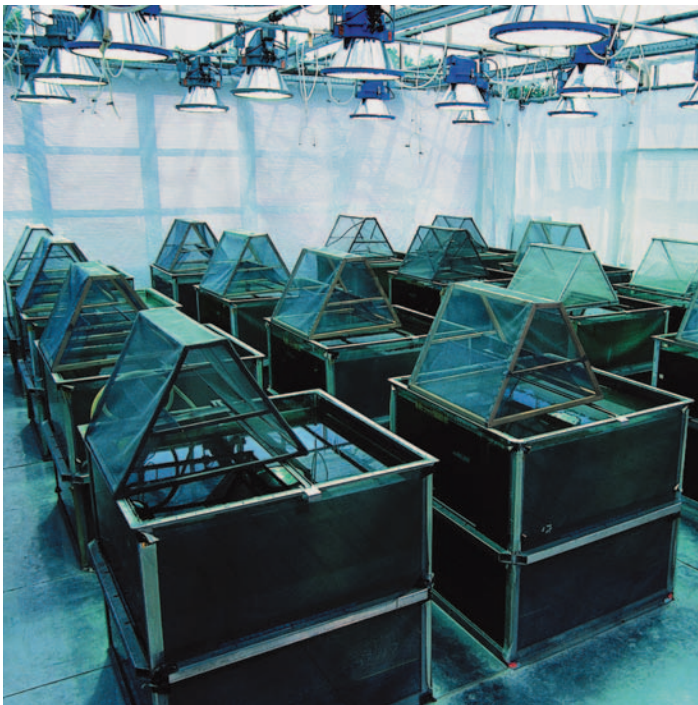
Prof. Dr. Dr. Uwe Heinrich
Nikolai-Fuchs-Straße 1
30625 Hannover / Germany
Tel: +49 (0) 5 11/53 50-1 20
Fax: +49 (0) 5 11/53 50-1 32
heinrich@item.fraunhofer.de

Executive Assistant to Spokesperson:

Dr. Claus-Dieter Kroggel
Tel: +49 (0) 5 11/53 50-1 03
Fax: +49 (0) 5 11/53 50-1 55
kroggel@item.fraunhofer.de

Forschungsarbeiten und Anwendungen 2004

Research Activities and Applications 2004



Ausgangssituation

Die Evolution von Viren ist eng verbunden mit der Evolution ihrer Wirtsorganismen. Die Adaption des Virus an vorgegebene Strukturen oder Mechanismen (z. B. Transportprozesse) im Wirt, gefolgt von einer Umprogrammierung zellulärer Reaktionswege zum Zweck der eigenen Virusvermehrung, stellt dabei einen bedeutenden Aspekt dar.

Zur Sicherstellung einer systemischen Infektion der Pflanze durch das Virus ist neben den Mechanismen zur Vermehrung des viralen Erbgutes (Replikation) vor allem der Transport des genetischen Materials von Zelle zu Zelle eine grundlegende Voraussetzung. Dieser als Kurzstreckentransport beschriebene Weg erfolgt durch Plasmodesmen, welche als Verbindungsglieder zwischen einzelnen Zellen fungieren und in der Pflanze für den interzellulären Transport verantwortlich sind. Um die Plasmodesmen zu passieren, verfügen Viren über Transportproteine, die mit den Plasmodesmen interagieren und sie modifizieren. Nepo- und Caulimoviren (Cowpea Mosaik Virus, CMV; Cauliflower Mosaik Virus, CaMV) bilden hierfür tubuläre Strukturen (Viro tubes) durch die Plasmodesmen, durch die das Virus in Form von Viruspartikeln hindurchgeschleust wird (siehe Figure 1).

In der virusinfizierten Pflanze erreichen Viro tubes einen Durchmesser von ca. 100 nm und Längen im µm Bereich. Der innere Kanal hat einen Durchmesser von etwa 50 nm, in welchem deutlich Viruspartikel zu erkennen sind. Interessanterweise ist das Wachstum sowie auch die Ausrichtung der Viro tubes steuerbar. Werden virusinfizierte Zellen räumlich voneinander getrennt (keine direkte Verbindung), so wachsen die Viro tubes solange bis die nächste Zelle erreicht wird. Für diesen Fall konnten Tubellängen bis zu 20 µm gefunden werden, die in Teil-

bereichen bis zu 90 Grad gebogen waren. Eine isolierte Zelle mit auswachsenden Viro tubes ist in Figure 2 dargestellt.

Projektbeschreibung

Für die Realisierung von mikrotechnischen Komponenten sind Strukturbreiten notwendig, die bereits unterhalb des Mikrometerbereichs liegen. Diese Strukturen lassen sich mittels Maskentechniken oder durch punktweise Bestrahlung herstellen. Beim Prototyping neuer Mikrokomponenten wird auch die Focussed Ion Beam Technologie (FIB) verwendet, die es erlaubt, bei gleichzeitiger elektronenmikroskopischer Abbildung die Oberfläche durch Ionenabtrag oder durch lokalisierte metallorganische Gasphasenabscheidung (MOCVD) zu strukturieren. Diese hauptsächlich in der TEM-Präparation eingesetzte aufwendige Technik kann auch zur Fertigung von Prototypen für Mikrosysteme eingesetzt werden. Daher sollen im Projekt mittels FIB-Technik Strukturen geschaffen werden, die es ermöglichen, die Wachstumsrichtung der Viro tubes gezielt zu ändern und Viro tube-Netzwerke mit definiert gewachsenen Formen herzustellen.

Ergebnisse

Zur Herstellung rekombinanter Viro tubes wurden Protoplasten mit entsprechenden GFP-Transportprotein-Konstrukten transfektiert und auf ihre Expression hin untersucht. Nach Einstellung optimaler Bedingungen zur Protoplastentransfektion wird zurzeit das Wachstum der Viro tubes in Mikrosystemen untersucht. Erste Ergebnisse werden in den nächsten Monaten erwartet.

Fazit

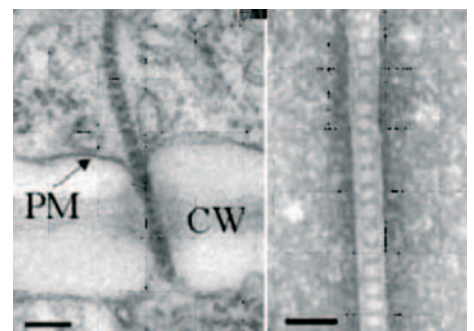
Bei einem der natürlichen Situationen vergleichbaren Wachstumsverhalten stellen Viro tubes eine ideale Alternative zu synthetischen Nanotubes dar.

Das Projekt wird vom Bundesministerium für Forschung und Technologie finanziert.

Kooperationspartner / Cooperation

Fraunhofer IWM Halle
PD Dr. Andreas Heilmann

Figure 1:
CMV-induced Viro tubes
PM: plasma membrane
CW: cell wall



Background

The evolution of viruses is closely linked to the evolution of its hosts. The adaptation of the virus to existing structures and/or mechanisms by reprogramming cellular pathways for its own multiplication is one of the striking features in the viral lifecycle.

In order to ensure a systemic infection of a host plant viruses have to spread their genetic information (DNA or RNA) from one cell to another. This process movement occurs via the plasmodesmata which build up specific channels between cells. To pass these channels viruses evolved certain strategies for carrying their genetic information from cell to cell by expressing so-called movement proteins. Nepo- and Caulimoviruses express tubular movement structures (Viotubes) through the plasmodesmata in which virus particles are transported (see Figure 1).

In virus infected plants such Viotubes reach a diameter of approximately 100 nm and a length in the μm dimension with a diameter of approximately 50 nm for the inner lumen where also virus particles can be detected. Interestingly, the length as well as the orientation of the Viotubes can be influenced by spatial separation of a virus-infected cell from a non-infected cell. By doing so Viotubes with a length of 20 μm were obtained with turns of about 90 degrees. Figure 2 shows an isolated and virus-infected cell.

Project Outline

For the realization of micro-technical components structures with a width in the micrometer dimension are absolutely mandatory. In technical applications, such structures can be produced for example by the focused ion beam technology (FIB), which allows a defined structuring of surfaces. In the project this technology will be applied to establish surface structures to force a defined network growing of Viotubes.

Results

Protoplasts were infected with different GFP-movement protein-constructs for the efficient production of recombinant Viotubes. After evaluation of the optimal transfection conditions, protoplasts were placed in the corresponding Microsystems. First results will be obtained within the next months.

Conclusion

Viotubes will be an ideal alternative to synthetic nanotubes if the growing pattern is comparable to the natural situation.

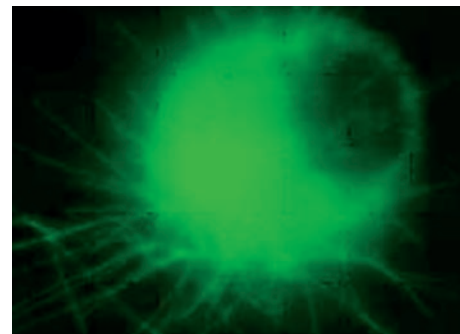


Figure 2:
CMV-infected protoplast with growing Viotubes

Contact / Ansprechpartner

Prof. Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Dr. Michael Knoblauch
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-1 28
michael.knoblauch@ime.fraunhofer.de

Humane Antikörper als Prävention gegen Karies

Hintergrund

Karies ist eine der häufigsten Zivilisationskrankheiten, von der heute über 95 % der Bevölkerung betroffen sind. Karies wird von Bakterien des Stammes Streptokokken, vornehmlich von *S. mutans*, verursacht. Karies kann effektiv durch eine passive Immunisierung verhindert werden. Für die Anwendung am Menschen wären humanisierte oder humane Antikörper von Vorteil, um eine Immunreaktion gegen das Therapeutikum so weit wie möglich zu vermeiden.

Projektbeschreibung

Der murine (von der Maus stammende) monoklonale Antikörper Guy13 bindet spezifisch an das SA/II Oberflächenantigen von *S. mutans* und verhindert dadurch die Besiedlung der Zahnoberfläche durch dieses Bakterium. Der Antikörper verhindert darüber hinaus die Entwicklung von Karies in Primaten und auch in Menschen, wie in klinischen Studien gezeigt werden konnte. Ein möglicher Nachteil dieses Antikörpers könnte jedoch die murine Herkunft sein. Aus diesem Grund haben wir die Antikörpergene des murinen Antikörpers durch Nutzung humaner Phage-Display Antikörperbibliotheken in einen humanen Antikörper umgewandelt, ohne die Spezifität oder sein Epitop zu verändern. Zuerst wurde die murine variable Region der schweren Antikörperkette amplifiziert und in eine naive humane leichte Antikörperketten-Phage-Display-Bibliothek kloniert und chimäre Antikörperfragmente mit Spezifität für SA/II selektioniert. Daraufhin wurde die murine schwere Kette nach dem gleichen Prinzip durch eine humane ersetzt.

Ergebnisse

Die durch den Phage-Display, 'chain-shuffling'-Ansatz (Figure 1) generierten humanen Antikörperfragmente erkennen das gleiche Epitop auf SA/II wie der murine monoklonale Antikörper Guy13. Darüber hinaus sind die Antikörperfragmente in der Lage, *S. mutans* zu agglutinieren (Figure 2). Damit haben diese humanen Antikörperfragmente das Potenzial, als Reagenzien zur Behandlung und/oder Prävention von Karies in z. B. Kaugummi oder Mundwasser eingesetzt zu werden.

Fazit

Klinisch relevante murine Antikörper lassen sich mittels humaner Antikörper Phage-Display-Bibliotheken und eines 'chain-shuffling' Ansatzes in eine humane Form überführen. Die humanen Antikörperfragmente sind spezifisch für ihr Antigen und haben das Potenzial, als passive Immuntherapeutika weiterentwickelt zu werden.

Das Projekt wurde durch die Industrie finanziell unterstützt.

Kooperationspartner / Cooperation

Professor Dr. Matthias Frentzen, Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde, Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Bonn

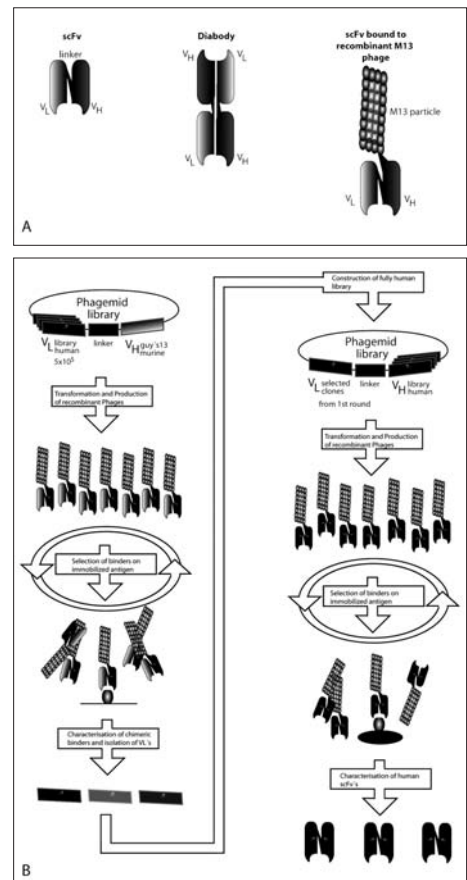


Figure 1: Construction and selection of human SA/II specific antibody fragments. A: Antibody formats: scFv, in which the variable regions of the antibody heavy and light chains are combined in the same polypeptide chain joined by a (Gly4Ser)₃ amino acid linker. The diabody construct consists of the antibody variable heavy and light chain domains linked by a ten-amino-acid linker (TGGGGSSAL), forcing the expressed domains to attach to a complementary chain in solution to create two antigen-binding sites. scFv presentation was carried out as a protein3 fusion of the M13 phage. B: Chain shuffling approach: The variable antibody domain is cloned into a phagemid vector containing a human antibody variable domain library. The selection on SA/II antigen was carried out for three consecutive rounds. Light chains participating in binding to SA/II were identified and cloned into a phagemid vector containing a human antibody heavy domain library. Selection on SA/II antigen for three rounds yielded fully human SA/II specific scFv antibody fragments.

Human Antibodies against *S. mutans*, the Causative Agent of Dental Caries

Background

Dental caries is one of the most common infectious human diseases affecting more than 95 % of the population. The main causative agent is a group of streptococcal species collectively described as the mutans streptococci. *Streptococcus mutans* has been identified as the major etiological agent of the disease. Common oral diseases and dental caries can be prevented effectively by passive immunization. In humans, passive immunotherapy may require the use of humanized or human antibodies to prevent adverse immune responses against murine epitopes.

Project outline

The murine monoclonal antibody Guy13 which specifically recognizes the SA/II protein of *S. mutans* and its relative *S. sobrinus* has been used successfully to prevent *S. mutans* colonization and the development of dental caries in non-human primates. The antibody also prevented bacterial colonization in human clinical trials. However, like other murine antibodies, a major limitation in clinical applications may be the human anti-mouse antibody response (HAMA), which can increase the rate of clearance and initiate allergic reactions.

We generated human derivatives of the murine Guy13 antibody using a chain-shuffling approach based on human antibody variable gene phage-display libraries. We took the variable gene regions of the original Guy13 monoclonal antibody and created human scFv and diabody derivatives by chain shuffling using human phage-display libraries. Firstly, the heavy chain variable gene of the Guy13 construct was introduced into a naïve human light chain phage display library to

select human light chains that, in combination with the murine heavy chain, showed binding specificity for the SA/II antigen. Once such chimeric antibodies had been selected, the murine heavy chain gene was replaced with the human counterpart by introducing the selected human light chain genes into a human heavy chain phage display library.

Results

The antibody derivatives were generated using a chain-shuffling approach (Figure 1) based on human antibody variable gene phage-display libraries. Like the parent antibody, these derivatives bound specifically to SA/II, the surface adhesin of the oral pathogen *S. mutans*. The human antibody fragments were expressed in bacteria as scFv and diabody derivatives and used to aggregate *S. mutans in vitro* (Figure 2). The diabodies were able to aggregate the bacteria and therefore have the potential to be developed as therapeutic agents to treat and/or prevent dental caries.

Conclusion

Humanization of murine antibodies can be achieved easily using phage display libraries. The human antibody fragments bind the antigen as well as the causative agent of dental caries. In addition, the human diabody derivative is capable of aggregating *S. mutans in vitro* making it a useful candidate as passive immunotherapeutic agent for oral diseases.

Patent

A diabody which specifically binds *Streptococcus* surface antigen I/II and methods of use thereof.
U.S. Provisional Application
No 60/564,396, 2004

Contact / Ansprechpartnerin

Dr. Ricarda Finnern
Tel: +49 (0) 2 41/9 63 21 30
ricarda.finnern@ime.fraunhofer.de

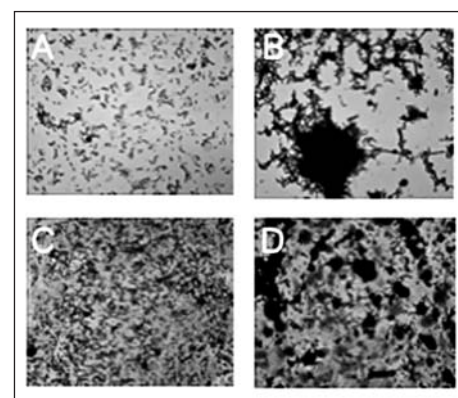


Figure 2:
Agglutination of *S. mutans* using antibodies.
A: Negative controls.
B: Murine monoclonal antibody Guy 13.
C: Negative control.
D: Human diabody antibody fragment.

In vitro Charakterisierung humaner anti-CEA scFv, diabody und Fab Antikörperfragmente

Hintergrund

Krebs ist nach den kardiovaskulären Erkrankungen die häufigste Todesursache. Die Marker, die das Vorhandensein eines malignen Prozesses anzeigen, werden als Tumormarker bezeichnet. Zu den onkofetalen Antigenen, die von Tumoren überproduziert werden, gehört z. B. das karzinoembryonale Antigen (CEA). CEA ist einer der wichtigsten Tumormarker bei der Diagnostik und Verlaufskontrolle vieler Tumorerkrankungen, z. B. des Darms, des Pankreas, des Magens, der Brust und der Lunge. Mittels Antikörper können Krebszellen direkt angegriffen oder andere Zellen und Funktionen der Immunabwehr aktiviert werden. Sie können auch mit Zellgiften oder radioaktiven Stoffen gekoppelt werden, um dann wie „Lenkwaffen“ diese Substanzen an die Krebszellen heranzubringen.

Antikörper in diagnostischen und therapeutischen Applikationen müssen verschiedene Anforderungen erfüllen. Mit Einführung rekombinanter Antikörpertechnologien war es erstmals möglich, inhärente Limitationen der Hybridomatechnologie zu überwinden. Zudem gestatten gentechnische Methoden, den modularen Aufbau von Antikörpern zu variieren. Mit der Phagen-Display-Technologie können Antikörperrepertoires hergestellt und Antikörper gegen fast jedes Antigen generiert werden.

Projektziel

Projektziel ist, ein modulares System aufzubauen, um unterschiedliche Antikörperformate für verschiedene Applikationen und Indikationsbereiche zu schaffen. Einzelkettenantikörper (scFv) sind z. B. wesentlich flexibler als Volllängenantikörper, penetrieren

Tumore besser, haben allerdings eine wesentlich kürzere Halbwertszeit. Darüber hinaus ist die Stabilität von scFv zu scFv variabel. Fab dagegen sind über Disulfidbrücken stabilisiert. ScFv und Fab sind monovalent; Oligomerisierung kann allerdings durch das Diabodyformat generiert werden.

Projektbeschreibung

Mittels einer humanen Einzelkettenphagenbibliothek wurde das Antikörperfragment scFv H10 gegen CEA selektioniert. Die Spezifität des Antikörpers wurde auch im Fab und diabody Antikörperformat durch Antikörperengineering hergestellt und *in vitro* in ELISA, Flowzytometrie und konfokaler Mikroskopie auf verschiedenen CEA-exprimierenden Tumorarten (MDA MB231) untersucht. Als Negativkontrollen wurden RAMOS- und HEK293T-Zellen eingesetzt.

Ergebnisse

Die über Phage-Display und Antikörperengineering generierten humanen Antikörperfragmente (scFv, diabody und Fab) erkennen CEA auf unterschiedlichen Tumorentitäten und in unterschiedlichen Assays (Figure 1, 2 und 3). Damit haben die humanen anti-CEA Antikörperfragmente das Potenzial, als Reagenzien zur Diagnose des CEA in unterschiedlichen Assaysystemen und bei der Diagnose verschiedener CEA exprimierender Tumorentitäten eingesetzt zu werden.

Fazit

Klinisch relevante Antikörper lassen sich mittels Antikörper Phage-Display-

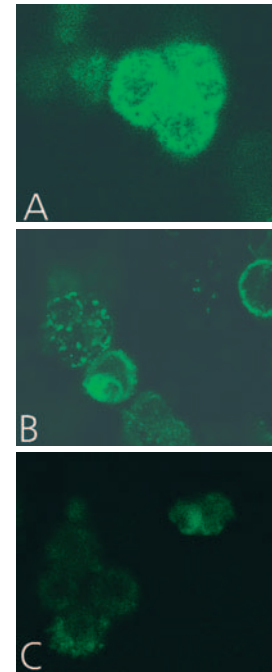


Figure 1:
Binding of the scFv antibody fragment to CEA expressed on the human breast cancer cell line ZR75-1 (A) and the colon cancer cell line LS174T (B). Negative control (C): human embryonic kidney cell line HEK293T.

Bibliotheken generieren. Die Antikörperfragmente binden spezifisch an ihr Antigen, auch wenn es auf unterschiedlichen Zelllinien bzw. Geweben exprimiert wird, und haben damit das Potenzial, als Diagnostika in unterschiedlichen Assays weiterentwickelt zu werden.

Die Arbeiten wurden mit Mitteln der Grundfinanzierung des IME durchgeführt.

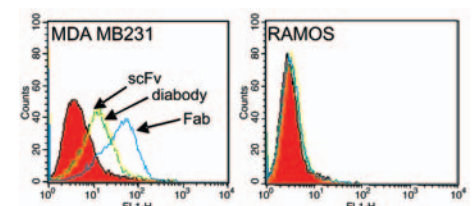


Figure 2:
Binding of scFv, diabody und Fab anti-CEA antibody fragments to CEA expressed on the surface of the human breast cancer cell line MDA MB231 and the Burkitt-Lymphom cell line RAMOS.

In vitro Characterization of Human anti-CEA scFv, Fab and Diabody Antibody Fragments

Background

The carcinoembryonic antigen (CEA) is expressed in a wide variety of adenocarcinomas, such as those occurring in the colon, rectum, pancreas, stomach, breast and lung, making it a valuable diagnostic and therapeutic target antigen. An essential requirement for the diagnostic and therapeutic applications of antibodies is a robust molecular format that is compatible with the diagnostic or therapeutic regime of interest. Single chain Fv (scFv) antibody fragments are significantly less rigid molecules than full size antibodies. However, the stability of different scFvs varies significantly. Fab fragments are structurally stabilized by a disulfide bond between the Fd fragment and the light chain. As both scFv and Fab antibody fragments are monovalent molecules, fragment oligomerization (as occurs in the diabody format) might be desirable for some applications leading to a significant increase in apparent affinity.

Antibody phage display libraries allow the selection of human scFv antibody fragments with ease. Moreover, applying genetic engineering allows the conversion of the initial scFv into other antibody formats if desired.

Goal

The goal is to provide a modular system for the generation of different antibody formats depending on the application mode and disease indication area.

Project outline

Anti-CEA scFv antibody fragments were selected from a naïve phage display library. ScFv H10 was selected for further

characterization and genetically engineered as a diabody and Fab antibody fragment. *In vitro* binding of anti-CEA-antibodies (scFv, diabody and Fab) was demonstrated by flow cytometry and confocal microscopy. Binding studies *in vitro* were carried out on CEA-expressing human colon cancer cells (LS174T), breast cancer cells (MDA MB231, ZR75-1), the lung cancer cell line H1373 and the pancreatic cancer cell line L3.6. RAMOS, a Burkitt lymphoma cell line and the HEK293T embryonic kidney cell line were used as negative controls.

Results

In western blots, affinity-purified scFv and diabody molecules could be detected as distinct protein bands of approximately 30 kDa. The light chain of the affinity purified Fab fragment containing the His6-tag could be detected at approximate 30 kDa, and the heavy chain at 50 kDa. Biological activity of the recombinant anti-CEA antibody fragments was verified by flow-cytometry and confocal microscopy (Figures 1, 2 and 3). Human anti-CEA recombinant antibodies bound to CEA on the breast cancer cell lines MDA MB231 and ZR75-1, the colon cancer cell line LS174T, the lung cancer cell line H1373 and the pancreatic cancer cell line L3.6., but not to the CEA-negative Burkitt Lymphoma cell line RAMOS and the embryonic kidney cell line HEK293T.

Conclusion

Human antibody fragments with clinical relevance can be generated with ease from phage display antibody libraries. Through genetic modification it becomes feasible to convert the initial

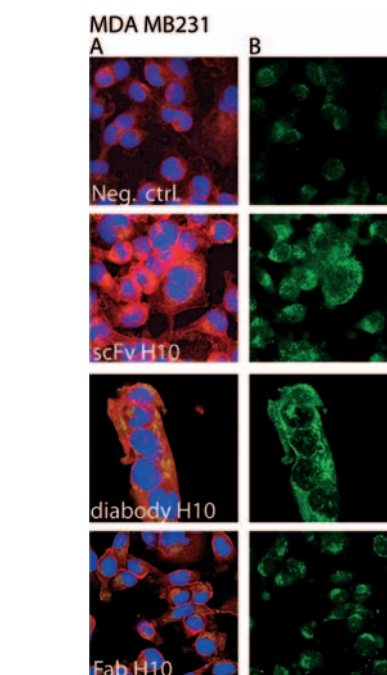


Figure 3:
Confocal microscopy on the breast cancer cell line MDA MB231. scFvs and diabodies were visualized using Alexa Fluor(r) 488-conjugated anti-His6-Tag antibody (green). The Fab was visualized using Alexa Fluor(r) 488-conjugated anti-human H+L chain. Counterstaining of the nucleus and cytoskeleton was performed with Draq5 (blue) and Alexa Fluor(r) 546 Phalloidin (red), respectively.
A: fluorescence of nucleus, cytoskeleton and anti-CEA-antibody binding;
B: fluorescence of anti-CEA-antibody binding.

antibody fragments, e. g. scFvs, into any kind of antibody format, including Fab, diabodies and full size antibodies. Different diagnostic and therapeutic applications might require different antibody formats. The decision might be dependent on e. g. the production rates and costs of production, stability, affinity or avidity, and pharmacokinetic properties.

Contact / Ansprechpartnerin

Dr. Ricarda Finnern
Tel: +49 (0) 2 41/9 63 21 30
ricarda.finnern@ime.fraunhofer.de

Tag54 – ein neuer Epitop-Tag zur Detektion und Reinigung von rekombinanten Proteinen



Figure 1:
Epitope Tag54 enables the detection and purification of recombinant proteins produced in plants.

Ausgangssituation

Die Daten aus der Genom- und Proteomforschung haben dazu beigetragen, dass die Herstellung und Nutzung von rekombinanten Proteinen in den letzten Jahren enorm zugenommen hat. Um die Detektion und Reinigung von rekombinanten Proteinen zu erleichtern, werden häufig Epitop-Tags eingesetzt. Dies sind kurze Peptidsequenzen, die durch Klonierung endständig an das rekombinante Protein gehängt und von einem monoklonalen Antikörper spezifisch erkannt werden. Durch den Einsatz von Epitop-Tags können viele verschiedene Proteine mit einem System detektiert und gereinigt werden, wodurch die aufwendige und teure Herstellung von spezifischen Antikörpern gegen unterschiedliche Proteine überflüssig wird.

Aufgabe

Die Verwendung von Epitop-Tags in Pflanzen (Figure 1) ist nicht ganz unproblematisch, da häufig Kreuzreaktionen des Nachweisantikörpers mit pflanzeigenen Proteinen auftreten. Ein leistungsstarkes und spezifisches Taggingsystem zur Detektion und Reinigung von rekombinanten Proteinen aus Pflanzen wäre daher ein großer Fortschritt.

Projektbeschreibung

Der monoklonale Antikörper mAk54 bindet spezifisch an ein 12 Aminosäuren langes Epitop der 54K Replikase des Tabak Mosaik Virus. Im Rahmen eines internen Forschungsvorhabens wurde dieses Epitop (Tag54) sowie der Tag54-spezifische Antikörper mAk54 als Taggingsystem für in Pflanzen produzierte rekombinante Proteine erprobt. Dazu wurde der Tag54 C-terminal an das Gen für ein Reporterprotein fusioniert und die Expressionskassette in einen Pflanzenvektor kloniert (Figure 2). Das Reporterprotein mit dem C-terminalen Tag54 wurde in Tabakblättern produziert. Anschließend wurden die löslichen Proteine extrahiert und das rekombinante Protein unter Verwendung des spezifischen Antikörpers mAk54 mittels Immunoblot und ELISA detektiert.

Ergebnisse

Mit dem neuen Epitop-Tag konnte im Pflanzenextrakt eine Menge von 1,2 ng mittels Immunoblot nachgewiesen werden (Figure 3). Ein wichtiges Ergebnis ist, dass die Detektion mit dem mAk54 zu keiner Kreuzreaktion mit pflanzeigenen Proteinen führt (Figure 3).

Dies zeigt die hohe Spezifität des Tag54/mAk54 Systems und unterstreicht dessen hervorragende Eignung für die Detektion von rekombinanten Proteinen in Pflanzenextrakten. Desweiteren konnten im ELISA bis zu 5,8 ng natives Reporterprotein nachgewiesen werden. Somit können mit dem neuen Taggingsystem sowohl denaturierte als auch native Proteine mit einer zu kommerziellen Epitop-Tags vergleichbaren bzw. besseren Sensitivität detektiert werden.

Zur Reinigung des getaggten Reporterproteins wurde eine mit dem mAk54 beladene Chromatographiesäule verwendet. In einem einzigen Schritt konnte das rekombinante Protein mit hoher Ausbeute und Reinheit aus dem rohen Pflanzenextrakt isoliert werden (Figure 4).

Fazit

Das hier vorgestellte Taggingsystem hat alle Eigenschaften, die für einen qualitativ hochwertigen Einsatz in der Detektion und Reinigung von in Pflanzen produzierten rekombinanten Proteinen notwendig sind. In fortführenden Experimenten soll die Eignung des Systems für weitere rekombinante Proteine und Expressionssysteme (Bakterien, Hefen, tierische Zellen) getestet werden.

Die Arbeiten wurden mit Mitteln der Grundfinanzierung des IME durchgeführt.

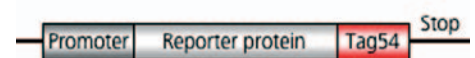


Figure 2:
Expression cassette encoding the reporter protein and C-terminal Tag54

Tag54 – a New Epitope Tag for Detection and Purification of Recombinant Proteins

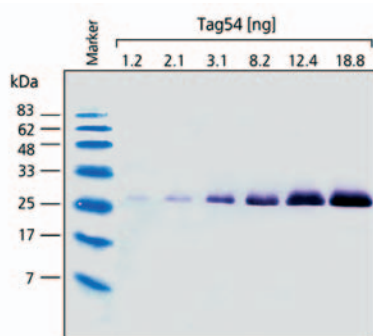


Figure 3:
The Tag54/mAb54 tagging system facilitates the sensitive detection of recombinant proteins in plant extracts. Serial dilutions of the reporter protein containing the C-terminal Tag54 have been analyzed.

Background

Data obtained from genomics and proteomics have led to an enormous increase in the production and use of recombinant proteins. To facilitate and improve the detection and purification of recombinant proteins, epitope tagging is an excellent and widely used method. Epitope tags are short peptide sequences fused terminally to the recombinant protein by cloning. They are specifically recognized by a monoclonal antibody. Using this procedure, many different proteins can be detected and purified without the tedious and expensive production of specific antibodies against each individual protein.

Aims

The use of epitope tags in plants (Figure 1) often causes problems due to the cross-reactivity of the detection antibody with endogenous plant proteins. Therefore, an efficient and specific tagging system for the detection and purification of recombinant proteins produced in plants would be a great advantage.

Approach

The monoclonal antibody mAb54 specifically recognizes a 12 amino acid long epitope on the 54k replicase protein from tobacco mosaic virus. Within an internal research project, this epitope (Tag54) and the corresponding Tag54-specific monoclonal antibody mAb54 were tested as a detection and purification system for recombinant proteins produced in plants. Therefore, the Tag54 DNA sequence was attached to the 3' end of a cDNA encoding a reporter protein, and the expression cassette was cloned into a plant expression vector (Figure 2). The reporter protein containing the C-terminal Tag54 was produced in tobacco leaves. Total soluble protein was extracted and the recombinant protein was detected using the specific antibody mAb54 by immunoblot analysis and ELISA.

Results

With this new epitope tag, recombinant protein levels of 1.2 ng can be detected in plant extracts by immunoblot analysis (Figure 3). Importantly, no cross-reactivity with plant-derived proteins was observed (Fig. 3) demonstrating the high specificity of the Tag54/mAb54 system and confirming its suitability for the detection of recombinant proteins in plant extracts. In addition, up to 5.8 ng of reporter protein was detected by ELISA indicating that the new tagging system allows detection of the denatured as well as native protein with a sensitivity comparable to or even better than commercial epitope tags. The tagged reporter protein was purified using a chromatography column loaded with mAb54. In a single step, large amounts of highly pure recombinant protein was recovered from plant extracts (Figure 4).

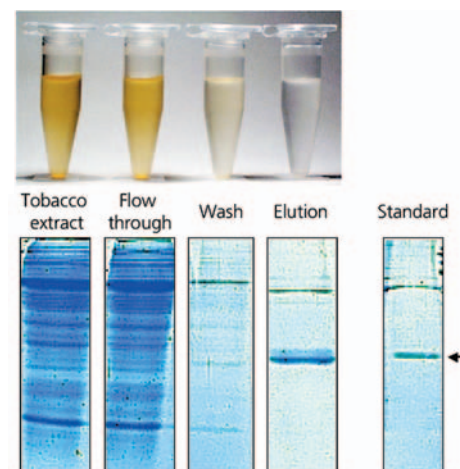


Figure 4:
Affinity purification of recombinant proteins using the Tag54/mAb54 system. Standard: 38 ng purified reporter protein produced in bacteria. The arrow indicates the position of the reporter protein after SDS-PAA gel electrophoresis.

Conclusions

The presented epitope tagging system possesses all characteristics required for the reliable detection and purification of recombinant proteins produced in plants. Future experiments will focus on testing the tagging system using other recombinant proteins and expression systems (bacteria, yeast, animal cells).

Contact / Ansprechpartner

Dr. Helga Schinkel
Tel: +49 (0) 241/80-28 125
helga.schinkel@ime.fraunhofer.de

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 241/80-281 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

Antikörper-vermittelte Pilzresistenz in Pflanzen

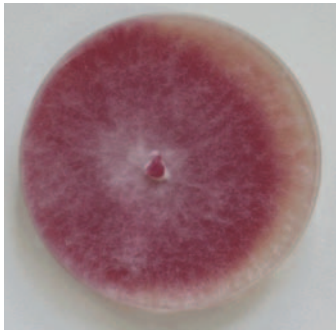


Figure 1:
Agar plate containing *Fusarium graminearum*

Ausgangssituation

Pilze der Gattung *Fusarium* (Figure 1) gehören zu den wichtigsten pilzlichen Erregern und verursachen verheerende Krankheiten bei Kulturpflanzen, die zu immensen Ernteaussfällen führen. Zudem produzieren diese Pilze gesundheitsgefährdende Mykotoxine, die mit dem Mehl in die Nahrung gelangen können und Krankheiten wie Leberschäden und sogar Krebs hervorrufen. Natürliche Resistenzen gegen *Fusarium* sind unzureichend, so dass gegenwärtig Fungizide eingesetzt werden, um den Schädling zu kontrollieren. Allerdings führt dies oftmals zu einer unerwünschten Belastung der Umwelt.

Aufgabe

Mit Hilfe der Gentechnik lassen sich nachhaltige und umweltschonende Ansätze zur Herstellung *Fusarium*-resistenter Nutzpflanzen verfolgen. So hat man versucht, antifungale Proteine und Peptide (AFPs) in transgenen Pflanzen zu produzieren. Tatsächlich führte dies zu einer Verzögerung des Pilzbefalls. In jüngster Zeit wurden in Pflanzen produzierte spezifische Antikörper (Plantibodies) erfolgreich zur Bekämpfung viraler Pathogene eingesetzt. In dem vorliegenden Projekt

wurden beide Ansätze kombiniert und Fusionen aus *Fusarium*-spezifischen Antikörpern und AFPs hergestellt, um resistente Pflanzen zu erzeugen.

Projektbeschreibung

Mittels der Phage-Display Technologie wurden Antikörperfragmente (scFv Antikörper) generiert, die gegen *Fusarium*-Proteine gerichtet waren. Auf genetischen Wege wurden die Gene, die für die scFv Antikörper kodierten, mit den AFP Sequenzen fusioniert und die Fusionsproteine in Bakterien produziert, um die rekombinanten Fusionsproteine bezüglich ihrer Eigenschaften zu charakterisieren. Anschließend wurden die Fusionsgene in das Pflanzen-genom eingebracht und die Produktion der rekombinanten Proteine sowie deren biologische Effekte bei Pilzbefall analysiert.

Ergebnisse

Mittels Immunofluoreszenz-Mikroskopie wurde nachgewiesen, dass die generierten scFv Antikörper spezifisch an die Oberfläche von *Fusarium*-Hyphen binden (Figure 2). Detaillierte Untersuchungen zeigten, dass die scFv Antikörper an unterschiedliche *Fusarium*-Arten binden, aber nicht an Pilze anderer Gattungen. Offensichtlich erkennt einer der scFv Antikörper ein bei *Fusarium*-Pilzen konserviertes Protein, was den Antikörper zu einem spezifischen aber auch universellen Werkzeug zur Detektion und Bekämpfung von verschiedenen *Fusarium*-Arten macht. Die Fusion mit einem AFP (z. B. Chitinase, ein Enzym, das die pilzliche Zellwand abbaut) führte in *in vitro* Experimenten zu einer effektiven Inhibierung des Pilzwachstums. Dabei war die antifungale Wirkung des Fusionsproteins

wesentlich höher als die des scFv Antikörpers oder des AFP alleine. Transgene *Arabidopsis thaliana* Pflanzen, die das scFv-AFP Fusionsprotein produzierten, zeigten eine vollständige Resistenz gegen *Fusarium* (Figure 3). Dagegen zeigten Pflanzen, die entweder den scFv Antikörper oder das AFP produzierten, nur einen verzögerten Befall. Nicht-transgene Pflanzen starben innerhalb kürzester Zeit ab.

Fazit

Antikörper-Fusionsproteine sind ein effizientes Mittel, um pilzliche Pflanzenschädlinge zu bekämpfen. Dabei wird die Wirkung der antifungalen Moleküle dadurch verstärkt, dass diese zielgerichtet durch das spezifische Antikörperfragment zu dem Eindringling transportiert und dort auf der Oberfläche angereichert werden. Inzwischen wurde das Fusionsprotein-Gen auch in das Genom von Reis- und Weizenpflanzen eingebracht (Figure 4). Die transgenen Pflanzen werden zurzeit eingehend untersucht. Die vorgestellte Technologie bietet eine Alternative zum chemischen Pflanzenschutz. Durch die Wahl geeigneter spezifischer Antikörperfragmente kann dieses System auch auf andere pilzliche Pathogene übertragen werden.

Das Projekt wurde vom Bundesministerium für Forschung und Technologie finanziert.

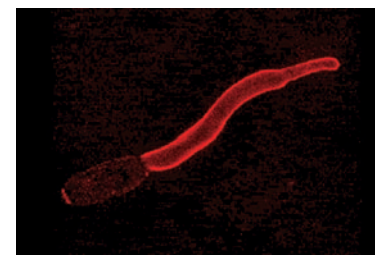


Figure 2:
Germinated fungi spore marked with a fluorescent antibody fragment

Antibody-mediated Fungal Resistance in Plants

Background

Fusarium spp. (Figure 1) are among the most important fungal pathogens of crops, and cause devastating diseases that result in significant crop losses. *Fusarium* spp. also produce mycotoxins, which can contaminate food and feed, resulting in diseases including liver damage and cancer. There is insufficient natural resistance against *Fusarium*, so fungicides have to be used to control the pest which can be damaging to the environment.

Aims

We have explored the use of genetic engineering to develop sustainable and environmentally-friendly *Fusarium*-resistant crop plants. Previously, anti-fungal proteins and peptides (AFPs) have been expressed in transgenic plants, and these provided moderate resistance against the fungi. More recently, antibodies produced in plants have been used to protect plants from certain pathogens. In this project, these two approaches were combined: genetic fusions of *Fusarium*-specific antibodies and AFPs were expressed in transgenic plants to mediate fungal resistance.

Project

In this project, phage display was used to generate antibody fragments (scFv antibodies) which were specific for *Fusarium* proteins. DNA sequences encoding such scFv antibodies were fused to sequences encoding AFPs and the chimeric constructs were expressed in bacteria to characterise the recombinant fusion proteins. The fusion constructs were then used to transform

plants, and the resulting transgenics were deliberately infected with *Fusarium* to test for disease resistance.

Results

Immunofluorescence microscopy showed that the scFv antibodies bound specifically to the surface of *Fusarium* hyphae (Figure 2). Detailed analysis showed that the scFv antibodies bound to various *Fusarium* species, but not to species of other genera. One scFv antibody recognized a conserved protein on the hyphal surface, making it a specific and universal tool for the detection of and defence against different *Fusarium* species. In *in vitro* experiments, the antibody-AFP fusion proteins were able to inhibit fungal growth (various AFPs were tested, e.g. chitinase, an enzyme that breaks down the fungal cell wall). The antifungal activity of the fusion proteins was higher than that of either the scFv antibody or the AFP used alone, or when both were supplied together as separate molecules. Transgenic *Arabidopsis thaliana* plants which produced the scFv-AFP fusion proteins showed total resistance against *Fusarium* (Figure 3). In comparison, plants which produced the scFv antibodies or AFPs alone succumbed to infection more slowly, while wild type plants died very soon after infection. Based on these positive results, we have transformed rice and wheat plants with the most promising constructs and these are now being tested (Figure 4).

Conclusions

Antibody fusion proteins are effective tools to defend plants against fungal diseases. The efficiency of the anti-fungal molecules was optimized by the presence of the fungus-specific antibody

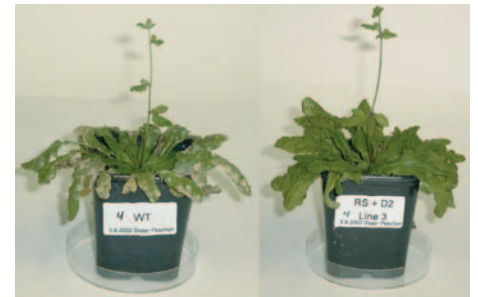


Figure 3: *Fusarium*-infected *Arabidopsis* plants 2 weeks after inoculation. Left, wild type; right, transgenic.

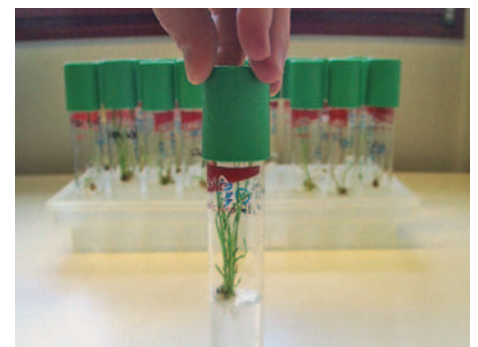


Figure 4: Regenerated transgenic crop plant

fragment, because this concentrates the antifungal molecules at the hyphal surface. This technology is a suitable alternative to chemical plant protection, and can be targeted to any fungal pathogen simply by exchanging the antibody component with another pathogen-specific antibody.

Patent application WO 03/089475:

Peschen, D., Liao, Y.C., Fischer, R., Schillberg, S.: Antibodies, recombinant antibodies, recombinant antibody fragments and fusions mediated plant disease resistance against fungi.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Dieter Peschen
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 30
dieter.peschen@ime.fraunhofer.de

Produktion eines Impfstoffs gegen das „Respiratory Syncytial Virus“ (RSV)

Ausgangssituation

Infektionen mit dem „Respiratory Syncytial Virus“ (RSV) führen in den USA jährlich zu nahezu 100 000 Krankenhausaufenthalten. Die daraus resultierenden Kosten belaufen sich auf 300 Millionen US Dollar. Global gesehen liegt der Prozentsatz der Krankenhauseinweisungen, die auf eine RSV-Infektion zurückgehen, sogar noch höher und ist mit einer Sterblichkeitsrate von ungefähr 5 % verbunden. Trotz aller Anstrengungen steht noch kein Impfstoff für RSV zur Verfügung. Da eine Infektion mit RSV nicht zu einer Immunität gegenüber dem Virus führt, können Patienten mehrfach mit RSV infiziert werden. Tatsächlich haben nahezu alle Kinder im Alter von zwei Jahren bereits eine RSV Infektion hinter sich und 50 % von ihnen erkranken erneut. Eine zweite Infektion geht darüber hinaus mit stärkeren Krankheitssymptomen einher. Diese Umstände verdeutlichen, dass die Entwicklung eines sicheren und wirksamen Impfstoffs keine leichte Aufgabe darstellt. Die Herstellung eines Impfstoffs, der eine gefährliche Infektion der unteren Atemwege mit RSV und somit die Anzahl von Krankenhauseinweisungen verringern würde, ist jedoch möglich.

Das Center for Molecular Biotechnology in Delaware verfolgt die Entwicklung eines RSV-Impfstoffs, der auf Peptidfragmenten basiert und produziert diesen mit Hilfe eines viralen Vektors in Pflanzenzellen. Durch diese Methode kann eine schnelle Optimierung und eine kostengünstige Herstellung von potenziellen Impfstoffkandidaten erreicht werden.

Projektbeschreibung

Ausgehend vom F-Protein des RS-Virus wurden überlappende Peptide generiert und als Fusionsproteine mit dem Hüllprotein (coat protein, CP) eines Pflanzenvirus exprimiert. Infizierte Pflanzenzellen stellen Viruspartikel her, die auf ihrer Oberfläche das Zielpeptid in großer Anzahl präsentieren. Die Viruspartikel können leicht aufgereinigt werden und verstärken zudem die spätere Immunantwort. Die gereinigten Viruspartikel wurden auf ihre Fähigkeit untersucht, sowohl eine zelluläre als auch eine antikörpervermittelte Immunantwort auszulösen. Wir gehen davon aus, dass diese Strategie neue Wege der Verabreichung von RSV-Impfstoffen bei Patienten ermöglicht.

Ergebnisse

Die beschriebenen Arbeiten wurden von einem Doktoranden aus Deutschland erfolgreich in unseren Labors am CMB durchgeführt. Die Resultate seiner Arbeit werden demnächst in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht. Es

wurde gezeigt, dass unsere Produktionsplattform sehr effizient zur Herstellung und Identifizierung von Impfstoffkandidaten eingesetzt werden kann. Basierend auf den bereits erzielten Ergebnissen kann diese Arbeit fortgesetzt und weitere Projekte initiiert werden.

Kooperationen

Für das Projekt wird mit zwei externen Partnern zusammengearbeitet. Das CMB stellt die Produktionsplattform für die Herstellung und die Darreichung der Impfantigene zur Verfügung. Diese Technologie ermöglicht eine rasche Selektion der Impfstoffkandidaten im Hochdurchsatz-Verfahren (high throughput, HTS). Eine Beurteilung der Wirksamkeit der Impfstoffkandidaten wurde von Dr. Dean Mann von der University of Maryland vorgenommen, entsprechende Tierversuche wurden an der Universität Delaware durchgeführt.

Figure 1: Plant growth facility



Production of a Vaccine against Respiratory Syncytial Virus in Plants

Background

Infections with Respiratory Syncytial Virus (RSV) cause nearly 100.000 hospitalizations in the United States annually, resulting in an estimated expenditure of \$ 300 millions per year. The rate of hospitalization due to RSV infections worldwide is even higher with mortality rates approaching 5 %.

Despite of all the efforts, there is no vaccine against RSV yet. This virus infects individuals repeatedly during their lifetime. For example, by two years of age almost all infants have been infected with RSV and 50 % of them are infected a second time, suggesting that natural infection with this pathogen does not result in protective immunity. Moreover, infection that follows immunization results in disease exacerbation. Thus, development of a safe and fully protective vaccine may not be an easy task. However, the development of a vaccine that will prevent severe RSV-infection of the lower respiratory tract and would significantly decrease hospitalizations is feasible.

The Center for Molecular Biotechnology in Delaware proposes to develop a multicomponent peptide-based subunit vaccine against RSV using a plant virus-based transient expression vector. This expression vector will enable rapid engineering and production of highly immunogenic candidate vaccines for screening and subsequent low-cost production.

Project outline

The RSV F protein was dissected into overlapping peptides that were cloned in frame with the open reading frame of the coat protein gene of a plant virus to produce target peptides as fusions with the plant viral coat protein (CP). In infected plant cells the CP subunits assemble and form virus particles that display multiple copies of a target peptide on their surfaces. Particle formation facilitates purification of recombinant peptides and in fact enhances immunogenicity. Purified recombinant virions were tested for their capability to generate both cellular and humoral immune responses. We believe this approach may validate the potential use of a novel RSV vaccine delivery vehicle in humans.

Results

A graduate student from Germany who conducted his Ph.D. thesis research at Fraunhofer CMB successfully carried out the project. The results will be published in peer-reviewed journals. The results showed that the Fraunhofer CMB's plant virus-based expression system is highly efficient for screening peptides that have a potential as vaccine candidates. Promising results have enabled continuation of the work and provided data for application for proposals.

Cooperations

The project is a team effort combining expertise from three groups. The Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology will contribute the technology platform for production and delivery of vaccine antigens, a technology that can be easily adapted for high throughput screening. Immunological assessment of recombinant plant virus particle-based antigens was conducted by Dr. Dean Mann (University of Maryland) and animal studies were conducted at the University of Delaware animal facility.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Vidadi Yusibov
Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology, Delaware
Tel: +1 302 369 3766
vyusibov@fraunhofer.org

Ausgangssituation

Medikamente gegen HIV, Diabetes, Tuberkulose und Tollwut sollen demnächst in Pflanzen sicher und kostengünstig produziert werden. Zwölf Millionen Euro hat die EU dafür bereit gestellt. Forscherteams aus elf Ländern Europas – darunter Biologen, Mediziner und Pharmazeuten aus Wissenschaft und Industrie – entwickeln jetzt gemeinsam eine komplette Produktionskette: vom Moleküldesign bis zum klinischen Test.

Prinzipiell sind Pflanzen ideale Pharmafabriken: preiswert, zuverlässig, einfach zu handhaben und frei von tierischen Krankheitserregern. Die Idee, Pflanzen als Produktionsstätten für medizinische Wirkstoffe einzusetzen, ist nicht neu. Tatsächlich gibt es weltweit mehrere Forschergruppen, die gezielt Proteine aus Pflanzen gewinnen. Doch der große Durchbruch ließ bisher auf sich warten.

Aufgabe

Jetzt hat sich ein internationales und interdisziplinäres Forscherteam zusammengefunden, das mit Unterstützung der EU gemeinsam einen integrierten Produktionsprozess erarbeiten und etablieren will. Am Beispiel von molekularen Wirkstoffen gegen Diabetes, Tuberkulose, Tollwut und den Immunschwächerreger HIV soll gezeigt werden, dass sich pharmazeutische Proteine in Pflanzen produzieren, ernten und isolieren lassen. Anschließend werden die Proteine in klinischen Studien getestet.

Professor Rainer Fischer vom Fraunhofer IME ist verantwortlich für das Management des EU-Projekts „Pharma-Planta“. Die wissenschaftliche Koordination übernimmt das renommierte King's College in London. Insgesamt sind an dem inte-

grierten Projekt des 6. Forschungsrahmenprogramms, das die Zusammenarbeit zwischen herausragenden Forschungseinrichtungen und Anwendern bei der Entwicklung neuer Ideen und Produkte fördern soll, 39 Forschergruppen beteiligt.

Bei der Produktion von Wirkstoffen gegen HIV, Diabetes, Tuberkulose und Tollwut betreten die Forscher jetzt Neuland: Die Genstücke, die den genetischen Code für die Bildung von HIV-Antikörpern oder HIV- und Tollwut-Antigenen enthalten, sind zwar bekannt, doch diese wurden nie zuvor in Pflanzenzellen produziert. Um die ganze Produktionskette vom Moleküldesign bis zum klinischen Test zu etablieren, haben die Forscher insgesamt nur fünf Jahre Zeit. Das Projekt begann im Februar 2004.

Ergebnisse und Ausblick

Die genmanipulierten Mais- und Tabakpflanzen werden derzeit in Gewächshäusern herangezogen. Nach der Ernte können Biochemiker am IME in Aachen die Proteine extrahieren und anreichern. Die Wirkung der gereinigten Proteine wird anschließend von Medizinern an verschiedenen Instituten und Kliniken umfassend analysiert. Erst wenn die entsprechenden Untersuchungen abgeschlossen sind, können die Pflanzen im großen Maßstab im Freiland angepflanzt werden. In fünf Jahren sollen die ersten vorklinischen Studien abgeschlossen sein. Weiter wird man im Projekt „Pharma-Planta“ leider nicht kommen. Die Intention der EU ist es, die Zusammenarbeit zwischen den diversen „Centers of Excellence“ zu fördern, das Interesse der pharmazeutischen Industrie zu wecken und die europäische Forschung im Bereich „Molecular Farming“ weiter voranzubringen.

Bevor pharmazeutische Wirkstoffe im großen Maßstab aus Pflanzen gewonnen werden können, müssen jedoch noch einige grundsätzliche Fragen geklärt werden. Welche Standards, Sicherheitsaspekte und Richtlinien sollen bei der Pflanzenproduktion gelten? Wie lassen sich die in Blättern und Samen produzierten Proteinmengen steigern? Mit welchen Verfahren kann die Ausbeute bei der Extraktion verbessert werden? Die Forscher des EU-Konsortiums wollen in den nächsten Jahren Antworten auf diese Fragen finden. Mit Abschluss des Projekts soll das „Molecular Farming“ dann soweit entwickelt und etabliert sein, dass eine Protein-Produktion im großen Maßstab zumindest theoretisch möglich ist.

EU-Projekt Nr. LSHB-CT-2003-503565.



Figure 1:
Corn and tobacco are the favoured plant systems for the production of pharmaceutical proteins.

EU Project PHARMA-PLANTA

Field-grown Medicine

Background

One day in the very near future it may be possible to grow drugs against HIV, diabetes, tuberculosis and rabies in fields. The EU has set aside 12 million Euros for a consortium of multidisciplinary research groups in 11 European countries – comprising biological and medical scientists, pharmacologists and other specialists from science and industry – to work on the development of a complete production chain: from molecular design to clinical trials.

In principle, plants could be ideal pharmaceutical factories: economical, reliable, easy to handle and safe, as they are free of animal and human pathogens. The notion of using plants as living factories for the production of medicines is not new. Several research groups in various parts of the world are already experimenting with plants that produce specific proteins. But the great breakthrough has yet to be achieved.

Aims

As a recently-formed international, interdisciplinary research consortium, „Pharma-Planta“ expects to achieve significant results through an EU-sponsored project to design and implement an integrated production process. The consortium intends to demonstrate that it is possible to produce, harvest and isolate pharmaceutical proteins in plants. The proteins will be tested in subsequent clinical trials. The project will concentrate on drugs to combat afflictions of truly global proportions including the human immunodeficiency virus (HIV), diabetes, tuberculosis and rabies. Prof. Rainer Fischer from the Fraunhofer IME is responsible for the administra-

tive co-ordination of the EU „Pharma-Planta“ project, while its scientific coordination is entrusted to the renowned King's College in London. In total, 39 research groups are taking part in this integrated project – part of the EU's 6th Framework Program which aims to promote collaboration between outstanding centers of research and end users in the development of new ideas and products.

With their project to produce active agents against HIV, diabetes, tuberculosis and rabies, the researchers are venturing into new territory. Although the DNA sequences containing the genetic code for the generation of HIV antibodies and rabies antigens are known, they have never before been produced in plant cells. To cover the entire production chain from molecular design to clinical trials, only five years' funding are available. The project started in February 2004.

Results and Outlook

The genetically modified maize and tobacco plants containing the first outputs of the consortium's research are currently cultivated in greenhouses. Upon harvesting, biochemists at the IME in Aachen will be able to extract and purify the proteins. Then medical scientists at various institutes and clinics will extensively study the activity and efficacy of the purified proteins. Plants will be cultivated on a large scale outdoors when the appropriate investigations have been completed. The first pre-clinical studies will have been performed by the time the project ends in five years time. Unfortunately, it will be not possible to proceed any further within the context of the „Pharma-Planta“ project. The explicit aim of the EU program is to promote collaboration among centers of excellence, awaken the interest of the pharmaceutical



Figure 2:
3D structure of an antibody molecule.
Antibodies recognizing HIV are the key target proteins of the project.

industry, and advance European research in molecular farming techniques.

Despite the positive outlook from this project, a number of fundamental issues still need to be resolved before pharmaceutical products can be manufactured on a large scale in plants. What standards, safety issues and guidelines should be applied to this type of process? How can plants be made to increase the quantity of protein produced in their leaves and seeds? Is there an extraction process that will improve the yield? The researchers intend to find answers to all of these questions. By the time the project ends, there will be enough progress in molecular farming to validate the manufacturing of proteins on a large scale in plants.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Stefan Schillberg
Tel: +49 (0) 241/80-281 28
stefan.schillberg@ime.fraunhofer.de

GMP-gerechte Herstellung von Wirkstoffen für klinische Prüfungen



Figure 1:
Construction work in the new GMP building

Hintergrund

Neben der Suche nach neuen niedermolekularen Wirkstoffen ist die Entwicklung rekombinanter Protein-basierter Wirkstoffe die wichtigste Quelle für die Medikamente der Zukunft und der Schlüssel zu neuen Therapien. Diese „Biopharmaceuticals“ sind üblicherweise natürlichen Proteinen identisch oder von diesen durch Modifikationen, die ihre Eigenschaften verbessern oder neue hinzufügen, abgeleitet. Die Herstellung biotechnologischer Wirkstoffe erfolgt mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen, wobei die Wahl des Produktionssystems von den Produkteigenschaften abhängt und die Spanne von Bakterien bis zu Säugetierzelllinien reicht. Wie niedermolekulare Wirkstoffe müssen Biopharmaceuticals einen Zulassungsprozess durchlaufen, der klinische Prüfungen beinhaltet. Dafür müssen die Wirkstoffe nach den Regeln guter Herstellungspraxis (GMP= Good Manufacturing Practice) produziert werden.

Projektziel

Die Entscheidung, im Rahmen des Neubaus des Fraunhofer IME in die

Errichtung eines GMP-Technikums zur Herstellung von biotechnologischen Wirkstoffen zu investieren, war von der Einsicht in den Prozess der Entwicklung biotechnologischer Wirkstoffe getrieben. Zwischen der Entwicklung von Wirkstoffen im Labor und der Produktion im industriellen Maßstab für den Markt klafft eine Lücke in der weltweit verfügbaren Kapazität zur Produktion ausreichender Mengen für klinische Prüfungen unter GMP, da die Errichtung und Bereithaltung der Anlagen sich häufig aus Zeit- und Kostengründen verbietet. Mit seinem GMP-Technikum stellt das IME die auf dem Markt für Biopharmazeutika benötigte Produktionskapazität zur Verfügung und wird damit seine Stellung als professioneller Partner der Pharmaindustrie weiter ausbauen, aber auch Eigenentwicklungen des IME erleichtern.

Stand des Projekts

Die Planung der GMP-Anlage erfolgte unter Einbeziehung der Zulassungsbehörde am Regierungspräsidium Köln und eines spezialisierten Planungsbüros. Die in einer Vorstudie erarbeiteten Rahmenbedingungen wurden in ein Gesamtkonzept umgesetzt, das auf ca. 600 m² Reinraumfläche der Klassen D und C den parallelen Betrieb zweier komplett getrennter Produktionslinien für rekombinante Proteine erlaubt. Eine dieser Linien ist auch für die Arbeit mit tierischen Zellkulturen geeignet. Diese Prozesse erfordern im downstream-processing-Bereich die räumliche Trennung der Prozessschritte vor und nach Virusinaktivierung. Die Produktion kann mit der Herstellung von Master-Zellbänken beginnen und führt bis zum keimarmen „bulk“-Produkt, das kundenseitig formuliert, abgefüllt und gelabelt werden kann. Der Prozessmaßstab wurde mit bis zu 350 L Fermentationsvolumen so gewählt,

dass bei entsprechenden Produktivitäten die für klinische Prüfungen erforderlichen Mengen in ein- bis dreimonatigen Kampagnen hergestellt werden können. Die zuständigen Behörden stimmten dem Konzept zu. Die Arbeiten sind zu Beginn des Jahres 2005 bis zur Fertigstellung der Reinraumwände, -decken und -böden fortgeschritten. Die Beschaffung der Großgeräte (Fermenter, Separator, Chromatographie, Filtration und Reinstwasseranlagen) ist in die Wege geleitet. Bei planmäßigem Fortschritt der Arbeiten wird in der Jahresmitte die Aufstellung und Inbetriebnahme der Geräte erfolgen, danach schließen sich die Qualifizierung der Anlagenbestandteile und ein Musterprozess zur Validierung an. Daraufhin soll die erste Herstellungserlaubnis für bestimmte Produkte beim Regierungspräsidium beantragt werden. Zurzeit finden Gespräche mit mehreren Unternehmen und Partnern aus Forschung und Entwicklung statt, die an der Nutzung der Anlage interessiert sind.

Fazit

Mit der Errichtung eines Multi-purpose GMP-Technikums treibt das IME die Positionierung in einem markt- und zukunftsorientierten Bereich der Biotechnologielandschaft weiter voran. Die der Planung der Anlage zugrunde liegenden Annahmen werden in der 2004 vom BMBF in Auftrag gegebenen Studie „Bedarfsanalyse für die Verfahrensentwicklung und Produktion biotechnisch hergestellter Produkte nach GMP-Richtlinien unter besonderer Berücksichtigung der öffentlich geförderten Forschung“ (Capgemini, 2004) bestätigt. Mit der Realisierung der Anlage besteht die Möglichkeit, die in der Studie geforderte Struktur eines „GMP-Kompetenzzentrums“ am IME zu entwickeln.

GMP-compliant Manufacturing of API for Clinical Trials

Background

The search for new and improved therapies for diseases depends on the development of recombinant protein-based biopharmaceuticals as the most important source for novel recombinant pharmaceuticals and future therapeutic interventions. These peptides or proteins are identical to natural compounds, or are derived from them by modifications that improve their properties or add new functions e. g. by combination with another protein or protein domain. Biopharmaceuticals are produced using genetically modified organisms. The choice of organism or „expression host“ depends on the properties of the recombinant product and ranges from bacteria to animal cell cultures. Biopharmaceuticals need to undergo an approval process similar to small molecule drugs. The clinical trials that are part of this approval process require the production of the compound according to pharmaceutical Good Manufacturing Practice (GMP).

Project aim

The decision to invest in a multi-purpose GMP-compliant production facility for recombinant proteins at the IME was driven by analysis of the biopharmaceuticals development process: The capacity for this kind of production was – and still is – limited worldwide, since the construction and maintenance of such facilities is often prohibited by cost and time constraints. The IME plans to position itself as a professional partner for pharmaceutical companies by providing GMP production capacity and to expand on the business areas linked to the production of biopharmaceuticals. This will occur alongside the development of its proprietary protein-based biopharmaceuticals.

Status quo

Planning the facility took place in close cooperation with the regulatory authorities and with the help of an engineering consultant. A feasibility study was carried out and used as a basis for the detailed engineering and realization. Approximately 600 m² of class C and D clean room area was built to host two completely separate production lines, which can be operated in parallel with different products. One of these lines is suitable for processes based on animal cell cultures, an expression host that requires separate rooms for pre- and post-viral inactivation purification steps in the downstream processing of the product. A production campaign optionally starts with the generation of a master cell bank and ends with the bulk product ready for fill/finish and labeling by the customer. The process scale (350 L fermentation volume) was defined to allow – reasonable productivity provided – the production of the amount of active pharmaceutical ingredients (API) necessary for clinical trials in campaigns lasting approximately 1 to 3 months. This concept was approved by the authorities in a presentation in early 2004 before the start of the actual construction work.

In January 2005 the installation of clean room ceilings, walls and floors and the sophisticated HVAC and clean air generation system is almost complete. The commissioning of core process equipment (fermentation trains, separator, chromatography and filtration devices and clean water generation) has been initiated. Installation and start-up of these devices is scheduled for May/June with subsequent qualification of facilities and equipment. This will be followed by running a model process for validation purposes, which will lead into the approval of the facility for the production



Figure 2:
Working cell bank of a bacterial expresser clone

of biopharmaceuticals. Presently, negotiations are ongoing with partners from industry and R&D who have expressed their interest in the use of the facility.

Conclusions

With the construction of a multi-purpose GMP facility, the IME has set a milestone in positioning itself in today's biopharmaceutical production landscape. The market analysis that had sparked the planning and realization was confirmed in a study commissioned by the BMBF in 2004: „Bedarfsanalyse für die Verfahrensentwicklung und Produktion biotechnisch hergestellter Produkte nach GMP-Richtlinien unter besonderer Berücksichtigung der öffentlich geförderten Forschung“. With the realization of the facility, IME will see itself in a position to further develop the structure of a „Kompetenz-zentrum GMP“, as proposed in this study.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Stephan Hellwig
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 14
stefan.hellwig@ime.fraunhofer.de

Dr. Jürgen Drossard
Tel. +49 (0) 2 41/80-2 81 14
juergen.drossard@ime.fraunhofer.de

Herstellung von Biodiesel aus Prionen-kontaminierten Tierfetten



Ausgangssituation

Aufgrund des Auftretens von BSE in Europa wurde die Herstellung von Tiermehlen aus Schlachtabfällen und Tierkadavern durch zahlreiche Verordnungen stark eingeschränkt. So muss seit Oktober 2000 in der EU bei der Schlachtung anfallendes spezifiziertes Risikomaterial (SRM) wie Schädel, Hirn, Rückenmark, Milz, Augen, Mandeln und der gesamte Darm aufgrund einer möglichen Gefährdung einer Prionenkontamination entfernt und zerstört werden. Die Verwendung von tierischen Proteinen und Fetten in Futtermitteln in Deutschland ist seit Dezember 2000 verboten. Das Verbot von tierischen Proteinen in Futtermitteln trat EU-weit Januar 2001 in Kraft. Seit März 2001 ist es verboten, verendete Tiere oder Tiere, die zur Kontrolle von Krankheiten getötet werden, zur Produktion von Futtermitteln zu verwenden.

Durch die EU-Verordnung zur Regulation tierischer Nebenerzeugnisse (EU Animal By-Products Regulation (ABPR) No. 1774/2002), die im November 2002 in Kraft trat, wird tierisches Rohmaterial abhängig vom möglichen Gefährdungsgrad und der Verwendungs- bzw. Behandlungsvorschriften in drei Kategorien eingeteilt.

Fette, die der Kategorie I zugerechnet werden und hauptsächlich aus SRM stammen – und entsprechend ein

hohes BSE-Risiko aufweisen – müssen derzeit vollständig zerstört werden. Fette der Kategorie 2 können in der Industrie verarbeitet werden, während Fette der Kategorie 3 auch als Futtermittel Verwendung finden können.

Projektziel

In der EU-Verordnung zur Regulation tierischer Nebenerzeugnisse war der katalytische Biodieselprozess (Figure 1) als mögliches Verwendungsverfahren für Fette der Kategorie I und II zunächst nicht vorgesehen. Um eine solche Einsatzmöglichkeit zu erwirken, ersuchte die SARIA Bio-Industries AG die EU-Kommission, ein derartiges Verfahren als Alternativmethode auch für Material der Kategorie I zu evaluieren.

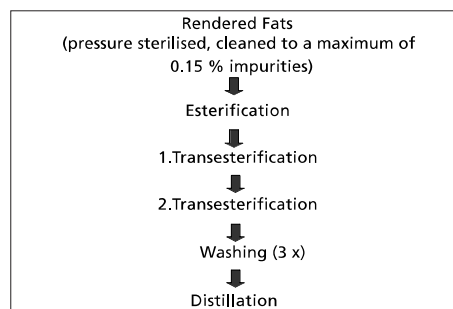


Figure 1: Scheme of the biodiesel process

In Kooperation mit dem Fraunhofer IME wurden Laboruntersuchungen durchgeführt, die die Reduktion von pathogenen Prionen während des Biodieselerstellungsschrittes belegen sollten.

Die chemischen Schlüsselschritte des Verfahrens, die Vorveresterung und die beiden Umesterungsschritte, wurden nach Zugabe von Scrapie-infiziertem Hamsterhirn durchgeführt (Figure 2). Der verwendete Scrapie-Stamm 263K repräsentiert den Prototyp der pathogenen PrP^{Sc}-Erregerstämme und wird standardmäßig in Studien eingesetzt, die sich mit der Erforschung des TSE- (spongiforme Enzephalopathie) Erregers

beschäftigen. Weiterhin weist Scrapie-infiziertes Hamsterhirn mit 10^9 ID₅₀/g (ID: infektiöse Dosis) eine sehr hohe Erregerkonzentration auf. Der höchste Titer, der in BSE erkrankten Rindern gemessen wurde, lag in der klinischen Phase der Erkrankung zwischen $10^{5,7}$ - $10^{7,7}$ ID₅₀.

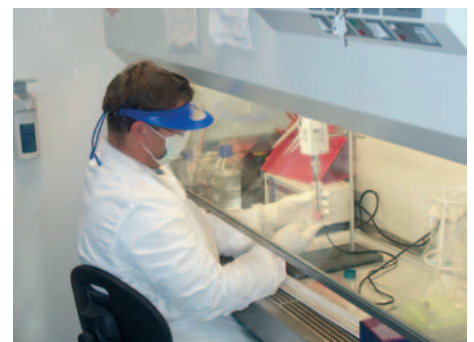
Ergebnisse

Die Ergebnisse (Table 1) belegen eindeutig, dass die Bedingungen des katalytischen Biodieselerstellungsschrittes zu einer signifikanten Reduktion pathogener Prionen führt. Eine Reduktion der Prionenkonzentration von mehr als 10^{22} ID₅₀ bezogen auf den Biodiesel und von mindestens 10^{10} ID₅₀ für die entstehenden Nebenprodukte konnte nachgewiesen werden.

Auf Grundlage dieser Ergebnisse befand die Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde (European Food Safety Authority, EFSA) am 2. Juni 2004, dass die Herstellung von Biodiesel, auch aus Fetten der Kategorie I, sowie die dabei entstehenden Nebenprodukte Kaliumsulfat und Glycerin, hinsichtlich der Gefahr pathogener Prionen als sicher anzusehen ist.

(http://www.efsa.eu.int/science/bio-haz/biohaz_opinions/471_en.html)

Das Projekt wurde finanziert von SARIA Bio-Industries AG & Co., Selm.



Production of Biodiesel from Prion-contaminated Animal Fats

Background

Following outbreaks of BSE in Europe, the production of animal meal from animal by-products and carcasses was restricted by numerous regulations. Since October 2000 in the EU, specified risk material (SRM) like skull, brain, spinal cord, spleen, eyes, tonsil and the complete colon must be removed and destroyed due to the danger of a possible prion contamination. In Germany, animal proteins and fats in feed have been forbidden since December 2000, and since January 2001, the EU has a feed ban for animal proteins. Since March 2001, it has been forbidden to use fallen stock or infected animals killed on the farm for the production of feed. The EU Animal By-Products Regulation (ABPR, Regulation (EC) No. 1774/2002), which came into force in November 2002, divides the raw materials into three categories. These depend on potential hazards and respective directions for use and working instructions. Fats assigned to category 1, which mainly comprise SRM, have to be destroyed, whereas category 2 and category 3 fats are allowed for use in the oleochemical industry, and category 3 fats are allowed for use as animal food.

Project Aim

Because the ABPR does not include the catalytic biodiesel process as a direction of use for fats assigned to category I and II, SARIA Bio-Industries AG asked the EU-Commission to perform an evaluation of the method to be applied as an alternative for category I material. In co-operation with the Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Ecology (IME) in Schmallenberg, tests were carried out to prove the reduction of prion protein infectivity during the biodiesel process, which was down-scaled to a laboratory scale (Figure 2). The chemical key steps, the esterification and the two transesterification

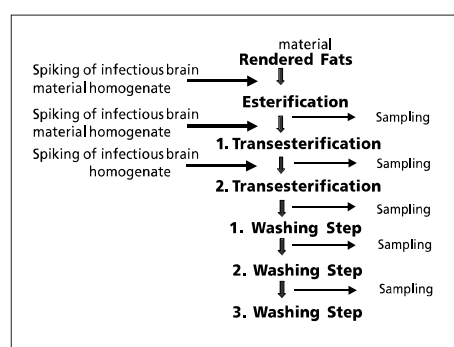


Figure 2:
Scheme of incubation and sampling for testing the esterification reaction under laboratory-scale conditions

steps, were conducted using scrapie-infected hamster brain. The scrapie strain 263 K used in the study represents the most widely investigated pathogenic PrP^{Sc} strain and is used as a standard strain in research projects dealing with TSEs (spongiform encephalopathies). Additionally, with more than 10^9 ID₅₀/g, scrapie-infected hamster brain shows an unusually high concentration of PrP^{Sc}. The highest infectivity titre for natural BSE cases in a clinical stage are $10^{5.7} - 10^{7.7}$ ID₅₀.

Results

The results presented in Table 1 for the first time show that the conditions of a catalytic biodiesel process lead to a significant reduction of prion infectivity. A risk reduction of more than 10^{22} ID₅₀ for the biodiesel and at least 10^{10} ID₅₀ for by-products can be demonstrated (Table 1).

Following these experiments, the European Food Safety Authority (EFSA) stated in June 2004 that the production of biodiesel including the by-products potassium sulphate and glycerine is safe for the treatment of category 1 fats. (http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/471_en.html)

Table 1: Reduction in the infectivity of the pathogenic prion protein during the biodiesel process

Process Step	Reduction of Infectivity ID ₅₀
	Own results/literature
Pressure sterilisation according to method 1	approx. $10^3 - 10^5$
Separation and purification of the fat (0,15 % impurities)	approx. 10^3
Esterification	$>10^4$
First transesterification	$>10^4$
Second transesterification	$>10^4$
Washing steps	each washing step $10^1 - 10^3$
Distillation	10^1 (SSC assessment)

Contact / Ansprechpartner

Dr. Björn Seidel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 30
bjoern.seidel@ime.fraunhofer.de

Dr. Werner Kördel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 17
werner.koerdel@ime.fraunhofer.de

Untersuchung der im Boden ablaufenden Transformations- und Transportprozesse bei Rüstungsaltslasten

Hintergrund

In der Bundesrepublik gibt es über 72 Rüstungsaltslastenstandorte mit zum Teil beträchtlicher Ausdehnung. Partiiell wurden bisher die Kernzonen saniert bzw. gesichert. Dieser technische und finanzielle Aufwand ist jedoch für weniger stark kontaminierte Randbereiche nicht möglich, zumal Teile dieser Bereiche als Industrie- und Siedlungsgebiete genutzt werden. Es gilt daher abzuklären, inwieweit die im Boden vorliegenden sprengstofftypischen Verbindungen (STV) in einem überschaubaren Zeitraum abgebaut werden, welche toxikologisch relevanten Metabolite entstehen und wie hoch der Eintrag der STV und deren Metabolite in das Grundwasser ist.

Konzept

In einer aufeinander aufbauenden Versuchshierarchie von Labor-, Großsäulen- und Freilandlysimeterversuchen mit gestörten und ungestörten Bodenkernen verschiedener Standorte wird der natürliche Rückhalt und Abbau von STV untersucht. Dabei wird deren milieuhängige Transformation und Mobilität erfasst und es werden Prognosemodelle erstellt. Dargestellt werden Metabolismusuntersuchungen von STV in Freilandlysimetern. Die STV (TNT; 2,4-DNT; 2,6-DNT und 2-NT) wurden dazu in Konzentrationen von 10 mg/kg Boden

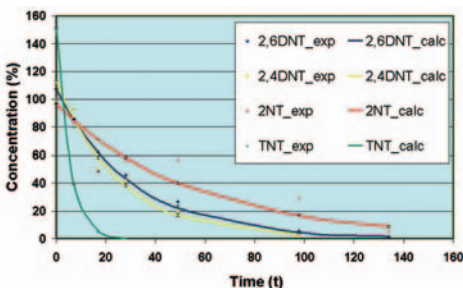


Figure 1: Degradation of nitroaromatics

in den Oberboden der mit einer Parabraunerde gefüllten Lysimeter eingearbeitet.

Ergebnisse

Figure 1 zeigt die Abbaugeschwindigkeit der vier Nitrotoluole. Der wichtigste erste Umwandlungsschritt besteht dabei in der Reduktion einer Nitrogruppe. Wie erwartet, wird TNT als die Verbindung mit dem höchsten Oxidationspotenzial am schnellsten zu Monoamino-dinitrotoluol reduziert. Hierbei liegt die Halbwertszeit im Boden unter 10 Tagen. Am langsamsten wird Nitrotoluol zu Aminotoluol reduziert. In den Boden- und Sickerwasserproben, die über den Versuchszeitraum von 6 Monaten genommen wurden, konnten die in Table 1 aufgeführten Metabolite nachgewiesen werden. In der Tabelle sind die jeweils gemessenen höchsten Konzentrationen im Sickerwasser der Lysimeter angegeben.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass die polaren Metabolite im Bodenprofil mobil sind und ausgetragen werden.

Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass im Boden mehr oder weniger gleichzeitig Reduktionen, Oxidationen und kovalente Bindungen an die organische Bodenmatrix ablaufen. Dabei wird TNT offensichtlich zunächst zu 2-A-4,6-DNT bzw. 4-A-2,6-DNT reduziert. Dieser Metabolit kann dann zu der entsprechenden Carbonsäure oxidiert bzw. weiter reduziert werden. Die weitere Reduktion zu dem Diaminometaboliten führt zur Festlegung in die Humusmatrix des Bodens. Eine direkte Oxidation von TNT zu 2,4,6-TNBS konnte nicht beobachtet werden. Ein analoger Metabolismus im Boden läuft auch bei den Dinitrotoluolen ab. Bei diesen Verbindungen konnte die direkte Oxidation zu Dinitrobenzoesäure beobachtet werden.

Table 1: Metabolites of explosives in the leachate

Metabolite	Concentration [µg/L]
4-A-2,6-DNT	0,6
2-A-4,6-DNT	0,2
4-A-2,6-DNBS	18,0
2-A-4,6-DNBS	6,0
2,6 DNT	11,7
2-A-6-NT	0,7
2,4 DNT	3,3
2-A-4 NT	1,3
4-A-2 NT	0,2
2,4+DNBS	0,4
4-A-2-NBS	7,7
2-A-4 NBS	0,1

parent compounds
reduced metabolites
methyl group oxidized to benzoic acid

Fazit

Die Untersuchungen zeigen, dass bei der Beurteilung von Standorten die Verfügbarkeit der Kontaminanten eine große Rolle spielt. Werden durch Bodenbearbeitung bzw. Bodenbewegungen die Kontaminationsherde gestört und so für die Bodenlösung erreichbar, laufen Umsetzungs- und Festlegungsreaktionen ab. Dabei entstehen polare, mobile Metabolite, die ins Grundwasser gelangen können. Im Versuch konnten im Sickerwasser Konzentrationen oberhalb 10 µg/L gemessen werden. Dies ist bei Sanierungs- und Baumaßnahmen zu berücksichtigen. Ein Flächenmanagement muss somit das komplette Spektrum der bei einer Sanierungsmaßnahme entstehenden Metabolite und die Auswirkungen auf die Grundwasserqualität berücksichtigen.

Das Projekt wird vom Bundesministerium für Forschung und Technologie finanziell unterstützt.

Investigation of Transformation and Migration Processes in Soils Contaminated with Military Hazardous Waste

Background

In Germany, there are more than 70 extensive hazardous waste sites that used to belong to the military. Thus far, remediation measures have been restricted to the highest contamination zones, whereas the necessary resources and funding have not been made available for the less contaminated border areas. This applies particularly to contaminated zones that are now used as industrial or settlement areas. It is therefore of great importance to find out whether and to what extent the typical explosives present in soil are degraded (and whether this occurs within an acceptable period of time), to identify toxicologically-relevant metabolites and to estimate the input of explosives and their metabolites into groundwater.

Approach

In a stepwise test strategy comprising laboratory tests, large column tests and outdoor lysimeter experiments (which are carried out using disturbed and undisturbed soil cores sampled at different military hazardous waste sites), we investigated the natural retention and degradation of the explosives. The milieu-dependent transformation and mobility of the hazardous chemicals was studied, and models were developed to determine the fate of the contaminants. Below, we discuss investigations concerning the metabolism of explosives in open air lysimeters. The explosives, namely TNT; 2,4-DNT; 2,6-DNT and 2-NT, were introduced at concentrations of 10 mg/kg into the upper soil layer of the lysimeters, which had been filled with a parabrown soil.

Results

Figure 1 shows the degradation velocity of the four nitrotoluenes. The first and most important transformation step is the reduction of the nitro group. As expected, TNT, the compound with the highest oxidation potential, is most rapidly reduced to monoamino dinitrotoluene. The half-life in soil is less than 10 days. The slowest degradation pathway is the reduction to aminotoluene.

Table 1 shows the metabolites that were detected in soil and leachate samples taken during the investigation period of 6 months. The data represent the highest concentrations measured in the lysimeter leachates. They also show that the polar metabolites were mobile in soil and were found in the lysimeter leachates.

Moreover, the results indicate that soil processes such as reduction, oxidation and covalent binding to the organic soil matrix occur more or less in parallel. It is evident that TNT is first reduced to 2-A-4,6-DNT and 4-A-2,6-DNT, respectively. In a next step, this metabolite can be oxidised to the respective carbonic acid or further reduction to the diamino-metabolite. The latter results in immobilisation in the soil humic matrix. Direct oxidation of TNT to 2,4,6-TNBS was not observed. An analogous metabolic process in soil was observed for the dinitrotoluenes, although for these compounds direct

oxidation to dinitrobenzoic acid was observed.

Conclusions

Our investigations showed that information concerning the availability of contaminants is of great importance for the assessment of a hazardous site. If, as a result of soil treatment or earth-moving, contaminated spots are disturbed in such a way that the pollution reaches the soil solution, transformation and immobilization processes will occur. During these processes, mobile, polar metabolites are formed, which may reach the groundwater. During our investigations, pollutant concentrations exceeding 10 µg/L were measured in the leachate. This is an important issue to be considered for sanitation and construction measures. As a consequence, a comprehensive site management needs to be carried out to account for the complete spectrum of metabolites that may be formed during sanitation measures as well as the consequences for the quality of groundwater.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Werner Kördel

Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 17

werner.koerdel@ime.fraunhofer.de

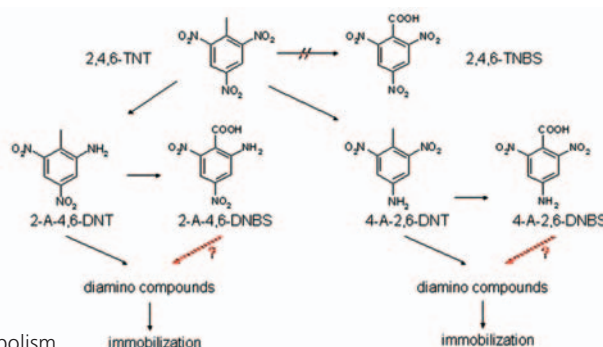


Figure 2:
TNT – scheme of metabolism

Umweltentlastung durch photokatalytische Schichten – Praxistests



Figure 1: Application of photocatalytic coatings in a green house

Ausgangssituation

Photokatalytische Beschichtungen wie Titandioxid sind aufgrund ihres Potenzials zum Abbau zahlreicher Verbindungen vielfältig einsetzbar. Die Anwendung photokatalytischer Schichten im Freiland kann beispielsweise zur Verringerung der direkten Verschmutzung von Bauteilen und zu einer Umweltentlastung führen.

Beispiele für Reinigungseffekte sind:

- der Abbau von Schadstoffen, zum Beispiel von Abgasen,
- die Vernichtung von Keimen und pathogenen Bakterien,
- die Unterdrückung von Bewuchs, z. B. Algenbewuchs auf Dächern.

In Japan werden photokatalytische Beschichtungen bereits vielfältig und großflächig eingesetzt. Beispiele hierfür sind Straßenbeläge, Fassadenbeschichtungen, selbstreinigende Glasscheiben, Spiegel, Jalousien, Zeltmaterialien.

Zahlreiche Patente betreffen die Entwicklung neuer Schichten – deren Wirksamkeit ist jedoch nur ansatzweise belegt, da es wenige geeignete Verfahren gibt. Schwerpunktmäßig werden Untersuchungen zum Farbstoffabbau sowie Kontaktwinkelmessungen durchgeführt. Der Abbau realer biologischer und chemischer Belastungen findet kaum Beachtung. Unbekannt ist, ob der Abbau bis zu CO_2 und Wasser

verläuft oder ob unerwünschte Produkte entstehen.

Aufgabe

Im Rahmen einer von der Fraunhofer-Gesellschaft finanziell unterstützten Allianz (Zusammenschluss von acht Instituten zur Fraunhofer-Allianz Photokatalyse: www.photokatalyse.fraunhofer.de) begann das IME, Verfahren zu entwickeln, um den Abbau biologischer Verunreinigungen quantitativ zu erfassen. Zunächst lag der Schwerpunkt auf Laborverfahren zum Screening neuer Ausgangsmaterialien und Beschichtungen. Ziel war es, kostengünstige Verfahren bereitzustellen, die entwicklungsbegleitend Informationen über die Funktionsfähigkeit neuartiger Beschichtungen liefern, um erfolgversprechende Entwicklungen von ineffektiven rasch unterscheiden zu können.

Darauf aufbauend wurden mit kommerziell erhältlichen Proben Untersuchungen im größeren Maßstab im Freiland durchgeführt. Die Aussagekraft unter solchen realitätsnahen Bedingungen ist deutlich höher als bei Laboruntersuchungen, da Effektivität und Umweltauswirkungen der beschichteten Produkte direkt ermittelt werden können.

Projektbeschreibung

Als Basis für die Screening-Verfahren dienen akzeptierte Testorganismen standardisierter ökotoxikologischer Testsysteme. Es wurden Vorgehensweisen entwickelt, mit denen sowohl partikuläre Proben als auch Beschichtungen unter simuliertem Sonnenlicht zur Induktion der photokatalytischen Wirkung untersucht werden können. Untersuchungen im Freiland werden gemäß des realen Einsatzbereiches

konzipiert. Aufgetragene „Kontaminationen“ geben Informationen über Abbaugrad und potenzielle Metaboliten.

Ergebnis / Fazit

Die Ergebnisse zeigen, dass

- partikuläres TiO_2 in Abhängigkeit von der Partikelgröße bzw. vom kristallinen Zustand ein erhebliches toxisches Potenzial aufweisen kann und der Stabilität der Beschichtungen somit besondere Beachtung zu schenken ist,
- sich die Effektivität von Beschichtungen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung und den Verfahren zur Schichtherstellung erheblich unterscheiden kann,
- sich der Abbau biologischer Kontaminanten nicht über Kontaktwinkelmessungen prognostizieren lässt,
- über Freilanduntersuchungen im Pilotmaßstab wertvolle Zusatzinformationen zu Beschichtungen, wie etwa Stabilität unter natürlichen Klimabedingungen, gewonnen werden können.

Kooperationen / Finanzierung

Fraunhofer-Gesellschaft und diverse Auftraggeber aus der Industrie.

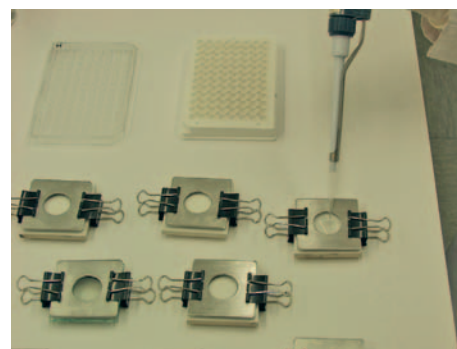


Figure 2: Preparatory steps for testing the efficiency of novel coatings against algae

Environmental Benefits of Photocatalytic Coatings – Real World Performance Testing



Figure 3:
Application of radiolabelled contaminants for efficiency testing and assessment of degradation products

Background

Photocatalytic coatings, such as titanium dioxide, are suitable for many applications because of their ability to decompose a great variety of substances and materials. In the open air, photocatalytic active coating systems can reduce environmental contaminations and can clean the surfaces of various materials. Examples of cleaning applications include:

- The degradation of contaminants, such as deposited exhaust emissions
- Antimicrobial effects, e.g. decontamination of bird droppings
- Suppression of, e.g., algal growth on roofs.

In Japan, photocatalytic coatings are applied in many fields, such as paving, walls, self-cleaning glass, mirrors, blinds, and tents.

Many patents are available on the development of novel coatings. The efficiency of such coatings, however, is scarcely proven, since few test procedures are available. Most investigations concentrate on the degradation of dyestuffs and contact angle measurements, whereas the degradation of realistic biological and chemical contaminations is generally not considered. Also, there is little data on whether degradation results in the formation of

CO₂ and water or undesired degradation products.

Goal

Within the scope of the Fraunhofer Network on Photocatalytic Coatings, a network financially supported by the Fraunhofer Gesellschaft and comprising eight Fraunhofer Institutes (www.photokatalyse.fraunhofer.de), the IME has started to develop quantitative measuring procedures for biological contaminants. These investigations initially focused on laboratory screening methods for novel basic materials and coatings. The aim was to provide rapid and cost-effective procedures yielding information on the efficiency of novel coatings already during the developmental process to identify the most promising candidate materials.

Based on these investigations further testing on a larger experimental scale was carried out in the open field using commercially available samples. The reliability of such experiments is much greater than that of laboratory tests, since the efficiency as well as the environmental effects of the coated products can be determined directly.

Project description

The screening procedures are based on test organisms generally accepted in standardized ecotoxicological test systems. Approaches were developed which were suitable for experiments with particulate ultra-fine sample material and coatings performed under simulated sunlight to induce a photocatalytic effect. Investigations in the open air were designed to take into account the realistic scope of application. The applied test contaminants

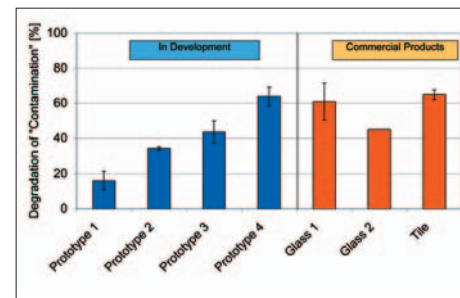


Figure 4:
Effectiveness of various coatings

yield information about the degradation rate as well as potential metabolites.

Results

The results thus far demonstrate that:

- Particulate TiO₂ may have a considerable toxic potential depending on the particle size or the crystalline structure; therefore special attention must be paid to the stability of the coatings;
- The efficiency of the coatings can vary considerably depending on the composition and the procedures applied for the coating process;
- The degradation of biological contaminants cannot be predicted by means of contact angle measurements;
- Investigations in the open air performed on a pilot scale yield valuable information on the coatings, such as stability under natural climate conditions.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Kerstin Hund-Rinke
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 66
kerstin.hund-rinke@ime.fraunhofer.de

Dr. Markus Simon
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 13
markus.simon@ime.fraunhofer.de

Die Umweltprobenbank als Element des integrierten Umweltmonitorings und der Umweltbeobachtung

Ausgangssituation

Es gibt eine Vielzahl von nationalen und internationalen Programmen und Initiativen zur Erfassung des Umweltzustandes. Dabei zu nennen sind beispielsweise die Messprogramme des Bundes und der Länder, aber auch gemeinsame internationale Aktivitäten zur Erfüllung von Berichtspflichten im Rahmen von Konventionen wie beispielsweise OSPAR (Oslo-Paris-Convention). Auch die Umweltprobenbank (UPB) des Bundes ist ein Element der Umweltbeobachtung, die sich in der Gesamtheit aller Messprogramme positioniert.

Aufgabe

Ein wesentlicher Aspekt bei der Diskussion um die konzeptionelle Einordnung der Umweltprobenbank ist es, Schnittstellen zwischen den Programmen zur Erfassung von Umweltbelastungen zu finden. Dadurch wird es möglich zu identifizieren, wie die verschiedenen Programme sich gegenseitig ergänzen können.

Ergebnisse

Es konnten drei wesentliche Ansatzpunkte identifiziert werden, nämlich:

1. die gegenseitige Bestätigung und Absicherung von Tendaussagen,
2. der gezielte Einsatz von Ergebnissen anderer Umweltmonitoring-Programme als Interpretationshilfe von chemisch-analytischen Ergebnissen aus der Umweltprobenbank,
3. die fachliche Weiterführung der Fragestellung nach der Verknüpfung von Konzentration am Wirkort (aus der UPB) – Wirkung – Risiko (aus dem Umweltmedienmonitoring).

Betrachtet man nun die beiden ersten Punkte, dann sollte zunächst einmal die tatsächliche Machbarkeit dieser Anwendungen überprüft werden. Dazu werden aus der Vielzahl von Monitoring-Programmen unter dem Gesichtspunkt des regionalen Bezugs einige ausgewählt.

Einige Fakten aus dem Vergleich werden hier kurz dargestellt:

UBA-Luftmessnetz und Belastungen in Bäumen

- Die Zeittrends von Stoffbelastungen von Bäumen bilden die Trends der Luftbelastung der betreffenden partikulär gebundenen Stoffe gut ab. Das trifft jedoch nur auf Stoffe zu, die in der Nadel / im Blatt nicht metabolisiert, transportiert und / oder ausgewaschen werden.
- Beim Auffinden bisher nicht als prioritär beachteter Stoffe im Schwebstaub kann mit Hilfe von Nadeln- und Blattproben der UPB retrospektiv auf Schwebstaubbelastungen zurückgeschlossen werden.

Moosmonitoring und Belastungen in Bäumen

- Trends für die UPB-Probenart Bäume und für das Moosmonitoring verlaufen parallel. Das bedeutet, dass sowohl Nadeln und Blätter als auch Moose die stofflichen Luftbelastungen in vergleichbarer Weise aufnehmen und sich von daher als Indikatoren für die Luftbelastung mit partikulär transportierten Metallen eignen.

Limnische Überwachungsprogramme und Belastungen in Organismen

- Für unpolare Stoffe bietet sich ein Vergleich der Trends in den Organismen und in suspendiertem Sediment an, da beide akkumulierende Eigenschaften besitzen und damit im Rahmen des Monitorings integrierende Aussagen liefern.

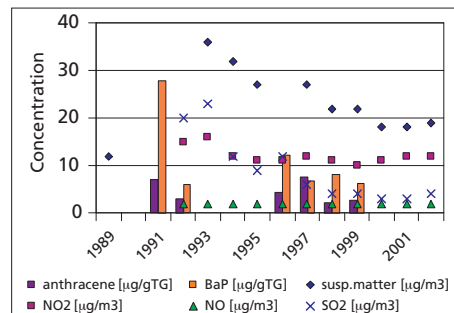


Figure 1:
Concentration of pollutants in pine-needles at sampling site „Dübener Heide“

Fazit

Bei der Nutzung von Daten für spezielle Fragestellungen sind Beiträge (externe Monitoring-Daten + UPB-Daten) zu erwarten, die fallweise zu integrieren sind. Als Strategie zur Erreichung einer breiteren gegenseitigen Nutzung ist es empfehlenswert, auf der Probenahme-fläche der Umweltprobenbank in eingeschränktem Maße zusätzlich abiotische Probenahmen, nämlich Sediment- und Bodenproben, durchzuführen. Diese Erweiterung der UPB-Konzeption um abiotische Proben versetzt sie in die Lage, gemeinsam mit anderen Monitoring-Programmen die für den Vollzug der Gesetzgebung erforderlichen Informationen repräsentativ und belastbar zu liefern.

Die Arbeiten wurden im Auftrag des Umweltbundesamtes, Berlin, durchgeführt.



Figure 2: Soil sampling

German Environmental Specimen Bank as an Element of the Integrated Environmental Monitoring and Survey

Background

Many national and international programs and initiatives exist to describe the state of the environment. Programs initialised by the states and the federal government, and also by international activities in the context of conventions such as OSPAR (Oslo-Paris Convention) are among the most important. Among these, the German Environmental Specimen Bank (ESB) is an environmental monitoring and survey resource with a unique task and strategy.

Aims

One focal point in discussions concerning the overall role of the specimen bank in the context of monitoring programs is the interface between the various programs. In particular, one essential aim is the identification of complementary aspects and information.

Results

Three complementary elements have been identified:

1. Mutual confirmation of trends
2. Targeted use of results obtained from other monitoring programs for the interpretation of chemical-analytical data from the specimen bank.
3. Conceptual continuation of the scientific approach to combine information on body burden (from ESB) – effects and risk (from environmental monitoring).

With regard to the first two elements, we have to carry out a feasibility check, which will require the selection of

appropriate monitoring programs. The predominant selection criterion is the spatial reference.

Some of the results are presented exemplarily:

UBA ambient air monitoring network and concentrations in leaves and needles

- Temporal trends of contaminant concentrations in leaves and needles are, to a large extent, comparable with the respective particulate concentrations in air. However, this only applies to substances which are not metabolised, transported or washed off.
- For the detection of non-priority substances in particulate matter, the retrospective burden can be determined from analytical results obtained for leaves and needles stored in the ESB.

Moss monitoring and concentrations in leaves and needles

- Temporal trends for metal concentrations in mosses, in leaves and needles stored in the ESB are parallel. Thus, needles, leaves and mosses adsorb chemical air pollutants by comparable mechanisms and, as a consequence, are excellent indicators for particulate metals in ambient air.

Limnic monitoring programs and concentrations in aquatic organisms

- Trends of non-polar compounds are best compared in aquatic organisms and suspended sediment. Both matrices are characterised by accumulating properties and thus lead to integrated results.



Figures 3 and 4: Preparation of sampling

Conclusions

For specific problems the results from the Environmental Specimen Bank and other monitoring programs might be complementary. The needed integration strategy is to be carried out on a case-by-case basis. In order to achieve the more general mutual use of data it is further recommended to additionally store abiotic samples, namely sediment and soil. By following such a strategy the Environmental Specimen Bank – jointly with other monitoring programs – provides reliable and representative information needed for executive legislation.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Monika Herrchen
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 15
monika.herrchen@ime.fraunhofer.de

Dr. Werner Kördel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 17
werner.koerdel@ime.fraunhofer.de

Triclosan und Methyl-Triclosan in Fischproben aus der Umweltprobenbank des Bundes

Ausgangssituation

Triclosan ist ein weit verbreitetes Biozid, das vor allem in Haushaltsprodukten wie Körperpflegemitteln und in Textilien eingesetzt wird. In Kläranlagen erfolgt zwar eine ca. 95 %ige Eliminierung der über das Abwasser eingetragenen Triclosan-Fracht, doch gelangt ein geringer Anteil des Triclosans in Oberflächengewässer. Sowohl auf dem Weg zur Kläranlage als auch in der Kläranlage selbst erfolgt die Umwandlung eines Teils des Triclosans in Methyl-Triclosan, das ebenfalls in Abläufen von Kläranlagen nachgewiesen werden kann (ca. 1 % im Verhältnis zu den Triclosan-Konzentrationen). In Oberflächengewässern ist die Umwelthalbwertszeit von Triclosan gering, da der Stoff leicht photolytisch abgebaut wird. Methyl-Triclosan ist dagegen relativ persistent. Während für Triclosan Wirkungsdaten vorliegen (abgeschätzte Konzentration, bei der bei Organismen keine Wirkung einer Substanz mehr zu erwarten ist, aquatische PNEC: 50 ng/L), ist für Methyl-Triclosan bislang nur die Abschätzung mittels Quantitativer Struktur-Wirkungs-Beziehungen (QSAR) möglich. Diese ergibt eine geringere Ökotoxizität des Methyl-Triclosans im Vergleich zu Triclosan (aquatische PNEC: 160 ng/L).

Zielsetzung

In einem retrospektiven Monitoring mit Proben aus der Umweltprobenbank des Bundes sollten die Gehalte von Triclosan und Methyl-Triclosan in Brassen (*Abramis brama*, Jahreshomogenate der Muskulatur) bestimmt werden. Untersucht werden sollten Proben aus Rhein, Saar, Elbe, Mulde, Saale, Donau und dem Belauer See. Letzterer liegt in einem relativ wenig belasteten Gebiet und dient als Referenzstandort.

Ergebnisse

In Brassen aus dem Belauer See konnten weder Triclosan noch Methyl-Triclosan nachgewiesen werden. In allen Brassenproben aus den Flüssen waren die Methyl-Triclosan-Gehalte signifikant höher als die Gehalte von Triclosan, die in den meisten Fällen sogar unter der Bestimmungsgrenze (BG) von 0,2 ng/g Frischgewicht lagen. Die Spanne der Methyl-Triclosan-Gehalte in den Flussfischen lag bei 3,1–63 ng/g Frischgewicht (BG = 0,25 ng/g Frischgewicht), wobei die höchsten Belastungen fast immer 2002 oder 2003 gefunden wurden. Umgerechnet auf den Fettgehalt liegen die Gehalte bei 64–650 ng/g Lipid. In Brassenmuskulatur der folgenden Probenahmeflächen wurde Triclosan relativ häufig bzw. im Untersuchungs-

zeitraum durchgängig nachgewiesen: Saar/Güdingen, Saar/Rehlingen, Rhein/Weil, Saale (bis zu 3,4 ng/g Frischgewicht bzw. 69 ng/g Lipid, Figure 1). In den Gewässern steigt die Belastung der Brassenmuskulatur mit Methyl-Triclosan in der Reihenfolge Belauer See << Elbe, Mulde, Donau < Rhein < Saar < Saale. Für Rhein und Donau ist ein Anstieg der Gehalte flussabwärts festzustellen (Figure 2), während für die Elbe die niedrigsten Belastungen bei den Brassen im Unterlauf gefunden wurden (höchste Gehalte für die Brassen aus der Elbe bei Zehren). Für die folgenden Probenahmeflächen ist ein signifikant ansteigender Trend der Methyl-Triclosan-Gehalte in Brassenmuskulatur zu erkennen: Saale, Mulde, Rhein (Koblenz, Bimmen), Saar (Güdingen, Rehlingen).

Bewertung

Eine verlässliche Bewertung der Methyl-Triclosan-Gehalte ist zurzeit nicht möglich, da es keine experimentellen Daten zu ökotoxikologischen Wirkungen gibt. Eine Bewertung auf Basis der QSAR-abgeschätzten Ökotoxizität ergibt, dass die aus den Gewebekonzentrationen extrapolierten Methyl-Triclosan-Gehalte in Gewässern (maximal: 4 ng/L) unterhalb der PNEC liegen. Da es sich bei Methyl-Triclosan jedoch um eine relativ persistente Substanz handelt, die auf dem anthropogenen Eintrag von Triclosan beruht, sollten Maßnahmen zur Begrenzung des Eintrags von Triclosan getroffen werden.

Die Studie wurde vom Umweltbundesamt finanziert.

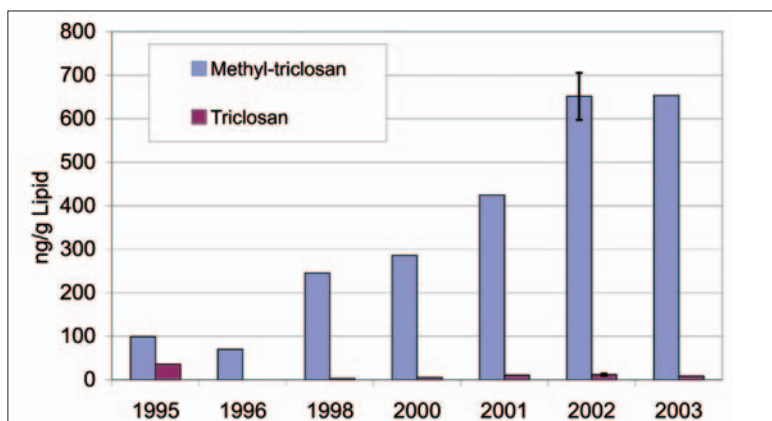


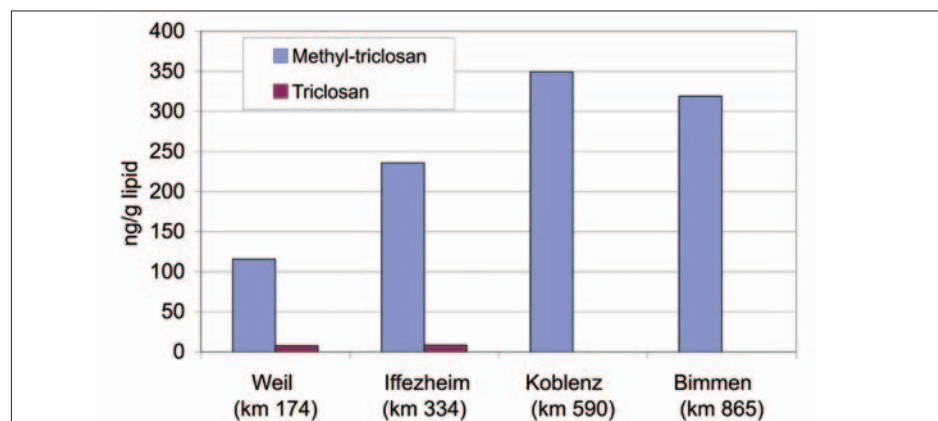
Figure 1:
Time series of triclosan and methyl-triclosan levels in bream muscles from the river Saale. Data are n=1 for all years except 2002 where four samples were analyzed (for this sample, the mean value ± standard deviation is shown).

Triclosan and Methyl-triclosan in Fish Samples from the German Environmental Specimen Bank

Background

Triclosan is a widely used biocide, which is applied in household products, such as personal care products, and in textiles. In waste water treatment plants (WWTP) about 95 % of the triclosan load introduced with the waste water is eliminated, but a small portion of the triclosan is released into surface waters. Before reaching the WWTP and during waste water treatment, parts of the triclosan are transformed into methyl-triclosan, which can also be detected in the outflow of WWTPs (about 1 % in relation to the triclosan concentrations). In surface waters the environmental half-life of triclosan is short, since it is readily photolytically degraded. In contrast, methyl-triclosan is relatively persistent. While direct data are available for the effects of triclosan (concentration at which organisms are expected to show no effects = predicted no effect concentration, aquatic PNEC: 50 ng/L), only estimates calculated by means of quantitative structure activity relations (QSAR) are available for methyl-triclosan. The ecotoxicity of methyl-triclosan is thus lower compared to triclosan (aquatic PNEC: 160 ng/L).

Figure 2:
Spatial comparison of triclosan and methyl-triclosan levels in bream muscles from the river Rhine in 2003



Aim

The levels of triclosan and methyl-triclosan in bream muscles should be determined in a retrospective monitoring experiment using samples from the German Environmental Specimen bank (ESB). Therefore, samples from Rhine, Saar, Elbe, Mulde, Saale, Danube and the Lake Belau were analysed. The samples from Lake Belau were used as a reference since the lake is located in an area with minimal anthropogenic influences.

Results

In breams from Lake Belau neither triclosan nor methyl-triclosan could be detected. In all bream samples from rivers the methyl-triclosan content was significantly higher than that of triclosan, which in most cases was even below the limit of quantification (LOQ) of 0.2 ng triclosan/g wet weight. The methyl-triclosan content of the river fish was between 3.1 and 63 ng/g wet weight (LOQ = 0.25 ng/g), and the highest loads were nearly always found in the years 2002 or 2003. Converted to concentrations referring to the fat content, the range of methyl-triclosan contents was 64 - 650 ng/g of lipid. In bream muscles from the following sampling sites, triclosan was detected

frequently or constantly during the investigation period: Saar/Güdingen, Saar/ Rehlingen, Rhine/Weil, Saale (up to 3.4 ng/g wet weight or 69 ng/g lipid, Figure 1). The methyl-triclosan loads of the bream muscles increased in the order Lake Belau << Elbe, Mulde, Danube < Rhine < Saar < Saale. For the following sampling areas statistically significant increasing trends were detected in the methyl-triclosan contents in bream muscles: Saale, Mulde, Rhine (Koblenz, Bimmen), Saar (Güdingen, Rehlingen).

Evaluation

A reliable evaluation of the methyl-triclosan contents is not yet possible, since there are no experimental data on ecotoxicological effects. A preliminary evaluation based on a comparison of the QSAR-estimated ecotoxicity and the water concentrations which were extrapolated from the tissue concentrations (maximum: 4 ng/L) revealed methyl-triclosan levels below the PNEC. However, since methyl-triclosan is a relatively persistent substance originating from anthropogenic inputs of triclosan, measures should be taken to reduce emissions of this biocide into waste water.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Heinz Rüdel
Tel: +49(0) 29 72/302-301
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

Walter Böhmer
Tel.: +49(0) 29 72/302-211
walter.boehmer@ime.fraunhofer.de

Dr. Christa Schröter-Kermani
Umweltbundesamt Berlin
Tel: +49(0) 30/89 03-32 17
christa.schroeter-kermani@uba.de

Georeferenzierte Computermodelle in der Stoffbewertung

Hintergrund

Für die Risikobewertung von Chemikalien müssen aufgrund verschiedener nationaler und europäischer Richtlinien Daten zur Ökotoxizität mit Voraussagen der Exposition verglichen werden. Zur Expositionsanalyse stehen verschiedene Modelle zur Verfügung. Normalerweise wird das Computerprogramm EUSES verwendet. Es berechnet das Verhalten von Chemikalien auf der Basis generischer Szenarien.

Dem gegenüber berücksichtigen georeferenzierte Stoffmodelle für ihre Vorhersagen detaillierte lokale Eingabedaten. Die Ergebnisse dieser Modelle können mit Hilfe von thematischen Karten visualisiert und direkt mit Untersuchungsergebnissen, etwa aus einem spezifischen Fluss-Einzugsgebiet, verglichen werden. Ein typisches in Europa angewandtes georeferenziertes Computermodell ist GREAT-ER (Geo-Referenced Regional Exposure Assessment Tool for European Rivers), das von einer Gruppe europäischer Organisationen in den Jahren 1996 bis 1999 entwickelt wurde (siehe Figure 1).

Ziel

Ziel dieses Projekts war, die Eigenschaften verschiedener georeferenzierter Computermodelle zusammenzufassen und dem generischen Computermodell EUSES gegenüberzustellen. Außerdem sollten Ergebnisse beider Modelltypen im Hinblick auf das Schutzniveau für die aquatische Umwelt verglichen werden. Dazu wurde beispielhaft das Computermodell GREAT-ER herangezogen.

Ergebnisse

Grundsätzlich werden in EUSES und GREAT-ER ähnliche Prozesse verwendet, um das Verhalten von Chemikalien in der Umwelt vorherzusagen. So berücksichtigen beide Modelle die Verteilung zwischen Boden - Wasser, Luft - Wasser und Sediment - Wasser. Da EUSES einen umfangreicheren Umweltausschnitt einbezieht, werden zusätzliche Verteilungsgleichgewichte, wie die zwischen Gas und Aerosol oder Wasser und Biota, berücksichtigt. Wegen grundsätzlicher Unterschiede ist es jedoch trotz der Gemeinsamkeiten auf dem Prozessniveau schwierig, die Qualität der Ergebnisse zu vergleichen:

EUSES ist ein „Mackay Level III Multi Media“ Modell, das – ausgestattet mit einer großen Anzahl von Standardparametern – Fließgleichgewichte in einer fiktiven Einheitswelt berechnet. Dazu werden nur wenige Stoffparameter verwendet. Die berechneten regionalen Konzentrationen basieren auf einer homogenen Verteilung innerhalb des Kompartiments. EUSES kann keine realen lokalen Situationen berechnen, jedoch mittlere Belastungen für eine vorgegebene Region, z. B. „die EU“ oder „Nordrhein-Westfalen“, angeben. Das Ziel des Modells ist es, konservative Konzentrationen für verschiedene Umweltkompartimente einer Region abzuschätzen. Aufgrund seines generischen Ansatzes kann EUSES alle Typen von Industriechemikalien (15 Industriekategorien und 55 Verwendungskategorien, wie zum Beispiel Pflanzenschutzmittel, Detergenzien, Farben, Kosmetika, Bleichmittel, Dünger, Treibstoffe oder Biozide) berechnen.

Dem gegenüber können mit GREAT-ER wirkliche ortspezifische Konzentrationen in Flüssen berechnet werden. An verschiedenen Stellen werden auch verschiedene Konzentrationen ausgegeben. Aufgrund der umfangreichen GIS-Werkzeuge des Programms können

alle Ergebnisse transparent mit Hilfe von Karten dargestellt werden. Allerdings ist das Modell begrenzt auf die Simulation von so genannten „down-the-drain“ Stoffen, also Chemikalien, die über die Klärwerke in die Gewässer eingetragen werden. GREAT-ER kann außerdem Chemikalien, die jahreszeitlich (Sommer, Winter) eingetragen werden, nur mit zusätzlichen Kalibrierungen berechnen. Mit Abweichungen zwischen experimentellen und berechneten Werten muss außerdem gerechnet werden, wenn Einträge nicht nur durch den Endverbraucher, sondern auch durch die Industrie erfolgen. Auch hier werden sinnvolle Ergebnisse nur nach einem Kalibrierungsschritt erzielt. Dennoch zeigen alle Validierungsstudien, dass GREAT-ER das Verhalten von Chemikalien in Gewässern besser und umfangreicher berechnet als EUSES. Der Vergleich der Qualität der erzielten Ergebnisse von GREAT-ER mit Messungen aus den jeweiligen Flussgebieten zeigte, dass von Abweichungen unterhalb eines Faktors 2 auszugehen ist.

Fazit

Die Ergebnisse legen nahe, in einem gestuften Verfahren beide Modelle zu nutzen. In diesem Fall könnte EUSES im Rahmen eines ersten „Screenings“, GREAT-ER dagegen im Rahmen eines höheren und genaueren Bewertungsniveaus verwendet werden.

Die Studie wurde vom Umweltbundesamt (FKZ 360 12 007) finanziert.

Ansprechpartner / Contact

Dr. Michael Klein
Phone: +49 (0) 29 72/3 02-3 17
michael.klein@ime.fraunhofer.de

Exposure Assessment for Substances Based on Geo-referenced Computer Models

Background

In order to comply with the various national and European directives for chemical risk assessment, toxicity data must be combined with data concerning the chemical's fate in the environment. Various models are available for exposure analysis, most requiring the computer programme EUSES. This model calculates the fate of chemicals based on generic scenarios. Geo-referenced exposure models consider detailed input data on the local scale. The results obtained with these models can be described by thematic maps allowing a direct comparison with monitoring data, e. g. of a specific river system. A typical geo-referenced model used in Europe is GREAT-ER (Geo-Referenced Regional Exposure Assessment Tool for European Rivers), which was developed by a group of several European organisations between 1996 and 1999 (see Figure 1).

Aims

The objective of the project was to summarise the properties of different geo-referenced models and compare them with the generic computer model EUSES. Additionally, results obtained using both model types were analysed focusing on the level of protection for the aquatic environment. For this purpose we used the computer model GREAT-ER.

Results

Principally, similar processes are used in GREAT-ER and EUSES to describe the fate of chemicals in the environment. Both models consider the distribution between solid – water, air – water and

sediment – water. As EUSES is a broader surface water model, some additional partition coefficients are used, such as partitioning between the gas and aerosol phases in air, or between water and biota.

Despite the similarities on the process level, basic differences in the models make a comparison of the quality of their results challenging:

EUSES is a Mackay type level III multimedia fate model working with a large number of default parameters in order to predict a steady-state exposure concentration in a fictive unit world based on a minimal dataset required as input parameters. The simulated regional environmental concentrations are based on the assumption of a homogeneous distribution.

EUSES does not simulate real local situations, but reflects average scenarios for a given region, e. g. „the EU“ or „North Rhine-Westphalia“. The aim of the model is to estimate conservative concentrations for the different environmental compartments in the given region. However, due to its generic character, EUSES is able to cover all types of industrial chemicals in 15 industrial and 55 use categories (e. g. plant protection agents, detergents, colouring agents, bleaching agents, cosmetics, fertilisers, fuels, biocides).

On the other hand, GREAT-ER predicts site-specific concentrations in rivers taking different concentrations into

account at different locations. Due to available GIS-tools, the concentrations in rivers are transparently visualised in maps.

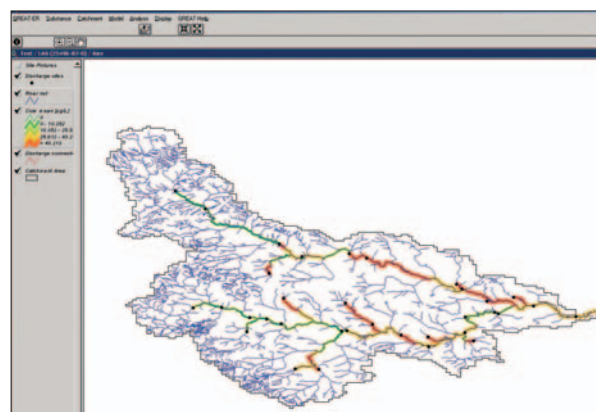
However, the use of GREAT-ER is limited to so-called „down-the-drain“-chemicals in surface water systems. Moreover, GREAT-ER is not able to handle chemicals showing seasonal variations (summer, winter) without further calibration. Further discrepancies have to be expected for specific chemicals that are released not only by the general public but also by industry. In such cases, reasonable data are obtained only after considering additional releases (calibration).

All available validation studies demonstrate that GREAT-ER describes the fate of chemicals in surface water much better and more comprehensively than EUSES. Compared to results of measurements in the different river-systems, deviations between observations and predictions were found to be within a factor of 2.

Conclusions

Considering the results, it seems reasonable to use both models on different levels of a stepwise approach, applying EUSES within the initial screening phase and GREAT-ER for the higher-tier assessment.

Figure 1:
GREAT-ER Shell



Qualitätskriterien für Endpunkte in Life Cycle Tests mit dem Zebrafährbling

Hintergrund

Im Rahmen des OECD-Testentwicklungsprogramms wird ein Fish Full Life Cycle oder Zwei-Generationen-Test diskutiert, der den Zebrafährbling als einen von drei möglichen Testfischarten vorsieht. Durch die Dominanz amerikanischer Anforderungen wurden Tests mit frühen Lebensstadien oder auf juveniles Wachstum in der Vergangenheit vor allem mit der Regenbogenforelle und der Dickkopfelritze durchgeführt. Für Life Cycle Tests (LCT) mit Zebrafährblingen gibt es daher vergleichsweise wenig Informationen über die Variabilität von Endpunktekriterien. In den letzten fünf Jahren wurden am IME verschiedene Zebrafährbling-LCT mit unterschiedlichen Zielen und Versuchsdesigns durchgeführt. Die anonymisierten Ergebnisse der unbeeinflussten Ansätze wurden auf ihre statistische Variabilität untersucht.

Projektdurchführung

Als Datenbasis dienten die einzelnen Replikate aus drei verschiedenen Varianten von Full Life Cycle Tests: Durchflusstests, semistatische Tests mit drei Wasserwechseln pro Woche und statische Tests mit Sediment. Alle Replikate wurden mit 100 befruchteten Eiern bestückt. Eingeschlossen wurden alle Kontrollansätze und die belasteten Replikate, für die kein Effekt des Prüfgegenstandes nachgewiesen wurde. Daten, die auf Grund identifizierter Studienbedingungen erhöhte Variabilität der Ergebnisse zeigten, wurden ausgeschlossen.

Ergebnisse

Überleben der frühen Lebensstadien

Die Mittelwerte in statischen und Durchflusstests waren identisch und lagen bei 80 % (Standardabweichung = 8.8 %). Das Qualitätskriterium der OECD-Guideline 210 für Kontrollmittelwerte von 70 % Überleben nach dem Schlupf wurde von den 23 verglichenen Tests mit einer Ausnahme eingehalten. 8 % der einzelnen Ansätze lagen unter 70 % der gesamten Überlebensrate. Die semistatischen Tests zeigten deutlich niedrigere Mittelwerte und höhere Variabilitäten (Mittelwert = $54 \pm 14,5$ %).

Reproduktion

Die Gesamtzahl der Eier pro Weibchen und Tag (Mittelwert: 37) war in allen Testvarianten (205 Replikate mit etwa 15 Weibchen und 20 Zähltagen $\approx 2,2$ Millionen Eier) vergleichbar, allerdings mit hoher Variabilität. 78 % der Replikate lagen zwischen 20 und 50 Eiern, nur 6 % lagen unter 20 (Figure 1). Die Befruchtungsraten waren im Mittel ähnlich hoch (93 %) in statischen und Durchflusstests und zeigten dort geringe Variabilität (relative Standardabweichung 3 %). Dazu wurden etwa 2 Millionen Eier einzeln auf erfolgte Zellteilungen untersucht. Nur 2,5 % der Replikate lag unterhalb einer Befruchtungsrates von 85 %. Die semistatischen Tests zeigten erneut schlechtere Ergebnisse und höhere Variabilität (Mittelwert = 84 ± 11 %).

Geschlechterverhältnis

Zur Ermittlung des Geschlechterverhältnisses wurden nur voll entwickelte Gonaden herangezogen (Gonaden von ~ 4000 Fischen nach Messung der Reproduktion). In allen Studienvarianten lag der Anteil der Weibchen im Mittel bei etwa 50 % mit hoher Variabilität (Figure 2). Weniger als 5 % der Replikate lag außerhalb einer Spanne von 25–75 %. Normale Reproduktions-

leistung wurde bei einem Weibchenanteil zwischen 35 und 65 % nachgewiesen.

Fazit

Der Replikatvergleich konnte die Variabilität verschiedener Endpunktekriterien für den getesteten Fischstamm (Laborzucht) zeigen. Das Qualitätskriterium der OECD-Guideline 210 für das Überleben der frühen Lebensstadien ist anwendbar. Bei 2 Replikaten pro Konzentration und 4 Kontrollen dürfte eine 25 %ige Abweichung von der Kontrolle statistisch signifikant sein. Die Eizahl pro Weibchen und Tag sollte im Mittel über 20 liegen. Wegen der hohen Variabilität mag erst eine Abweichung von mehr als 75 % statistisch signifikant sein. Anders die Befruchtungsrate, die im Mittel über 85 % liegen sollte: Durch die geringe Variabilität sind schon Abweichungen von 10 % von der Kontrolle signifikant. Der Weibchenanteil sollte zwischen 35 und 65 % betragen. Statistisch signifikante Unterschiede werden mehr als 50 % betragen müssen.

Die Daten wurden im Rahmen von Projekten der öffentlichen Hand und der Industrie erhoben.

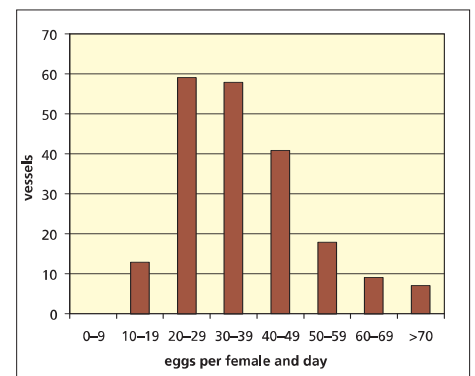


Figure 1
Zebrafish eggs per female and day of unaffected IME test replicates

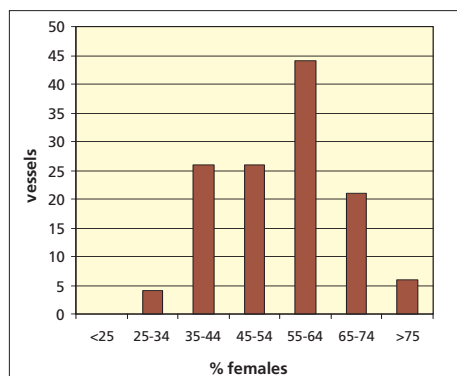


Figure 2:
Zebrafish sex ratios of unaffected IME test replicates

Background

Within the OECD discussions of a fish full life cycle or two-generation test, zebrafish is one of three species under consideration. Because of the dominance of American requirements in recent decades, early life stage and juvenile growth tests have been performed mainly with rainbow trout and fathead minnow. Therefore, little information is available concerning data variability at the endpoints of zebrafish two-generation studies. During the last five years, IME researchers have conducted several zebrafish full life cycle studies with different objectives and study designs. The anonymized non-effect data have been used for a statistical evaluation of data variability.

Approach

The comparison focuses on individual replicates of three main types of zebrafish full life cycle tests: flow-through tests, semi-static tests with three renewals each week, and static tests including sediment, all starting with 100 fertilized eggs per replicate. The data set includes all control replicates and the treated replicates without test item

effect. When identified study conditions were responsible for enhanced data variability, data were excluded.

Results

Early life stage total success

The means and variances of flow-through and static tests were comparable. The mean of 80 % survival ($sd = 8.8\%$) represents approximately 19 000 individuals. The quality criterion of the OECD 210 of 70 % mean control post-hatch success was met by 22 out of 23 data sets. 8 % of replicates were below 70 % total success. The semi-static tests (all non-GLP) generated clearly worse results with a lower mean and higher variability (mean value = $54 \pm 14,5\%$).

Reproduction

For total eggs per female per day, means and variances of all test types were comparable (205 replicates with approximately 15 females and 20 daily egg counts ≈ 2.2 million eggs). The mean was 37 eggs per female per day, but there was great variability. For 160 replicates (78 %), there were between 20 and 50 eggs. As a quality criterion, a mean control egg number per female and day of 20 can be derived (6 % of the replicates were lower, Figure 1). For fertilization rates, the means and variances of the flow-through and static tests were comparable. Rates were high (mean of 93 %) with very low variability (relative standard deviation below 5 %; approximately 2 million eggs, each individually checked for fertilization shortly after spawning). As a quality criterion, a fertilization rate of 85 % was derived (2.5 % of replicates were lower). The results of the semi-static tests (non-GLP) were clearly worse, with a lower mean and higher variability (mean value = $84 \pm 11\%$).

Sex ratio

For the determination of sex ratios, only fully developed gonads were used. The means and variances of flow-through, static and semi-static tests were comparable (~ 4000 fish checked for sex by gonad inspection after observation of reproduction, Figure 2). The proportion of females was $\sim 50\%$ with high variability. Less than 5 % of the replicates were outside a range of 25–75 %. Normal reproduction could be shown when the proportion of females fell within the range of 35–65 %.

Conclusions

The comparison could demonstrate the endpoint variability of zebrafish life cycle tests for the laboratory-bred strain we used. For early life stage total success the quality criterion of the OECD 210 is feasible. If two replicates are used per concentration together with four controls, a 25 % deviation from controls is probably statistically significant. For eggs per female per day, a quality criterion of 20 is suggested. Because of the high variability, at least a 75 % deviation from controls is needed to be statistically significant. For fertilization rate, a quality criterion of 85 % is suggested. Due to the low variability, a 10 % deviation from controls is probably statistically significant. For sex ratio, a normal range of 35–65 % is suggested. A deviation of more than 50 % from control arithmetic mean is probably statistically significant.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Christoph Schäfers
Phone: +49 (0) 29 72/3 02-2 70
christoph.schaefers@ime.fraunhofer.de

Wiedererholung von Wasserflöhen nach Carbarylbelastung – Ein Modellierungsansatz

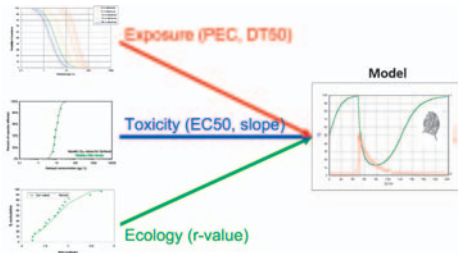


Figure 1:
Combining exposure, toxicity and ecology to
calculate ecological effects and recovery.

Ausgangssituation

In einer Fallstudie im Rahmen des EU-Projekts EUFRAM (www.eufram.com) wurde das Risiko des Wirkstoffs Carbaryl für aquatische Lebensgemeinschaften abgeschätzt. Dabei wurden die Arten nach Lebensraum und Ernährungstyp gruppiert und filtrierende Planktonorganismen wie Wasserflöhe (*Daphnia* und andere Cladoceren) als kritische Gruppe identifiziert: Sie sind zum einen sehr empfindlich, zum anderen aber auch durch ihr Vorkommen in stehenden Gewässern möglicherweise länger exponiert als Organismen aus Fließgewässern. Der Vergleich von Toxizitätsdaten mit erwarteten Konzentrationen im Gewässer berücksichtigt allerdings nicht das hohe Wiedererholungspotenzial dieser Organismen. Aus Modellökosystemstudien war für Daphnien eine ökologisch akzeptable Carbarylkonzentration von 10 µg/L abgeschätzt worden.

Aufgabe

Ziel der hier vorgestellten Modellierung war es, durch die Kombination der Expositions- und Effektabschätzung mit populationsökologischen Basisdaten die angenommene ökologisch akzeptable Carbarylkonzentration für Cladoceren abzusichern (Figure 1).

Projektbeschreibung

Die Erholung einer Cladocerenpopulation nach akuten Effekten durch eine Carbarylbelastung wurde durch das einfache logistische Populationsmodell simuliert (Figure 2). Wachstumsraten für 15 Cladocerenarten konnten einem Review von Barnthouse (2004, *Env. Tox. Chem.* 23, 2, p.500-508) entnommen werden. Der Verlauf der Exposition nach Drifteintrag in Gewässer wurde mit einer exponentiellen Abnahme (Halbwertszeit 1,2 Tage) modelliert. Für 7 Cladocerenarten lagen akute EC_{50} -Werte zur Charakterisierung der Artempfindlichkeit vor. Es wurde eine log-logistische Dosis-Wirkungsbeziehung angenommen. Das Erreichen einer Populationsdichte von 95 % der Habitatkapazität wurde als Wiedererholung gewertet.

Ergebnisse

Die kleinste artspezifische Wachstumsrate (0.17/d) und die niedrigste EC_{50} (6.4 µg/L) wurden verwendet, um die Wiedererholung bei der angenommenen ökologisch akzeptablen Konzentration von 10 µg/L abzuschätzen. Damit wurde eine Erholung innerhalb von 3 Wochen vorhergesagt (Figure 2). Wenn die Variabilität der Wachstumsraten und Empfindlichkeit verschiedener Cladocerenarten mit Monte-Carlo-Simulationen berücksichtigt wurde, lag die mittlere Erholungsdauer bei 9 Tagen und in 95 % der Simulationen unter 26 Tagen (Figure 3). Unsicherheit über den Drifteintrag des Carbaryls führt zu einer breiteren Verteilung der Wiedererholungszeit mit einem Median von 16 Tagen. Für einen von 20 Fällen wird eine Erholungszeit von mehr als 6 Wochen prognostiziert (Figure 4).

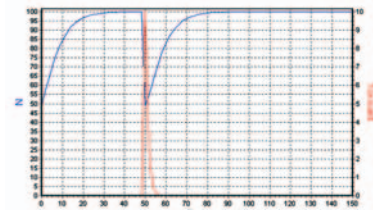


Figure 2:
Logistic growth of the population (blue) and
exponential decrease of the carbaryl concentration
(red).

Fazit

Die Modellierung deutet darauf hin, dass auch bei geringem Abstand zwischen Anwendung und Gewässer eine Erholung der Cladocerenpopulation innerhalb weniger Wochen erwartet werden kann. Die Ergebnisse werden durch Studien in Modellökosystemen gestützt, in denen Daphnienpopulationen nach einer Belastung mit 15 µg/L Carbaryl innerhalb weniger Tage und bei einer Initialkonzentration von 100 µg/L innerhalb von 6 Wochen eine Wiedererholung zeigten. Der vorgestellte Modellierungsansatz erlaubt, Informationen über Exposition, Toxizität und Populationsökologie zusammenzuführen und dabei auch natürliche Variabilität (z. B. zwischen verschiedenen Arten) und Unsicherheiten (z. B. über verschiedene Modellparameter) in die Risikoabschätzung einzubeziehen. Abhängig von der konkreten Fragestellung ist es möglich, auch komplexere Expositions- und Populationsmodelle zu verwenden.

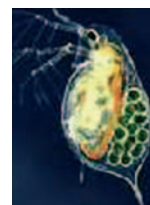
Das EUFRAM-Projekt wird gefördert im „European Commission's 5th Framework Programme“.

Contract no. QLK5 - CT 2002 01346.

Kooperation / Cooperation

Dr. Eugen Ebert, Dr. Dieter Schäfer
Bayer CropScience, Germany

Recovery of Cladocerans after Exposure to Carbaryl – a Modelling Approach



Background

A probabilistic aquatic risk assessment for carbaryl was conducted as a case study within the scope of the EU-project EUFRAM (www.eufram.com). The effect assessment took into account the ecophysiology and species habitat. Planktonic filter feeders like *Daphnia* and other cladocerans were identified as the most critical taxa because of their high sensitivity and exposure in lentic waters. However, the comparison of predicted exposure concentrations and toxicity values does not take into account the high recovery potential of cladocerans. Based on a few micro- and mesocosm studies, the ecologically acceptable concentration for daphnids was proposed to be 10 µg/L.

Aims

The objective of the simulation studies described here was to provide evidence to the assumed ecologically acceptable carbaryl concentration for cladocerans by combining exposure and species sensitivity assessments with basic information about population ecology (Figure 1).

Approach

To estimate the recovery times of cladoceran species after acute effects of carbaryl, the logistic model of population growth was used (Figure 1). Growth rates for 15 cladoceran species were taken from the review by Barnt-house (2004, Env. Tox. Chem. 23, 2, p.500-508). Exposure was modelled as a first order decay of carbaryl concentrations in the water, described by a DT_{50} of 1.2 days, which was measured in an aerobic water/sediment system

representative for cladoceran habitats. Acute EC_{50} values were available for 7 cladoceran species. A log-logistic dose-response function was assumed. Recovery time was defined as the time after application necessary to return to 95 % of the carrying capacity.

Results

In order to simulate the effects of the proposed NOEAEC (No Observed Ecological Adverse Effect Concentration) of 10 µg/L, the lowest available r-value and the lowest species EC_{50} per species were used. For these worst case assumptions, the model predicted a recovery time of 18 days (Figure 2). When the variation in population growth rates and the sensitivity of cladoceran species was considered using Monte-Carlo simulations, the median recovery time was estimated to be 9 days with a 95th percentile of 26 d (Figure 3). In other words, the risk of recovery taking longer than 4 weeks was predicted to be lower than 5 %.

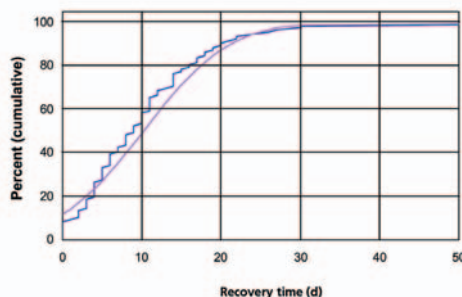


Figure 3: Predicted recovery time of cladocerans for an initial carbaryl concentration of 10 µg/L considering species variability in population growth rate and sensitivity.

Taking into account uncertainty about the drift entries, the cumulative curve of the recovery time became less steep. For a distance of 3 m to the water body, the median recovery time was calculated to be 16 days, while the 95th percentile was 42 days (Figure 4).

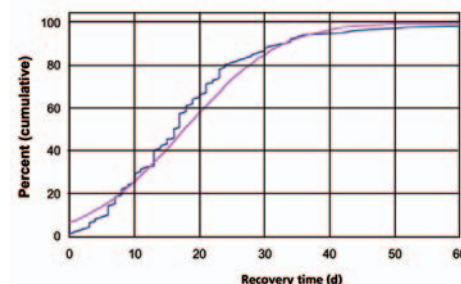


Figure 4: Predicted recovery time of cladocerans considering species variability in population growth rate and sensitivity as well as uncertainty about initial carbaryl concentrations for drift entries from a 3-m distance.

Conclusions

The simulation results correspond well with the results of model ecosystem studies indicating recovery of *Daphnia* within a few days at 15 µg/L and within 6 weeks at initial concentrations of 100 µg/L. Therefore, even for the exposure scenario with the lowest mitigation measure (3 m), the recovery of cladocerans within a few weeks is likely due to the rapid dissipation of carbaryl and the high recovery potential of the cladocerans.

The modelling approach allows information about exposure, toxicity and population ecology to be integrated. It can also consider variability (e.g. between species) as well as uncertainty, such as measurement errors for probabilistic risk assessment. Depending on the situation and species to be modelled, more complex exposure and population models can be used.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Udo Hommen
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 55
udo.hommen@ime.fraunhofer.de



Garland with ribbons

Richtfest des IME Neubaus in Aachen

Am 24. September 2004 wurde am Neubau des IME in Aachen mit dem Richtfest die Fertigstellung des Rohbaus gefeiert. Der Institutsleiter Professor Rainer Fischer konnte mit seinen Mitarbeitern zahlreiche Gäste aus Politik und Forschung auf der Baustelle begrüßen.

In seiner Ansprache dankte Professor Fischer allen, die den Rohbau errichtet haben, aber auch denen, die im Vorfeld das ehrgeizige Projekt in direkter Nähe zur RWTH und den anderen Aachener Fraunhofer-Instituten erst möglich gemacht haben. Er betonte, dass durch diesen Neubau für die Region eine europaweite Sonderstellung in der Biotechnologie geschaffen werden kann.

Auch Dr. Alfred Gossner, Mitglied des Vorstands der Fraunhofer-Gesellschaft, hob die künftig noch stärkere Kooperation mit der RWTH hervor. Der Pro-Rektor der RWTH Aachen, Prof. Dr. Rolf Roissant, freute sich besonders darüber, dass die RWTH nun eine noch stärkere Ausrichtung auf die Industrie

vorweisen könne. Auch der Oberbürgermeister der Stadt Aachen, Dr. Jürgen Linden und Karl Schultheis vom NRW-Wissenschaftsministerium überbrachten persönlich ihre Glückwünsche für den Fortgang der Bauarbeiten und die spätere wissenschaftliche Arbeit im Institut.

Als Aachenerin ließ es sich auch die Bundesministerin für Gesundheit und Soziale Sicherheit, Frau Ulla Schmidt, nicht nehmen, sich vor Ort vom Fortschritt der Bauarbeiten zu überzeugen. In ihrem Grußwort hob sie die Arbeiten am IME zur Etablierung neuer, bezahlbarer Medikamente hervor.

Der Einzug in das neue Gebäude ist für den Spätsommer 2005 geplant, die vollständige Funktionstüchtigkeit soll 2006 erreicht werden. Dann sollen in dem neuen Gebäude bis zu 150 Personen, vor allem in dem Forschungsbereich Molekulare Biotechnologie, arbeiten können.

Das Hauptgebäude beinhaltet die Labore, Büros, einen großen Konferenzraum, Cafeteria und einen Innenhof. Angegliedert sind der GMP-Bereich, der die Produktion von Proteinen nach den Grundsätzen des „Good Manufacturing Practice“ ermöglicht, Gewächshäuser sowie Werkstätten.

Neben den Einrichtungen in Schmallenberg und im amerikanischen Delaware wird mit dem Neubau in Aachen der dritte Standort des IME gefestigt.



Federal Minister of Public Health, Ulla Schmidt, talking to Rainer Fischer, Director of the IME

Finanziert wird das rund 33,2 Millionen Euro teure Institut aus Landes- und Bundesmitteln, wobei die RWTH Aachen das 32000 Quadratmeter große Areal zur Verfügung stellte.

Kooperationspartner / Cooperation

Heinle, Wischer und Partner, Stuttgart
CRC; Clean Room Consulting, Freiburg
Pharmaplan, Oberursel
apk Kamphausen + Partner, Willich
Cremer + Winterscheid, Aachen



Entrance area of the new building



Overview of the new IME building, December 2004



Greenhouses, December 2004

New Fraunhofer IME Building in Aachen

On 24th September 2004 there was a celebration to mark the completion of the shell of the new IME building in Aachen. The head of the institute, Professor Rainer Fischer, joined with his co-workers and many other guests from politics, science and industry (including the Federal Minister of Public Health, Mrs. Ulla Schmidt) to honor the occasion.

The construction work was launched in November 2003 with a ceremony to mark the 'first cut of the spade'. The building should be completed and ready for occupation in the late summer of 2005, and should be fully functional by early 2006. It will be staffed by personnel mainly working in the field of molecular biotechnology.

When it is finished, up to 150 persons will be able to work at the new site, which will contain laboratories, offices,

conference rooms, cafeteria and a beautiful patio. Next to it are the GMP facility, where proteins will be produced to clinical standards under 'Good Manufacturing Practice', moreover, state-of-the-art greenhouses and a workshop.

The new building in Aachen brings the total number of IME facilities to three, the others being the original IME building in Schmallenberg and the Center for Molecular Biotechnology in Newark, Delaware. This network helps to strengthen the IME's activities and foster further links with industry and universities.

The € 33.2 million building project was financed by the „Land“ North Rhine-Westphalia and the federal budget. The RWTH Aachen provided the 32,000 m² site, which is located adjacent to two other Fraunhofer institutes: the ILT and IPT.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Dieter Peschen
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 81 30
dieter.peschen@ime.fraunhofer.de



GMP facility, December 2004



Inbetriebnahme des neuen Gewächshauses in Schmallingenberg

Im letzten Jahr konnte für die molekularbiologischen Abteilungen am Standort Schmallingenberg das neue Gewächshaus in Betrieb genommen werden.

Mit einer Grundfläche von ca. 200 m² bietet es Raum für die Aufzucht verschiedener Pflanzen in größerer Anzahl. In zwei Kulturabteilungen und einer Starklicht-Kulturkammer können unterschiedliche Bedingungen eingestellt und Klimazonen simuliert werden. Ein speziell für Gewächshäuser entwickeltes elektronisches Regelsystem ermöglicht die automatische Steuerung von Lüftung, Heizung, Kühlung, Luftbefeuchtung, Bewässerung, Beleuchtung und Schattierung.

Als erste Projekte werden im Gewächshaus chemische Mutagenesen an Kartoffelpflanzen (Tilling) durchgeführt sowie die Anzucht von verschiedenen Fabaceen (Schmetterlingsblüher wie z.B. Erbse und Bohne) zur Aufreinigung von Forisomen (Proteingebilde, die als ‚Tore‘ für verschiedene Substanzen in der Zelle dienen). Nach erfolgreicher Anmeldung der Gewächshausanlage im Sinne des Gentechnikgesetzes sind zu einem späteren Zeitpunkt auch Arbeiten mit gentechnisch veränderten Pflanzen geplant.

Ansprechpartner / Contact

Dr. Dirk Prüfer
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 22
dirk.pruefer@ime.fraunhofer.de

Firmenausgründung in Delaware

Unter maßgeblicher Beteiligung von Fraunhofer USA und speziell dem Center for Molecular Biology (CMB) wurde im Staat Delaware ein neues Biotechnologieunternehmen, Athena Biotechnologies Inc. (AthenaBio), gegründet. Dr. William Hartmann, stellvertretender Direktor von Fraunhofer USA führte zahlreiche Verhandlungen, in denen Vereinbarungen getroffen wurden, die zur erfolgreichen Gründung dieses Unternehmens führten. Die Aufgaben des Vorstandsvorsitzenden von AthenaBio übernahm der bisherige Direktor des CMB, Dr. Barry Marrs. Seine bisherigen Aufgaben im CMB werden künftig von Dr. Vidadi Yusibov wahrgenommen.

Durch Lizenzvereinbarungen mit Fraunhofer USA hat AthenaBio Zugang zu Schlüsselpatenten des CMB erhalten. Im Gegenzug erhielt Fraunhofer USA Anteile von AthenaBio. Darüber hinaus wurden Vereinbarungen über die künftige Zusammenarbeit in Forschung und Vermarktung getroffen. Die Lizenzvereinbarungen betreffen auch ein Patent zur Kultivierung von Mikroorganismen, die bislang als nicht kultivierbar galten. Dieses ist Teil eines IP-Pakets, das Fraunhofer USA ursprünglich von Hercules Inc. überlassen wurde. AthenaBio konnte Forschungslabors und Büroräume im Stine Haskell Research Center in Newark, Delaware, beziehen, so dass die enge Kooperation mit dem ebenfalls in Newark beheimateten CMB erleichtert wird. Die Ausgründung von AthenaBio stellt einen wichtigen Teil der Verwirklichung der von Prof. Rainer Fischer und des Staates Delaware geteilten Vision dar, die im Jahre 2001 zur Gründung des CMB führte.

Buchveröffentlichungen

Mitarbeiter des Fraunhofer IME waren 2004 maßgeblich an der Erstellung zweier Bücher beteiligt, die einen Überblick über die Pflanzenbiotechnologie bzw. das Molekulare Farming, die Produktion rekombinanter Proteine in Pflanzen, geben.

Handbook of Plant Biotechnology

Das Handbuch präsentiert die wichtigsten, von einem internationalen Team erfahrener Forscher und Fachleute aus Wissenschaft und Industrie verfassten Referenzen zum Thema Pflanzenbiotechnologie. In einer chronologischen Aufmachung veranschaulichen beide Bände die Prinzipien und Praktiken der modernen Pflanzenbiotechnologie, wobei auch aktuelle wirtschaftliche Aspekte berücksichtigt werden.

Molecular Farming

Autoren aus Forschung und Industrie präsentieren einen umfassenden Überblick über gegenwärtige Technologien zur Produktion rekombinanter Proteine in Pflanzen und die faszinierenden Möglichkeiten für zukünftige Anwendungen. Die angesprochenen Themen beinhalten: in Chloroplasten erzeugte Antikörper, Biopharmazeutika und essbare Impfstoffe, die Produktion von Antikörpern in Pflanzen und pflanzlichen Zell-Suspensionskulturen, die Herstellung von Spinnenseide-Proteinen in Pflanzen und die Glykosylierung der in Pflanzen produzierten Proteine. Berichte zu den Forderungen und Erwartungen der pharmazeutischen Industrie an das Molekulare Farming sowie die Wahl der Pflanzenspezies zur Optimierung der rekombinanten Proteinausbeuten runden die Thematik inhaltlich ab.

New Greenhouse in Schmallenberg

Autumn 2004 marked the completion of a new greenhouse for the molecular biology work groups in Schmallenberg. The building boasts a 200-m² cultivation area, which is sufficient for the growth of many different plant species, and the two culture sections which can independently simulate different climate zones. An automatic regulatory system developed especially for greenhouses monitors and controls the ventilation, heating, cooling, humidity, irrigation, lighting and shading. The external climate conditions are monitored by a weather station equipped with a rain indicator, wind strength/direction sensors and a brightness sensor. Each culture section has independent air conditioning devices.

Initial projects using the new greenhouse will include chemical mutagenesis with potato plants as well as the cultivation of different Fabacea plants for the purification of forisomes. Experiments with transgenic plants are planned for the near future, once the official permission under the Genetic Engineering Act (Gentechnikgesetz) has been received.

Spin-off Company in Delaware

The Center for Molecular Biotechnology in Delaware has played a key role in the formation of a new Delaware biotech start-up company, Athena Biotechnologies, Inc. (AthenaBio). Dr. William Hartman, Vice President of Fraunhofer USA, guided many of the negotiations and agreements that were required to achieve the spin out. The successful start-up strategy involved a realignment of the leadership of CMB, with Dr. Vidadi Yusibov taking over responsibilities as the Executive Director

and Dr. Barry L. Marrs resigning from Fraunhofer to become CEO of AthenaBio. AthenaBio has established its laboratories and offices at the Stine Haskell Research Center in Newark, Delaware.

AthenaBio has been granted a license to certain Fraunhofer USA intellectual property in exchange for equity in AthenaBio, a research contract with Fraunhofer CMB, and future cash considerations. The IP licensed is part of that donated to Fraunhofer USA by Hercules, Inc. It concerns technology for the cultivation of microbes that are normally considered impossible to cultivate.

CMB's contributions to the creation of AthenaBio fulfil an important part of the vision that Professor Rainer Fischer and the State of Delaware shared upon founding the CMB in July 2001.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Vidadi Yusibov
Tel: +1 302 369 3766
vyusibov@fraunhofer.org

Books

Fraunhofer IME employees have been responsible for editing two books in 2004 presenting an overview of plant biotechnology and molecular farming - the production of recombinant proteins in plants.

Handbook of Plant Biotechnology

This publication represents the first major reference work on Plant Biotechnology, written by an international team of experienced researchers and professionals from academia and industry. Presented in a logical and informative style, it brings together the principles and practice of

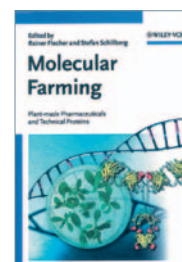


contemporary plant biotechnology, including modern commercial aspects.

Christou, P., Klee, H. (eds):
Handbook of Plant Biotechnology.
John Wiley & Sons Inc., NY (2004)
Volume 1 + 2

Molecular Farming

The authors from academia and industry provide an exciting overview of current protein production technologies in plants and the fascinating possibilities for future applications. Topics include chloroplast-derived antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines, production of antibodies in plants and plant cell suspension cultures, production of spider silk proteins in plants, and glycosylation of plant-produced proteins. The volume concludes with chapters on the demands and expectations of industry and the choice of crop species for the improvement of recombinant protein levels.



Fischer, R., Schillberg, S. (eds):
Molecular Farming: Plant-made pharmaceuticals and technical proteins.
Wiley-VCH, Weinheim (2004)

Brennpunkt Lebensmittelsicherheit

Eine offizielle Definition des Begriffs „Lebensmittelsicherheit“ existiert national oder auf EU-Ebene zwar nicht, aber in der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 werden in Artikel 14 die Anforderungen an die Lebensmittelsicherheit beschrieben. Danach dürfen Lebensmittel, die nicht sicher sind (d. h. gesundheitsschädlich oder für den Verzehr ungeeignet) nicht in Verkehr gebracht werden.

Trotz dieser klaren Vorgabe ist Lebensmittelsicherheit ein regelmäßiges Thema in den Medien (Stichworte Dioxin, Acrylamid und BSE). Solche Berichte werden in der Öffentlichkeit mit großem Interesse verfolgt und haben somit auch Einfluss auf politische Zielsetzungen. Dazu notwendige, leicht zugängliche wissenschaftliche Untersuchungen, finanziert durch öffentliche Gelder, dienen wiederum als Interpretationsvorlage für die Medien.

Solche Meldungen erzeugen das Bild des industriell hergestellten und stark mit Schadstoffen kontaminierten Lebensmittels. Andere, weitaus höhere Risiken werden dabei oft außer Acht gelassen: So sind ungefähr ein Drittel aller Krebs-, Herz- und Gefäßerkrankungen auf eine falsche Ernährung zurückzuführen. Weiterhin sind die jährlich millionenfach in Europa vorkommenden Lebensmittelvergiftungen fast alle Folge mikrobieller Kontaminationen. Da theoretisch während der gesamten Herstellung und Verarbeitung die Qualität und Sicherheit der Lebensmittel beeinträchtigt werden kann, liegt die Herausforderung in der konsequenten Nutzung von HACCP-Konzepten (hazard analysis and critical control points), die jeden Produktionsschritt hinsichtlich Lebensmittelsicherheit überprüfen.

Wichtige Änderungen in Europa

In 2005 erhält die bereits erwähnte Verordnung (EG) Nr. 178/2002 verbindliche Wirksamkeit. Es handelt sich dabei um die Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. Darin finden sich die Regelungen zu Themen wie

- Verpflichtung und Verantwortung des Herstellers
- Rückverfolgbarkeit
- Anforderungen an importierte Lebensmittel.

Weiterhin werden zwei EG-Hygiene-Verordnungen ab 2006 in geltendes Gemeinschaftsrecht umgesetzt. Als direkte Folge müssen zahlreiche nationale Hygienevorschriften angepasst werden (z. B. bei Fleisch, Geflügel, Milch und Fisch).

Außerdem ist auf nationaler Ebene das Gesetz zur Neuordnung des Lebensmittel- und des Futtermittelrechtes angekündigt, dessen zentraler Teil das Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) sein wird. Dem Gesetz liegt der Gedanke zugrunde, die Lebensmittelkette einheitlich zu managen (Kontrolle vom Erzeuger bis zum Verbraucher).

Durch die Erweiterung der europäischen Union werden sich die Handelsströme verändern, d.h. verstärkte Warenströme zwischen neuen und alten Mitgliedstaaten müssen auch unter dem Aspekt der Lebensmittelsicherheit betrachtet werden.

Alle diese Änderungen stellen höhere Anforderungen an die prozessorientierte Überwachung.

Neue analytische Ansätze und Aufgaben am Fraunhofer IME

Das IME stellt sich diesen Herausforderungen und konnte mit Dr. Mark Bücking einen renommierten Lebensmittelchemiker für die Leitung der Abteilung Umwelt- und Lebensmittelanalytik gewinnen. Einen Schwerpunkt der Arbeit von Herrn Bücking wird die Entwicklung von innovativen Detektionsverfahren für die Lebens- und Futtermittelanalytik darstellen.

Ziel ist die Etablierung von Gas- und Biosensoren (s. Figure 1) mit niedrigen Nachweisgrenzen und beträchtlich verkürzter Analysenzeit („fast detection systems“), die in kleinen, portablen Geräten Platz finden („hand held (field) option“). Solche kostengünstigen Systeme könnten nicht nur im Labor zum Screening eingesetzt werden, sondern auch direkt in der Prozesskontrolle (on-line oder in-line Verfahren). Durch ihre einfache Bedienung und reproduzierbaren Messeigenschaften könnten sie auch im Rahmen des „From Farm to Fork“-Konzeptes genutzt werden, etwa um chemische Kontaminanten, Fremdaromen („off-Flavours“), pathogene Mikroorganismen sowie Allergene auf ihrem Weg vom „Feld zum Verbraucher“ zu erkennen und zu verfolgen.

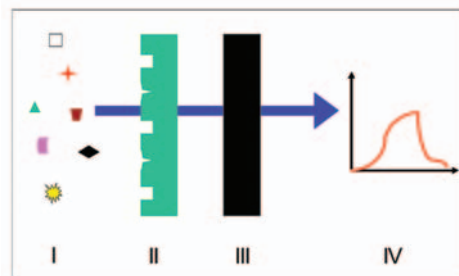


Figure 1:
General working principle of chemical sensors and biosensors: The sample (I) interacts with a sensitive surface (II) – by this (semi)-selective interaction certain physical properties of the surface (weight, frequency etc.) are changed. This change is converted by a transducer (III) and evaluated by software (IV).

Focal Point Food Safety

Although there is no official definition of food safety at either the national or EU levels, demands for food safety are laid down in article 14 of regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and the Council of 28th January 2002. According to this article, food cannot be placed on the market, if it is unsafe (i.e. if it is detrimental to health or unfit for human consumption). The conclusion that food safety has no importance in daily life is disproved by media reporting about occurrences of food contamination, e.g. with dioxine, acrylamide, and BSE. Since the public interest in such cases is enormous, these reports are often used for political statements. As a consequence, public-financed scientific research projects can be the source for new reports in the media.

This cycle (see also Figure 2) has created the image of the industrially-produced and highly-contaminated food product. However, the fact that one third of all cardiovascular and cancer diseases are diet-related is generally disregarded. Furthermore, almost all cases of food poisoning, millions per year all over Europe, are related to microbial contamination.

Since every food production step has a certain risk potential, the consistent usage of HACCP-concepts (hazard analyses and critical control points) is clearly important.

New developments in Europe

Regulation (EC) No 178/2002 will come into effect in 2005. It will define general food law considerations, it establishes the European Food Safety Authority and it will provide general food safety procedures. It will also cover topics such as:

- Obligations and liabilities of the food producer
- Traceability
- Requirements for imported food.

Furthermore, two EU-regulations concerning the hygiene of foodstuffs will come into effect in 2006. As a direct consequence, several national hygiene regulations have to be adopted (e.g. meat, poultry, milk and fish).

Germany has announced the restructuring of the food and feed law. The new structure clearly reflects the philosophy of the 'from farm to fork' concept, i.e. management of the food chain as a whole.

The expansion of the European Union will also change the flow of trade, i.e. an increase of trade between old and new members. Food safety issues will be also important within these developments.

New analytical approaches at Fraunhofer IME

The IME meets these challenges and has recruited Dr. Mark Bücking, a renowned food chemist, as head of the

department Environmental & Food Analysis. One of the focal points of his activities will be the development of innovative detection techniques, which can be used in food and feed analysis. The aim is to produce gas- and biosensors (see Figure 1) with low detection limits which will reduce the analytical timeframe significantly (rapid detection methods) with a 'hand-held' option to facilitate field use. These cost-saving devices could be used in laboratories as screening tools, and also directly at production sides as on-line or in-line measurement modules. Because of their simplicity, robustness and measurement reproducibility, a concrete application is the 'from farm to fork' concept. Examples for application are the analysis and detection of chemical contamination, off-flavours, pathogenic microorganisms and allergens.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Mark Bücking
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 04
mark.buecking@ime.fraunhofer.de

Dr. Björn Seidel
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-3 30
bjoern.seidel@ime.fraunhofer.de

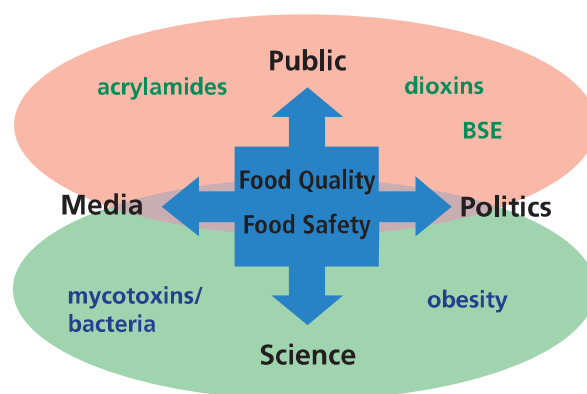


Figure 2:
Different groups have different perceptions of the term 'food safety'. The resulting interaction between these groups influences public opinion, food producer regulation and food legislation.

Jahrestagung SETAC-GLB und GDCh in Aachen



Vom 6. bis 8. Oktober 2004 wurde die 2. Jahrestagung der SETAC-GLB (Society of Environmental Toxicology & Chemistry, German-Language Branch e.V.) und der GDCh-Fachgruppe „Umweltchemie und Ökotoxikologie“, unter Beteiligung niederländischer Umweltorganisationen und des europäischen Verbands FECS (Federation of European Chemical Societies and Professional Institutions) vom Institut für Umweltforschung an der RWTH, Dr. Roß-Nickoll, Prof. Ratte und Prof. Schäffer, in Aachen organisiert.

Das Angebot mit 75 Vorträgen und 85 Postern bot einen umfassenden Überblick über die aktuelle Umwelt-Schadstoff-Forschung und lockte 280 Teilnehmer nach Aachen. Wissenschaftler des IME waren mit insgesamt 12 Beiträgen auf der Tagung vertreten (s. Kapitel Vorträge und Poster).

Das Thema anthropogener Stressfaktoren wurde von der molekularen Ebene über die Organismen bis hin zur ökosystemaren Sichtweise in den Kompartimenten Boden, Wasser und Atmosphäre diskutiert. Für die Plenarvorträge konnten Prof. Dr. René Schwarzenbach von der EAWAG, Zürich („Science and practice: A difficult marriage“), Prof. Dr. Otto Klemm von der Universität Münster („Trends in Atmospheric Chemistry“) und Prof. Dr. Lorraine Maltby von der University Sheffield („Stress ecology: Applying ecological theory and understanding to risk assessment and management“), gewonnen werden.

Eine besondere Art der Grenzüberschreitung war am ersten Abend die Eröffnung der eigens als Teil des Rahmenprogramms von Gisela Schäffer und anderen StudentInnen und DozentInnen der RWTH Aachen konzipierten Ausstellung „Wildnis im Kunstlabor“ im Ludwig-Forum für Internationale Kunst, in der zeitgenössische KünstlerInnen ihre Auseinandersetzung mit dem Thema Ökologie präsentierten. Zu dem beeindruckenden Erlebnis trug auch die Darbietung zeitgenössischer Musik durch den Chor „Carmina Mundi“ unter Leitung von Harald Nickoll während der Ausstellungseröffnung bei.

Die vom Umweltbundesamt im Jahr 2002 maßgeblich in Gang gesetzte Diskussion zur Zukunft der Ökotoxikologie und zur Ausbildung der Ökotoxikologen führte während der Tagung in Aachen zu einem greifbaren Ergebnis. Voraussichtlich schon ab Sommer 2005 soll die postgraduale Weiterbildung mit dem zertifizierten Abschluss Fachökotoxikologin/e SETAC/GDCh beginnen.

Neuer Lehrstuhl an der RWTH Aachen

Im April 2004 wurde die Professur für Umweltanalytik unter der Leitung von Professor Andreas Schäffer in den Lehrstuhl für Umweltbiologie und -chemodynamik an der RWTH Aachen umgewandelt. Die Arbeitsgruppen des Lehrstuhls beschäftigen sich mit dem Schadstoffmetabolismus und -transport in Böden und Pflanzen, den Mechanismen mikrobiologischer Umsetzungen von Schadstoffen in Böden, der Bedeutung und Genese von Huminstoffen, der Bioremediation, der Umwelttechnologie sowie der terrestrischen Stressökologie. Die Themenschwerpunkte ergänzen somit jene des Lehrstuhls für Ökologie, Ökotoxikologie und Ökochemie unter der Leitung von Professor Ingolf Schuphan. Beide Lehrstühle sind nun im Institut für Umweltwissenschaften (Biologie V) beheimatet.

Borchers-Plakette für Doktorprüfung

Richa Nath aus Lucknow, Indien, die von 2002 bis 2004 im Rahmen von Projekten des Fraunhofer IME an der RWTH Aachen ihre Doktorarbeit anfertigte, erhielt für ihre außergewöhnliche Leistung die „Borchers Plakette“ der RWTH Aachen. Damit wurde ihre mit Auszeichnung bewertete Dissertation zum Thema „Generation and characterisation of plant produced recombinant antibodies specific to LHRH for treatment of sex hormone dependent diseases“ gewürdigt.

Annual Meeting of SETAC-GLB and GDCh in Aachen

The Second Joint Meeting of SETAC-GLB (Society of Environmental Toxicology & Chemistry, German-Language Branch e.V.) and the GDCh-Group „Environmental Chemistry and Ecotoxicology“, was organized by Dr. Roß-Nickoll, Professor Ratte and Professor Schäffer of the RWTH Institute of Environmental Research, Aachen, in co-operation with Dutch environmental organizations and the European Federation of European Chemical Societies and Professional Institutions (FECS).

Two hundred and eighty participants presented 75 lectures and 85 posters giving an up-to-date view of relevant environmental themes with respect to stressors and their effects on soil, water and atmosphere from the molecular scale to the ecosystem scale. Plenary lectures covered the topics „Science and practice: A difficult marriage“ (Prof. Schwarzenbach, EAWAG, Zürich), „Trends in Atmospheric Chemistry“ (Prof. Klemm, University of Münster) and „Stress ecology: Applying ecological theory and understanding to risk assessment and management“ (Prof. Dr. Lorraine Maltby, University of Sheffield, UK). Scientists of the IME actively participated in the meeting with 12 oral presentations and posters.

An outstanding event of the conference's side program was the opening of the art exhibition „Ecology“ at the Museum Ludwig Forum for International Art, Aachen, where German contemporary artists presented their view of ecological topics. The exhibition was supplemented by contemporary music by the choir „Carmina Mundi“, conducted by Harald Nickoll.

New Chair at the Technical University (RWTH) Aachen

In April 2004, the professorship in Environmental Analysis, held by Professor Andreas Schäffer at the Technical University Aachen, was replaced by a new Chair of Environmental Biology and Chemodynamics. This covers research activities in areas such as the metabolism and transport of contaminants in soils and plants, mechanisms of microbial transformations of pollutants in soils, the relevance and formation of humic substances, bioremediation, environmental technology and the ecology of terrestrial stressors. The main research subjects complement those covered by the chair of Ecology, Ecotoxicology and Ecological chemistry headed by Professor Ingolf Schuphan. Both chairs are now part of the Institute of Environmental Research (Biology V).

Contact / Ansprechpartner

Prof. Dr. Andreas Schäffer
Tel: +49 (0) 2 41/80 2 68 15
andreas.schaeffer@ime.fraunhofer.de



www.bio5.rwth-aachen.de/

„Borchers-Plakette“ for Doctoral Thesis



Richa Nath from Lucknow, India, has been awarded the „Borchers Plakette“ for extraordinary work in her doctoral

thesis, which was prepared between 2002 and 2004 in the scope of Fraunhofer IME projects conducted in co-operation with the Technical University of Aachen. This award acknowledges her excellent dissertation on the subject „Generation and characterisation of plant produced recombinant antibodies specific to LHRH for treatment of sex hormone dependent diseases“.

Wissenschaftliche Zusammenarbeit Network in Science and Industry

Zusammenarbeit mit Hochschulen *Cooperations with Universities*

Molecular Biology

National:

Aachen, Berlin, Bonn, Darmstadt, Gießen, Freiburg, Hamburg, Hannover, Heidelberg, Kassel, Köln, Lübeck, Mainz, Marburg, München, Münster, Tübingen

International:

Australia (Darwin), Austria (Vienna), Belgium (Gent, Leuven, Lüttich, Brussels), China (Huan, Beijing), England (Durham, Edinburgh, King's College, Leicester, London, Newcastle), Finland (Helsinki), France (Strassburg, Paris, Marseille, Rouen, Versailles), Greece (Crete), India (New Delhi, Bombay, Jalna, Madras), Iran (Teheran), Irak (Bagdad), Italy (Bari, Bologna, Milan, Verona), Japan (Sapporo, Tokyo, Tsukuba), Korea (Seoul), Netherlands (Amsterdam, Wageningen, Utrecht, Leiden, Maastricht, Delft), Switzerland (ETH Zürich), Sweden (Stockholm), Spain (Barcelona, Madrid), USA (Delaware, Thomas Jefferson, Berkeley, Stanford, North Carolina, Ohio State University, Arizona State University)

Applied Ecology

National:

Aachen, Bingen, Darmstadt, Duisburg, Gießen, Hohenheim, Oldenburg, Osnabrück, TU Dresden, FU/TU Berlin, TU München, Weihenstephan, Wiesbaden

International:

Belgium (Ghent), Greece (Athens), Sweden (Umeå), The Netherlands (Utrecht), USA (Pennsylvania State University, Iowa State University, Wright State University (Dayton, Ohio))

Zusammenarbeit mit anderen Forschungseinrichtungen *Cooperations with other Research Establishments*

Molecular Biology

National:

BBA Braunschweig, Forschungszentrum Borstel, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, IPK Gatersleben, Medizinisches Laserzentrum Lübeck, MPIs Berlin, Dresden, Köln, Martinsried, SLFA Neustadt, SFZ Jülich, GBF

International:

China (Chinese Institute for Vaccines, Institute for Genetics, Beijing), Denmark (Copenhagen), England (John Innes Centre, East Malling, UMDS), France (CIRAD; Montpellier), Greece (Maich), Hungary (Agricultural Biotechnology Center), Israel (Volcani Center, Weizman Institute, Kimron Veterinary Institute, Bet Dagan), Italy (CNR Milan), Korea (Seoul), Malaysia (MPOB), Mexico (CICY), Philippines (IRRI), Spain (CSIC, Barcelona), USA (City of Hope National Medical Centre, Beckman Research Institute, Citrus Research and Education Centre, National Cancer Institute, National Institute of Health, Boyce Thompson Institute, Mayo Clinic)

Applied Ecology

National:

BBA Braunschweig, Forschungszentrum Jülich, GSF Neuherberg, Robert-Koch-Institut, Berlin, UFZ Leipzig-Halle, Wehrwissenschaftliches Institut für Schutztechnologien ABC-Schutz, Munster, Wehrtechnische Dienststelle für Waffen und Munition, Meppen

International:

Belgium (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Geel),

India (Ecotoxicology and Toxicology Institute, Lucknow), Israel (Kimron Veterinary Institute, Bet Dagan), Italy (Joint Research Centre, ECB, Ispra), Japan (Chemicals Evaluation and Research Institute, CERI), The Netherlands (National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM, Bilthoven), United Kingdom (Water Research Centre (WRc), Swindon)

Zusammenarbeit mit anderen Fraunhofer-Instituten *Cooperations with other Fraunhofer Institutes*

Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik IBMT, St. Ingbert; Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, Stuttgart; Fraunhofer-Institut für Informationstechnologie FIT, Birlinghofen; Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie ICT, Pfinztal; Fraunhofer-Institut für Fertigungstechnik und Angewandte Materialforschung IFAM, Bremen; Fraunhofer-Institut für Elektronenstrahl- und Plasmatechnik FEP, Dresden; Fraunhofer-Institut für Lasertechnologie ILT, Aachen; Fraunhofer-Institut für Produktionstechnologie IPT, Aachen; Fraunhofer-Institut für Schicht- und Oberflächen-technik IST, Braunschweig; Fraunhofer-Institut für Silikatforschung ISC, Würzburg; Fraunhofer-Institut für Siliziumtechnologie ISIT, Itzehoe; Fraunhofer-Institut für Werkstoffmechanik IWM, Freiburg; Fraunhofer-Institut für Systemtechnik und Innovationsforschung ISI, Karlsruhe; Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin ITEM, Hannover; Fraunhofer-Institut für Umwelt-, Sicherheits- und Energietechnik UMSICHT, Oberhausen; Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV, Freising

Zusammenarbeit mit der Industrie

Molekularbiologie

Im vergangenen Jahr gab es Kooperationen mit insgesamt 12 nationalen und internationalen Industriepartnern, für die vertrauliche Projektbearbeitung erfolgte.

Angewandte Ökologie

Im Berichtsjahr bestanden Kooperationen mit 32 nationalen und internationalen Kunden aus der Industrie sowie mit mehreren internationalen Industrieverbünden, für die vertrauliche Projekte durchgeführt wurden.

Kooperation mit der RWTH Aachen

Durch die Anbindung der Institutsleitung an die RWTH Aachen mit dem Institut für Biologie VII (Molekulare Biotechnologie, Prof. Fischer) und dem Institut für Biologie V (Lehrstuhl für Umweltbiologie und -chemodynamik, Prof. Schäffer) besteht eine enge Verflechtung nicht nur personeller Art, sondern auch hinsichtlich der Arbeitsfelder und der Zukunftsentwicklung. In diesem Zusammenhang ist auch das „Applied Life Science Aachen“ (ALSA) – Zentrum an der RWTH Aachen von Bedeutung, ein Forum für interdisziplinäre Projekte innerhalb der Hochschule, jedoch auch unter Beteiligung externer Institute. Im Rahmen von ALSA wird sich das IME im Bereich der Umweltwissenschaften und der Molekularbiologie als Partnerinstitut an der Projekteinwerbung und -bearbeitung beteiligen.

Lehr- und Hochschultätigkeit

Die enge Vernetzung des Bereiches Molekularbiologie mit der universitären Arbeitsgruppe der RWTH Aachen beinhaltet eine umfangreiche Beteiligung des Institutsleiters, Prof. Rainer Fischer, und weiterer Wissenschaftler des Bereichs Molekularbiologie an Vorlesungen, Seminaren und Praktika der Institute für Biologie VII und Biologie I der RWTH. Eine Vernetzung mit den Universitäten Münster und Gießen besteht ebenfalls.

Prof. Rainer Fischer hält außerdem am Mediterranean Agronomic Institute of Chania, (Griechenland) sowie am CICY in Merida (Mexiko) Vorlesungen und Kurse zur Molekularen Biotechnologie, und an der Universität Münster Veranstaltungen zur Pflanzenbiotechnologie ab.

Prof. Andreas Schäffer ist an der RWTH Aachen Leiter des Lehrstuhls für Umweltbiologie und -chemodynamik und bietet auf diesem Gebiet Vorlesungen, Seminare und Praktika an. Seine Arbeitsgruppe untersucht die Themen: Metabolismus und Umweltverhalten von organischen Schadstoffen in terrestrischen und aquatischen Systemen, Mechanismus der Humusbildung, Entwicklung von Dekontaminationsverfahren Schwermetall-belasteter Böden und Gewässer, terrestrische Biozönologie und Bioindikation. Weiterhin ist Prof. Schäffer Vorstandsvorsitzender des Forschungsinstituts für Ökosystemanalyse und -bewertung, gaiac, Aachen.

Prof. Dr. Paul Christou hielt im Berichtsjahr an den Universitäten von Bologna, Italien, Barcelona, Spanien, und Iraklion, Griechenland, die Vorlesungen „Plant biotechnology applications in metabolic pathway engineering, secondary metabolism and alternative

uses of crop plants“, „Plant biotechnology – fundamental science and applications“ und „Molecular biology and genetic engineering in crop improvement“.

Dr. Dirk Prüfer gab an den Universitäten Münster, Gießen und am CICY in Merida (Mexiko) Vorlesungen und Kurse zum Thema Pflanzenbiotechnologie.

Dr. Christoph Schäfers hält an der RWTH Aachen in der Reihe „Ökologie und Ökotoxikologie limnischer Systeme“ die Vorlesungen „Ökotoxikologische Konzeptionen zum Schutz der Gewässer: Stoffbewertung und Umweltqualitätsbewertung: I) Einzelart-Betrachtung und II) Biozönotische Betrachtung“.

Dr. Udo Hommen hält in derselben Reihe die Vorlesung „Modellierung in Limnologie und Ökotoxikologie“.

Cooperation with Industrial Partners

Molecular Biology

In the reported year the Molecular Biology division collaborated, through carrying out confidential projects, with 12 national and international partners from industry.

Applied Ecology

In the reported year the Applied Ecology division collaborated with 32 national and international clients in industry and with several international industrial associations, for whom confidential projects were conducted.

Cooperation with the University of Technology (RWTH) Aachen

The Molecular Biology and the Applied Ecology Divisions of the Institute have close co-operations with the University of Technology (RWTH), Aachen, on a personnel level and with respect to work areas. The Institute director, Prof. Rainer Fischer, is chair and director of the Institute for Biology VII (Molecular Biotechnology), while Prof. Andreas Schäffer, the director of the division of Applied Ecology at the IME, is chair of Environmental Biology and Chemo-dynamics, which is associated to the Institute for Environmental Research (Biology V).

Additional Lecturing Assignments at Universities

In the scope of the close co-operation between the IME division of Molecular Biology and the work group at the University of Aachen there is a strong involvement of the institute director, Prof. Rainer Fischer, and further scientists of the Fraunhofer Molecular Biology division in lectures, courses and seminars of the university department. In addition, close co-operations exist between the Fraunhofer and university scientific staff and the Universities of Münster and Gießen.

Further to this, Prof. Rainer Fischer holds lectures and courses on Biotechnology at the Mediterranean Agromic Institute of Chania, MAICH (Greece), at the CICY in Merida (Mexico) and on Plant Biotechnology at the University of Münster.

Prof. Andreas Schäffer holds lectures, practical courses and seminars in the field of environmental biology and chemistry. His research group investigates the subjects: metabolism and environmental behaviour of organic contaminants in terrestrial and aquatic systems, mechanisms of humus formation, metal decontamination of soils and waters, terrestrial biocenoses and bioindication. In addition, Prof. Schäffer chairs the board of the research institute for ecosystem analysis and assessment, gaiac, Aachen.

In 2004, Prof. Dr. Paul Christou held lectures at the European Universities of Bologna, Italy, Barcelona, Spain and Iraklion, Greece on „Plant biotechnology applications in metabolic pathway engineering, secondary metabolism and alternative uses of crop plants“, „Plant biotechnology – fundamental science and applications“, and „Molecular biology and genetic engineering in crop improvement“.

Dr. Dirk Prüfer held Plant Biotechnology lectures and courses at the Universities of Münster and Gießen and at the CICY in Merida (Mexico).

Dr. Christoph Schäfers holds a lecture at the University of Technology Aachen on „Ecotoxicological Concepts for the Protection of Waters: Assessments of substances and environmental quality: I) consideration of single species, II) consideration of biocenoses“. In the same sequence of lectures Dr. Udo Hommen holds a lecture on „Modelling in Limnology and Ecotoxicology“.

Mitarbeit in Fachorganisationen und Gremien

Memberships of Editorial Boards and Committees

Zeitschriften

Scientific Journals

„Bodenschutz“, Erich Schmidt Verlag;
Redaktionsbeirat: Dr. Werner Kördel

„Ecotoxicology and Environmental Safety“, Academic Press; Editorial Board: Dr. Monika Herrchen

„Journal of Soils and Sediments“, Ecomed, Editor-in-Chief:
Dr. Werner Kördel; Editorial Board:
Dr. Kerstin Hund-Rinke

„Molecular Breeding“, Kluwer Academic Publishers; Editor in Chief:
Prof. Dr. Paul Christou

„Transgenic Research“, Kluwer Academic Publishers; Editor in Chief:
Prof. Dr. Paul Christou; Associate Editors: Prof. Dr. Rainer Fischer, Dr. Stefan Schillberg; Editorial Board:
Dr. Teresa Capell

„Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung“, Ecomed; Herausgeber-gremium: Dr. Kerstin Hund-Rinke, Dr. Werner Kördel

Gremientätigkeit *Committees*

Biologische Bundesanstalt, Braun-schweig; Sachverständigenausschuss „Zulassung von Pflanzenschutzmitteln“; Mitglied: Prof. Dr. Andreas Schäffer

BMBF (Sicherheitsforschung und Monitoring); Mitglied des Wissenschaft-lichen Beirates: Dr. Dirk Prüfer

BUA (Beratergremium für Altstoffe), Mitglied: Dr. Werner Kördel

DECHEMA, Interdisziplinäre Arbeits-gruppe „Umweltbiotechnologie – Boden“; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

DFG, Forum für Forschungsförderung/ Systembiologie; Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

DFG, Arbeitsgruppe „Fortschritte in der Analytik von Pflanzenschutz-mitteln“; Mitglied: Dr. Josef Müller

DIN, Normenausschuss Wasserwesen (NAW), Arbeitsausschuss I 1 „Boden-schutz, Altlastensanierung und Entsorgung“, UA 2 „Entsorgung“; Mitglied: Karlheinz Weinfurter

DIN, Normenausschuss Wasserwesen (NAW), Arbeitsausschuss I 2 „Boden- und Abfalluntersuchung“, UA 2 „Chemische Verfahren“; Mitglied: Dr. Heinz Rüdel

DIN, Normenausschuss Wasserwesen (NAW) I 2 „Boden- und Abfallunter-suchung“, UA 4 „Biologische Verfah-ren“; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

DIN, Normenausschuss Wasserwesen (NAW) VI 1 „Boden – Bodenbeschaf-fenheit“; Mitglied: Dr. Werner Kördel

DIN Normenausschuss Wasserwesen (NAW) AK 7.6 „Fischei-Test“; Mitglieder: Uwe Boshof, Dr. Christoph Schäfers

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

EU, Expert Evaluator, 6th Framework Programme, Gutachterin:
Dr. Monika Herrchen

European Food Safety Authority, Scientific Panel Plant Protection and Pesticide Residues; Mitglied:
Prof. Dr. Andreas Schäffer

FBU, Fachbeirat für Bodenuntersuch-ungen, Mitglied: Dr. Werner Kördel

Fachhochschule Osnabrück, FB Agrar-wissenschaften, Fachbeirat Boden-wissenschaften; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

FOCUS (Forum for international coor-dination of pesticide fate models and their use); Arbeitsgruppe „Version Control of Scenarios“; Mitglied:
Dr. Michael Klein

FOCUS (Forum for international coor-dination of pesticide fate models and their use); Arbeitsgruppe „Ground water“; Mitglied: Dr. Michael Klein

GDCh, Fachgruppe „Umweltchemie und Ökotoxikologie“; Vorstandsmit-glied: Dr. Werner Kördel

GDCh, Fachgruppe „Umweltchemie und Ökotoxikologie“, Arbeitskreis „Bodenchemie und Bodenökologie“; Mitglieder: Dr. Michael Klein, Dr. Werner Kördel, Prof. Dr. Andreas Schäffer

Handbuch der Bodenuntersuchung; Mitglied des Beirats: Dr. Werner Kördel

IUPAC, Subcommittee on Chemistry of Environmental Compartments;
Mitglied: Dr. Werner Kördel

OECD Drafting Group for Fish Tests (FDG); Mitglied: Dr. Christoph Schäfers;
Fraunhofer IME is OECD Lead Laboratory Zebrafish

UBA, Arbeitskreis „Fortentwicklung von Prüfmethoden im Rahmen des Stoffrechts: AK Ökotoxikologie, Akkumulation und Abbau in der Umwelt“;
Mitglied: Dr. Christoph Schäfers

VAAM (Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie), Arbeitskreis „Umweltmikrobiologie“;
Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Wissenschaftlicher Beirat des Life Science-Center der Universität Hohenheim, Mitglied: Prof. Dr. Rainer Fischer

Wissenschaftlicher Beirat für Düngungsfragen des BMVL; Mitglied: Dr. Kerstin Hund-Rinke

Ausrichtung von Veranstaltungen *Organization of Scientific Meetings*

Richtfest. Neubau für das Fraunhofer IME in Aachen, 24. September 2004

2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, Aachen, 6.–8. Oktober 2004, Organisation durch RWTH Aachen

Präsentation auf Messen und Ausstellungen *Presentations at Fairs and Exhibitions*

HANNOVER MESSE, „Oberflächen, Schlüssel für innovative Produkte“, Hannover, 19.–25. April 2004



**Veröffentlichungen
Publications**

Arcalis, E., Marcel, S., Altmann, F., Kolarich, D., Drakakaki, G., Fischer, R., Christou, P., Stoger, E.:

Unexpected deposition patterns of recombinant proteins in post-endoplasmic reticulum compartments of wheat endosperm.

Plant Physiology 136 (2004)
No. 3: 3457–3466

Behret, H., Kördel, W., Stock, B., Zellner, R. (Hrsg.):

Stofftransport und Transformation in der Atmosphäre.

GDCh, 10. BUA-Kolloquium,
Monographie Bd. 28,
ISBN 3-936028-22-2

Böhmer, W., Rüdel, H., Wenzel, A., Schröter-Kermani, C.:

Retrospective Monitoring of Triclosan and Methyl-triclosan in Fish – Results from the German Environmental Specimen Bank.

Organohalogen Compounds 66 (2004)
1516–1521

Bruell, D., Bruns, C.J., Yezhelyev, M., Huhn, M., Müller, J., Ischenko, I., von der Decken, V., Fischer, R., Finnern, R., Jauch, K.W., Barth, S.:

Recombinant anti-EGFR immunotoxin 425(scFv)-ETA' demonstrates strong anti-tumor effect against disseminated human pancreatic cancer in nude mice.

Int. J. Molec. Med. No. 15 (2004)
305–313

Bussian, B., Weinfurtner, K., Kördel, W.:
Selection and Testing of Reference Soil (Refe Sols).

Proceedings: EUROSOL 2004,
Freiburg, 4.–12. 9. 2004,
<http://www.bodenkunde.uni-freiburg.de/eurosoil/>

Capell, T., Christou, P.:

Progress in plant metabolic engineering.

Current Opinion in Biotechnology 15
(2004) No. 2: 148–154

Capell, T., Bassie, L., Christou, P.:

Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America : PNAS 101 (2004) No. 26:
9909–9914

Capell, T.:

Enhanced drought tolerance in transgenic rice.

ISB News Report (August 2004) 4–5

Christou, P., Klee, H. (eds):

Handbook of Plant Biotechnology.

John Wiley & Sons Inc., NY (2004)
Volume 1 + 2, pp. 1420

Christou, P.:

Introduction to plant genetic modification: gene isolation.

In: P. Christou, H. Klee (eds.)
Handbook of Plant Biotechnology,
John Wiley & Sons Inc., NY (2004)
231–232

Claparols, M.I., Bassie, L., Miro, B., Del Duca, S., Rodriguez-Montesinos, J., Christou, P., Serafini-Fracassini, D., Capell, T.:

Transgenic rice as a vehicle for the production of the industrial enzyme transglutaminase: Short communication.

Transgenic Research 13 (2004) No. 2:
195–199

Corvini, P.F.-X., Meesters, R.J.W.,

Schäffer, A., Schröder, H.F., Vinken, R., Hollender, J.:

Degradation of a nonylphenol single isomer by Sphingomonas sp. Strain TTNP3 leads to a hydroxylation-induced migration product.

Appl. Environ. Microbiol. 70 (2004)
6897–6900

di Fiore, S., Hoppmann, V., Fischer, R., Schillberg, S.:

Transient gene expression of recombinant terpenoid indole alkaloid enzymes in Catharanthus roseus leaves.

Plant Molecular Biology Reporter 22
(2004) 15–22

Eisenträger, A., Rila, J.-P., Hund-Rinke, K., Römbke, J.:

Proposal of a testing strategy and assessment criteria for the ecotoxicological assessment of soil or soil materials.

Journal of Soils and Sediments 4
(2004) No. 2: 123–128

Ertunç, T., Schmidt, B., Kühn, H., Bertmer, M., Schäffer, A.:

Investigation on the chemical structure of non extractable residues of the fungicide cyprodinil in spring wheat using ¹³C-C1-phenyl-cyprodinil on ¹³C-depleted plants – an alternative approach to investigate non-extractable residues.

J. Environ. Sci. and Health B39 (2004)
689–707

Evangelou, M.W.H., Daghan, H., Schäffer, A.:

The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil.

Chemosphere 57 (2004) 9:
207–213

Fischer, R.:
The long and windy road for proteins: from in vitro to clinical use, and solutions for reducing time to market for protein-based biopharmaceuticals.
Protein Island Matsuyama International Symposium Proceedings. Matsuyama, Japan (2004)

Fischer, R., Emans, N.:
An Introduction to Industrial and Pharmaceutical Protein Production in Plants.
In: P. Christou, H. Klee (eds.)
Handbook of Plant Biotechnology,
John Wiley & Sons Inc., NY (2004)
741–746

Fischer, R., Commandeur, U.,
Schillberg, S., Twyman, R.M.:
Engineering and production of recombinant antibodies in plants.
Therapeutic Antibodies: Proceedings of the 9th Annual Symposium 2003,
Ranbaxy Science Foundation, New Delhi, India (2004) 73–88

Fischer, R., Emans, N., Twyman, R.M.,
Schillberg, S.:
Molecular farming in plants: technology platforms.
In: Robert M. Goodman (ed.)
Encyclopedia of Plant & Crop Science,
Marcel Dekker Inc. (2004) 753–756

Fischer, R., Nölke, G., Orecchia, M.,
Schillberg, S., Twyman, R.M.:
Improvement of grapevine using current biotechnology.
In: O. A. de Sequeira, J. C. Sequeira (eds.) Proceedings of the First International Symposium on Grapevine Growing, Commerce and Research,
Acta Horticulture (ISIS) 652, ISHS (2004) 383–390

Fischer, R., Ribbert, M., Finner, R.,
Twyman, R.M.:
Chip-based biosensor technology for the detection of pathogens.
Proceedings of the International Palm Oil Congress 2003, Putrajaya, Malaysia (2004) 323–332

Fischer, R., Schillberg, S. (eds):
Molecular Farming: Plant-made pharmaceuticals and technical proteins.
Wiley-VCH, Weinheim (2004) 315 p.

Fischer, R., Stoger, E., Schillberg, S.,
Christou, P., Twyman, R.M.:
Plant-based production of biopharmaceuticals.
Current Opinion in Biotechnology 7 (2004) No. 2: 152–158

Fiume, E., Christou, P., Giani, S.,
Breviario, D.:
Introns are key regulatory elements of rice tubulin expression.
Planta 218 (2004) No. 5: 693–703

Gaur, R.K., Kupper, M.B., Fischer, R.,
Hoffmann, K.M.V.:
Preliminary X-ray analysis of a human VH fragment at 1.8 Å resolution.
Acta Crystallography, D60 (2004) 965–967

Hellwig, S., Drossard, J., Twyman, R.M., Fischer, R.:
Plant cell cultures for the production of recombinant proteins.
Nature Biotechnology 22 (2004) 1415–1422

Heuser, C., Barth, S., Diehl, V.,
Abken, H., Hombach, A.:
An anti-CD30-scFv-IL-2 antibody-cytokine fusion protein that induces resting NK cells to highly efficient cytotoxicity of Hodgkin's lymphoma-derived tumor cells.
Int. J. Cancer 110 (2004) 386–394

Hörner, J., Hund-Rinke, K., Kördel, W.:
Übergreifende Versuche mit Modellschadstoffen – Untersuchungen der in Böden und Grundwasser ablaufenden Prozesse bei unterschiedlichen Milieubedingungen (TV5.5).
In: UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle (Hrsg.) Kontrollierter natürlicher Rückhalt und Abbau von Schadstoffen bei der Sanierung kontaminierter Grundwässer und Böden, Tagungsband BMBF-Statusseminar, 28.–29. 9. 2004: 257–262

Hommen, U., Schäfers, C.,
Dembinski, M., Gonzalez-Valero, J.F.:
Kann die mögliche Exposition gegenüber Pflanzenschutzmitteln die Struktur und Dynamik von Makroinvertebraten-Lebensgemeinschaften in Gräben erklären?
In: BBA, Berlin (Hrsg.) 54. Deutsche Pflanzenschutztagung 2004, Hamburg, 20.–23. 9. 2004, Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft 396 (2004) 91–92

Hund-Rinke, K., Simon, M.:
Terrestrial Ecotoxicity of Eight Chemicals in a Systematic Approach.
Journal of Soils and Sediments, Online First (2004) 7 pages

Hund-Rinke, K., Simon, M., Lukow, T.:
Effects of tetracycline on the soil microflora: Function, diversity, resistance.
Journal of Soils and Sediments 4 (2004) No.1: 11–16

Ji, R., Schäffer, A.:
Synthesis of [uniformly ¹⁴C]-labelled 4-hydroxybenzaldehyde, vanillin and protocatechualdehyde.
J. Labelled Compd. Radiopharm 47 (2004) 209–216

- Klein, M., Herrmann, M.:
Grundwassergefährdung durch Holzschutzmittel: MCPOLMO 3.0 – Ein mathematisches Simulationsprogramm zur Abschätzung der Grundwassergefährdung unter Holzlagerflächen in Deutschland.
Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung: UWSF, Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie 16 (2004) Nr.1: 57–63
- Klimka, A., Tur, M.K., Huhn, M., Bierfreund, U., Terrada, E., Fischer, R., Finnern, R., Barth, S.:
Measurement of antibody-membrane interactions by surface plasmon resonance.
Int. J. Molec. Med. 14 (2004) No. 1: 765–768
- Klockenbring, T., Stöcker, M., Huhn, M., Petersen, A., Bauer, R., Goerlich, R., Fischer, R., Barth, S.:
Antigen-specific targeting and elimination of EBV-transformed B cells by allergen-toxins.
Allergo J 13 Suppl. 1 (2004) 62
- Kördel, W.:
EU-weite Bodenschutzaspekte in der Chemikalienbewertung.
GDCh-Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie 3 (2004), Editorial, ISSN 1617–5301
- Kördel, W., Tertytze, K.:
EU Soil Protection – More than a Memorandum of Understanding?
Journal of Soils and Sediments 3 (2004) 143 (Editorial)
- Kohli, A., Prynne, M.Q., Miro, B., Pereira, A., Twyman, R. M., Capell, T., Christou, P.:
Dedifferentiation-mediated changes in transposition behavior make the Activator transposon an ideal tool for functional genomics in rice.
Molecular Breeding 13 (2004) No. 2: 177–191
- Lichius, A., di Fiore, S., Ruthardt, N., Jochems, C., Emans, N., Fischer, R.:
Breaking new ground.
European Pharmaceutical Review 9 (2004) No. 3: 57–59
- Luyten, H., Vereijken, J., Bücking, M.:
Using proteins as additives in foods. An introduction.
In: R. Y. Yada (ed.) Proteins in Food Processing. Woodhead Publishing, Cambridge, ISBN 1 85573 723 (2004) 421–441
- Matthey, B., Borchmann, P., Schnell, R., Tawadros, S., Lange, H., Tur, M.K., Huhn, M., Klimka, A., Barth, S., Engert, A., Hansen, H.P.:
Metalloproteinase inhibition augments anti-tumor efficacy of the anti-CD30 immunotoxin Ki-3(scFv)-ETA' against human lymphomas in vivo.
Int. J. Cancer 111 (2004) 568–574
- Nölke, G., Fischer, R., Schillberg, S.:
Antibody-based pathogen resistance in plants.
Journal of Plant Pathology 86 (2004) 5–17
- Obermeyer, G., Gehwolf, R., Sebesta, W., Hamilton, N., Gadermaier, G., Ferreira, F., Commandeur, U., Fischer, R., Bentrup, F.H.:
Over-expression and production of plant allergens by molecular farming strategies.
Methods 32 (2004) No. 3: 235–240
- Peschen, D., Fischer, R., Kreuzaler, F., Liao, Y.C.:
Fusion proteins comprising a Fusarium-specific antibody linked to anti-fungal peptides protect plants against a fungal pathogen.
Nature Biotechnology 22 (2004) 732–738
- Rothe, A., Klimka, A., Tur, M.K., Pfitzner, T., Huhn, M., Sasse, S., Mallmann, P., Engert, A., Barth, S.:
Construction of phage display libraries from reactive lymph nodes of mammary carcinoma patients and selection of a breast cancer specific human single chain Fv.
Int. J. Molec. Med. 14 (2004) 729–735
- Rüdel, H., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective Analysis of Persistent Toxic Substances in Samples from the German Environmental Specimen Bank.
Proceedings of 1st International Symposium on Environmental Behaviour and Ecological Impacts of Persistent Toxic Substances, Ehime University, Matsuyama, Japan, 18.–19. 3. 2004: 6–12
- Sasaki, T., Christou, P.:
Plant biotechnology: Editorial overview.
Current Opinion in Biotechnology 15 (2004) No. 2: 117–119
- Schäfers, C.:
Kleine Zebras schwimmen im Dienste des Gewässerschutzes.
In: Hans-Jörg Bullinger (Hrsg.): Trendbarometer Technik, Carl Hanser Verlag, München, Wien (2004) 252–253
- Schäfers, C., Teigeler, M., Wenzel, A.:
Endokrin wirksame Stoffe in der Umwelt: Die Anti-Baby-Pille für Fische.
GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium Nr. 4 (2004) 330–333
- Schillberg, S.:
Pflanzen produzieren Medikamente.
In: Hans-Jörg Bullinger (Hrsg.): Trendbarometer Technik, Carl Hanser Verlag, München, Wien (2004) 242–243

Schillberg, S., Twyman, R.M.:
Emerging production systems for antibodies in plants.

In: P. Christou, H. Klee (eds.):
Handbook of Plant Biotechnology,
John Wiley & Sons Inc. (2004)
801–810

Seidel, B., Bräg, S., Adler, G.,
Wedlich, D., Menke, A.:
E- and N-cadherin differ with respect to their associated p120ctn isoforms and their ability to suppress invasive growth in pancreatic cancer cells.
Oncogene 23 (2004) No. 32:
5532–5542

Shore, L. S., Reichmann, O.,
Shemesh, M., Wenzel, A., Litaor, M. I.:
Washout of accumulated testosterone in a watershed.
Science of the Total Environment
Vol. 332 (2004) No. 1–3:193–202

Sriraman, R., Bardor, M., Sack, M.,
Vaquero, C., Faye, L., Fischer, R.,
Finnern, R., Lerouge, P.:
Recombinant anti-hCG antibodies retained in the endoplasmic reticulum of transformed plants lack core xylose and core- α (1,3)-fucose residues.
Plant Biotechnology Journal 2 (2004)
279–287

Sriraman, R., Sack, M., Talwar, G.P.,
Fischer, R.:
Glycosylation of recombinant antibody in plants.
Therapeutic Antibodies: Proceedings of the 9th Annual Symposium 2003, Ranbaxy Science Foundation, New Delhi, India (2004) 89–98

Stoger, E., Schillberg, S., Twyman, R.M.,
Fischer, R., Christou, P.:
Antibody production in transgenic plants.
In: Lo, B.K.C. (ed.) Methods in Molecular Biology 248. Antibody engineering: Methods and protocols. Totowa, N.J.: Humana Press (2004) 301–318

Thepen, T., Huhn, M., Barth, S.:
Auflösung chronischer Entzündungen durch Bändigung abtrünniger Makrophagen: Eliminierung von Hyde aus „Jekyll und Hyde“ – Makrophagen.
BIOforum 11 (2004) 42–44

Tur, M.K., Huhn, M., Thepen, T.,
Stöcker, M., Krohn, R., Vogel, S.,
Jost, E., Osieka, R., van de Winkel, J.G.,
Fischer, R., Barth, S.:
m22(scFv)-ETA', a new recombinant anti-CD64 immunotoxin for specific elimination of AML cells.
Ann. Hematol. 83, Suppl. 1 (2004) 32

Twyman, R., Christou, P.:
Plant transformation technology: particle bombardment.
In: P. Christou, H. Klee (eds) Handbook of Plant Biotechnology, John Wiley & Sons Inc., NY (2004) 263–290

Vinken, R., Höllrigl-Rosta, A., Schmidt, B., Schäffer, A., Corvini, P. F.-X.:
Bioavailability of a nonylphenol isomer in dependence on the association to dissolved humic substances.
Water Sci. Technol. 50 (2004)
285–201

Vogt, U., Péliissier, T., Pütz, A., Razvi, F.,
Fischer, R., Wassenegger, M.:
Viroid-induced RNA silencing of GFP-viroid fusion transgenes does not induce extensive spreading of methylation or transitive silencing.
Plant Journal 38 (2004) No. 1:
107–118

Weinfurter, K., Hund-Rinke, K.,
Kördel, W., Schlüter, C.:
German Environmental Specimen Bank: Today's Soil Sampling and Archiving for a Future Analysis and Assessment.
Proceedings: EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004,
<http://www.bodenkunde.uni-freiburg.de/eurosoil/>

Wenzel, A., Böhmer, W., Müller, J.,
Rüdel, H., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective monitoring of alkylphenols and alkylphenol monoethoxylates in aquatic biota from 1985 to 2001: Results from the German Environmental Specimen Bank.

Environmental Science and Technology
38 (2004) No. 6: 1654–1661

Wolters, A., Klein, M., Vereecken, H.:
An improved description of pesticide volatilisation: Refinement of the pesticide leaching model (PELMO).
J. Environ. Qual. 33 (2004) 1629–1637

Wolters, A., Leistra, M., Linnemann, V.,
Klein, M., Schäffer, A., Vereecken, H.:
Pesticide Volatilization from Plants: Improvement of the PEC model PELMO based on a boundary-layer concept.
Environ. Sci. Technol. 38 (2004)
2885–2893

Yusibov, V., Rabindran, S.:
Plant viral expression vectors: History and Developments.
In: R. Fischer, S. Schillberg (eds.) Molecular Farming: Plant-made pharmaceuticals and technical proteins, Wiley-VCH, Weinheim (2004) 77–90

Dissertationen Doctoral Theses

Breitschwerdt, Andrea:
Remobilisierung nichtextrahierbarer Simazin-Rückstände im Boden.
RWTH Aachen

Brüll, Daniela:
Konstruktion und Charakterisierung von rekombinanten Immuntoxinen zur Therapie von metastasierendem Pankreaskarzinom.
RWTH-Aachen

Bulawa, Beate:
Der mikrobielle Umsatz von Ernterückständen in einem landwirtschaftlich genutzten Boden und dessen Beeinflussung durch ausgewählte Xenobiotika.
RWTH Aachen

Daghan, Hatice:
Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants.
RWTH Aachen

Degistirici, Özer:
Stammzellen aus Nabelschnurrestblut zum regenerativen Knochenersatz.
RWTH Aachen

Gaur, Rajneesh:
Structural study of human antibody fragments with specificity for Mucin-1 antigen.
RWTH Aachen

Gruber, Markus:
Aufbau eines mikrofluidischen akustischen Biosensors.
RWTH Aachen

Mavituna, Meltem:
Production of recombinant human serum albumin in transgenic plants and plant cells.
RWTH Aachen

Nath, Richa:
Generation and characterisation of plant produced recombinant antibodies specific to LHRH for treatment of sex hormone dependend diseases.
RWTH Aachen

Raven, Nicole:
Pflanzenzellen als Produktionssystem zur Gewinnung von Interleukin-4 Doppelmutein (IL-4 DM).
RWTH Aachen

Ribbert, Markus:
Entwicklung von Antikörpern gegen Venturia inaequalis zum Einsatz in Biosensoren.
RWTH Aachen

Stolle, Tim:
Development of genetically modified filamentous phage for generation of a novel high throughput screening system.
RWTH Aachen

Diplomarbeiten Diploma Theses

Bommel, Michael:
Produktion von monoklonalen anti-HIV Antikörpern in pflanzlichen Expressionssystemen.
RWTH Aachen

Hommes, Gregor:
Degradation von Mikroschadstoffen in Tropfkörpern – biotische und abiotische Aspekte.
RWTH Aachen

Khamsine, Abdelbaki:
Konstruktion und Charakterisierung von DNA-Immunisierungsplasmiden zur Induktion einer humoralen Immunantwort.
RWTH Aachen

Krohn, Regina:
Konstruktion, Expression und Charakterisierung neuer, rekombinanter anti-CD64 Immuntoxine.
RWTH Aachen

Lenz, M.
Environmental fate of cyanides and heavy metals in sediment.
RWTH Aachen

Lichius, Alexander:
Development of cell based high throughput assay for protein translocation and receptor signalling.
RWTH Aachen

Lindemann, Monika:
Vergleichende Untersuchungen zur Standardisierung des Regenwurm-Vermeidungstests mit Eisenia fetida.
Fachhochschule Osnabrück

Martin, Alex:
Charakterisierung eines Epitoptags zur Detektion von rekombinanten Proteinen in Pflanzen.
Fachhochschule Aachen

Orecchia, Martin:
Production of viral antigens and generation of single chain antibody fragments by phage display.
RWTH Aachen

Scholz-Starke, Björn:
Vergleichende biozönotische Untersuchungen wassergebundener Käfer in stehenden Gewässern des linken Niederrheins mit Hilfe von Reusenfallen.
RWTH Aachen

Steinmetz, Nicole:
Präsentation von hypervariablen antigenen Bereichen des Hepatitis C Virus in Pflanzen mittels eines viralen Vektors.
RWTH Aachen

Stiefelhagen, Barbara:
Konstruktion und Optimierung der Expression rekombinanter einzelsträngiger bispezifischer Antikörperfragmente.
RWTH Aachen

Von der Decken, Victoria:
Herstellung und Charakterisierung eines rekombinanten Immuntoxins zur Behandlung atopischer Erkrankungen.
RWTH Aachen

Wirthmüller, Lennart:
Generierung und Charakterisierung von rekombinanten Antikörpern mit Spezifität für extrazelluläre Epitope von Erwinia carotovora.
RWTH Aachen

Wulff, Juliane:
P-Düngewirkung von Klärschlamm und Klärschlammaschen auf Ertrag und Kenngrößen der P-Versorgung im Boden.
Fachhochschule Osnabrück

Patente *Patents*

In 2004 erteilte Patente *Patents issued in 2004*

Fischer, R., Schillberg, S., Nähring, J., Sack, M., Monecke, M., Liao, Y.C., Spiegel, H., Zimmermann, S., Holzem, A., Emans, N.:
Molecular pathogenicide mediated plant disease resistance.
Indian Patent No. 192141 (17.8.2004)
United States Patent No. 6.825.325 (30.11.2004)

In 2004 angemeldete Patente *Patent Applications in 2004*

Barth, S., Tur, M., Stöcker M., Fischer R.:
Immunokinases.
European Patent Application

Barth, S., Klockenbring, T., Achatz, G., Ferreira, F., Luger, E., Stöcker, M., Fischer, R.:
Isolation Allergen-spezifischer Immunglobulingene aus humanen B-Zellen von Atopikern.
European Patent Application

Emans, N., Jochems, C., di Fiore, S., Fischer, R.:
Differential high content screening.
PCT Patent Application

Fischer, R., Finnern, R.:
A diabody which specifically binds Streptococcus surface antigen I/II and methods of use thereof.
U.S. Provisional Application

Vorträge und Poster *Presentations and Posters*

Agdour, S., Sorbotten, A., Myhr, M., Fischer, R., Schillberg, S., Varum, K.M.:
Characterization of a wheat chitinase.

Poster. EUCHIS '04, 6th International Conference of European Chitin Society, Poznan, Poland, 31.8.–3.9.2004

Agdour, S., Zimmermann, S., Fischer, R., Schillberg, S.:

Engineering of anti-chitin monoclonal antibodies using peptide mimitopes.

Poster. Bioforum, Liège, Belgium, 7.12.2004

Arcalis, E., Marcel, S., Altmann, F., Kolarich, D., Drakakaki, G., Fischer, R., Christou, P., Stoger, E.:

Unexpected deposition patterns of recombinant proteins in the post-endoplasmic reticulum compartments of wheat endosperm.

Poster. European Plant Endomembrane Meeting, Neuchatel, Switzerland, 8.–10.9.2004

Arcalis, E., Marcel, S., Altmann, F., Kolarich, D., Drakakaki, G., Fischer, R., Christou, P., Stoger, E.:

The intracellular deposition and the N-glycosylation patterns of recombinant phytase are species- and tissue-dependent.

Poster. European Plant Endomembrane Meeting, Neuchatel, Switzerland, 8.–10.9.2004

Barth, S.:
Recombinant immunotoxins: Developments and clinical applications.

Presentation. Cells at work II, MECC Maastricht, The Netherlands, 12.5.2004

- Barth, S.:
Identifikation eines Hybridom-antikörpers gegen HCV E2.
Presentation. Fraunhofer IPM, Freiburg, 18. 5. 2004; Fraunhofer IWS, Dresden 21. 7. 2004
- Barth, S.:
Konstruktion bifunktionaler Bakteriophagenpartikel zur Entwicklung einer neuen Proteinnanochip-Technologie.
Presentation. Fraunhofer IPM, Freiburg, 18. 5. 2004
- Barth, S.:
Verifikation bifunktionaler StrepTag-Bakteriophagenpartikel.
Presentation. Fraunhofer IWS, Dresden, 21. 7. 2004; Fraunhofer IST, Braunschweig, 4. 10. 2004
- Barth, S.:
Ableitung eines rekombinanten Antikörpers aus dem HCV E2-spezifischen Hybridom.
Presentation. Fraunhofer IST, Braunschweig, 4. 10. 2004
- Barth, S.:
Neue Daten zu HCV E2-Antigen und korrespondierendem rekombinanten Antikörper.
Presentation. Fraunhofer ILT, Aachen, 16. 12. 2004
- Böhmer, W., Rüdell, H., Wenzel, A., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective Monitoring of Triclosan and Methyl-triclosan in Fish – Results from the German Environmental Specimen Bank.
Presentation. DIOXIN 2004 – 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Berlin, 6. – 10. 9. 2004
- Bussian, B., Weinfurter, K., Kördel, W.:
Selection and Testing of Reference Soil (Refe Sols).
Presentation. EUROSOL 2004, Freiburg, 4. – 12. 9. 2004
- Christou, P., Fischer, R.:
Molecular Farming – Therapeutics in Plants.
Poster. US-EC Workshop on Applications of Plant Molecular Biology for the Production of Biobased Products and Bioenergy. USDA, ARS Western Regional Research Center (WRRRC), Albany, USA, 28. 3. 2004
- Cobanov, P., Nölke, G., Orecchia, M., Saldarelli, P., Dell’Orco, P., Minafra, A., Martelli, G., Fischer, R., Schillberg, S., Reustle, G.M.:
Engineering durable resistance in grapevine: Generation and expression of specific recombinant antibodies (scFv).
Poster. 7th Symposium on Grapevine Physiol. and Biotechnol., Davies, USA, 21. – 25. 7. 2004
- Corvini, P.F.-X., Ji, R., Schäffer, A.:
Fate of phenolic compounds from sewage treatment plant to soil. Part I: Elimination in wastewater treatment plant.
Presentation. Workshop on poultry farming and food security and environmental quality, Nanjing, China, 20. – 27. 3. 2004
- Corvini, P.F.-X., Vinken, R., Hollender, J., Ji, R., Meesters, R., Schröder, H.F., Schäffer, A.:
Nonylphenol degradation by *Sphingomonas* sp. strain TTNP3 occurs via unconventional pathways.
Presentation. Nonylphenol Workshop, Leipzig, 15. 11. 2004; 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6. – 8. 10. 2004
- Daghan, H., Schäffer, A., Fischer, R.:
Phytoextraction of Cd contaminated soils using genetically modified plants.
Poster. Bioforum, Lüttich 7. 12. 2004
- Ebel, M., Evangelou, M., Schäffer, A.:
Wetland-Phytoremediation: Effects of natural and strong chelating agents on heavy metal accumulation and phytotoxicity in water hyacinths (*Eichhornia crassipes*).
Presentation. Third International Conference „Interfaces Against Pollution“, Jülich, 24. – 27. 5. 2004
- Ebel, M., Evangelou, M., Schäffer, A.:
Copper toxicity and elimination by water hyacinth *Eichhornia crassipes*.
Poster. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6. – 8. 10. 2004
- Ebel, M., Lenz, M., Evangelou, M.W.H., Schäffer, A.:
Copper mobilization in sediment by chelating agents.
Poster. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6. – 8. 10. 2004
- Evangelou, M., Ebel, M., Schäffer, A.:
Natural chelators: Behaviour in soil and use for chelate-assisted phytoextraction.
Presentation. EUROSOL, Freiburg, 4. – 12. 9. 2004
- Evangelou, M.W.H., Ebel, M., Schäffer, A.:
Biochelators: Evaluation of their use in chelate-assisted phytoextraction.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6. – 8. 10. 2004

Finnern, R.:
Antibody-based Pharmaceuticals for Diagnosis and Treatment of Malignant Diseases.

Poster. CHI Conference: Molecular Medicine, San Francisco, USA, 22.–26. 3. 2004; Poster and Presentation. Cells at Work, Maastricht, The Netherlands, 13. 5. 2004

Finnern, R.:
Development of Diagnostic and Therapeutic Antibodies.

Presentation. Korean-German Drug Discovery Workshop, 16.–20. 10. 2004, Seoul, Korea; MOGAM Research Institute, 19. 10. 2004, Seoul, Korea

Fischer, R.:
Molecular Farming: The Underpinning Science Base and Bottlenecks to Success.

Presentation. Biotechnology and Bio-Based Products Conference, York, United Kingdom, 29.–30. 1. 2004

Fischer, R.:
Faster Pharmaceutical Product Development: Impact of high throughput activities to accelerate time to market.

Presentation. 170th National Meeting of the AAAS (American Association for the Advancement of Science) „Science at the Leading Edge“, Seattle, USA, 12.–16. 2. 2004

Fischer, R.:
Pharmaceutical product development and its move towards systems biology.

Presentation. Korean Institute of Science and Technology (KIST), Seoul, Korea, 6. 3. 2004

Fischer, R.:
The use of high-throughput imaging in modern drug discovery.

Presentation. MOGAM Research Institute, Seoul, Korea, 7. 3. 2004

Fischer, R.:
Latest developments in the bio-manufacturing and downstream processing of biopharmaceuticals.

Presentation. Korean Green Cross, Seoul, Korea, 8. 3. 2004

Fischer, R.:
How to be more effective in R&D?

Presentation. National Institutes of Health Coordinating Council NIH Symposium: Securing NIH Funding Support, Raritan Valley Community College, New Jersey, USA, 19. 3. 2004

Fischer, R.:
Latest developments in recombinant antibody engineering and biomanufacturing.

Presentation. EC Carapax Meeting, Aachen, 2. 4. 2004

Fischer, R.:
High value added products for molecular farming in palms.

Presentation. International LINK2PALM 2004 Symposium „Advances in Biotechnology Application to Coconut and Oil Palm“, Manila, Philippines, 19.–21. 4. 2004

Fischer, R.:
Molecular Farming: Therapeutics in Plants.

Presentation. US-EC Workshop on applications of plant molecular biology for the production of biobased products and bioenergy, USDA, ARS Western Regional Research Center (WRRRC), Albany, USA, 28.–30. 4. 2004

Fischer, R.:
The coming age of plant suspension cells for the manufacturing of recombinant proteins.

Phyton Biotech, Ithaca, USA, 7. 5. 2004

Fischer, R.:
Novel approaches for identifying and validating novel tumor targets, engineering of target specific diagnostic and therapeutic antibodies and their production in heterologous systems while accelerating time to market.

Presentation. Department of Pathology, University of Baltimore, USA, 11. 5. 2004

Fischer, R.:
Patenting approaches and implementation.

Presentation. CMB Boardmeeting, Newark, USA, 12. 5. 2004

Fischer, R.:
Molecular Farming: Current status and challenges.

Presentation. 1st Pharma-Planta EC Workshop, Verona, Italy, 13.–15. 5. 2004

Fischer, R.:
The history and development of Molecular Farming.

Presentation. 1st Pharma-Planta EC Workshop, Verona, Italy, 13.–15. 5. 2004

Fischer, R.:
Novel approaches in discovery and validation of novel targets for the development of better diagnostics and therapeutics.

Presentation. BioExpo Asia 2004, Tokyo, Japan, 17.–21. 5. 2004

Fischer, R.:
Implementing an International Bachelor- and Masters-Programme in Molecular Biotechnology.

Presentation. 2nd IDEA league meeting, Zürich, Switzerland, 10. 6. 2004

Fischer, R.:

Plant Biotechnology: history and future potentials.

Presentation. Ministry of Agriculture and Fisheries, Bilbao, Spain, 27.–28. 6. 2004

Fischer, R.:

Discovery and development of biopharmaceuticals to combat the grand challenges in modern health.

Presentation. Global Research Alliance: Technology Fusion Workshop on Grand Challenges of Health, Pune, India, 11.–16. 7. 2004

Fischer, R.:

Impact of high throughput activities to accelerate time to market.

Presentation. Korean Green Cross, Seoul, Korea, 17. 7. 2004

Fischer, R.:

Systems biology based approaches for the discovery and validation of novel targets.

Presentation. Pohang University, Korea, 18. 7. 2004

Fischer, R.:

The long and winding road in molecular farming leading to molecular and cellular approaches for maximizing recombinant protein production in plant expression systems.

Presentation. International Molecular Farming Conference, Gent, Belgium, 5.–6. 9. 2004

Fischer, R.:

Strategies for producing PMPs in plants: molecular and cellular approaches for maximizing recombinant protein accumulation in plant expression systems.

Presentation. ABIC 2004: AgBiotech goes Europe, Cologne, Germany, 12.–15. 9. 2004

Fischer, R.:

cGMP manufacturing and downstream processing of biopharmaceuticals.

Presentation. Delaware Biotech Institute, Newark, USA, 16. 9. 2004

Fischer, R.:

Antibody mediated pathogen resistance in crops.

Presentation. USDA, Beltsville, USA, 17. 9. 2004

Fischer, R.:

How to accelerate discovery and shorten time to market.

Presentation. John Hopkins University, Baltimore, USA, 17. 9. 2004

Fischer, R.:

Development of plant based expression platforms for biomanufacturing of animal vaccines.

Presentation. SOTT Meeting 2004, Indianapolis, USA, 19.–22. 9. 2004

Fischer, R.:

The long and windy road for proteins: from *in vitro* to clinical use, and solutions for reducing time to market for protein-based biopharmaceuticals.

Presentation. Protein Island Matsuyama International Symposium 2004, Matsuyama, Japan, 16.–17. 10. 2004

Fischer, R.:

Current R & D status for biopharmaceuticals: how to accelerate discovery cycles and shorten time to market.

Presentation. Korean-German Science and Technology Forum, Seoul, Korea, 18.–20. 10. 2004

Fischer, R.:

Development of cell-based assays and application in systems biology.

Presentation. Korean-German Science and Technology Forum, Seoul, Korea, 18.–20. 10. 2004

Fischer, R.:

Trends and challenges in manufacturing and downstream processing of biopharmaceuticals.

Presentation. Downstream Processing Meeting 2004, Barcelona, Spain, 9. 11. 2004

Fischer, R.:

Development and Production of Recombinant Pharmaceuticals & Vaccines and their Use for Global Health: An Odyssey from genomics, through proteomics and cellomics and public acceptance.

Poster. 3rd International Cancer Vaccine Symposium „Clinical and Laboratory Advances in Cancer Vaccines and Immunotherapies“, London, UK, 12.–14. 11. 2004

Fischer, R., Schillberg, S.:

Engineering durable pathogen resistance in grapevine: A novel strategy for integrated disease management to overcome environmental impacts of pesticides.

Poster. BCPC Seminars Crop Science & Technology, Glasgow, Scotland, 1.–3. 11. 2004

Franken, T., Huhn, M., Zimmermann, S., Zentgraf, H., Bock, C.T., Fischer, R., Finner, R., Barth, S.:

Specific monoclonal antibodies for hepatitis C virus envelope E2 protein from immunized mice.

Poster. Bioforum, Liège, Belgium, 7. 12. 2004

Herrchen, M., Kördel, W., Terytze, K.:

Concept for the derivation of trigger values for the soil-plant uptake.

Presentation. EUROSIL, Freiburg, Germany, 4.–12. 9. 2004

Herrchen, M., Hund-Rinke, K., Simon, M., Wahle, U., Nagel, R.:
Terrestrial ecotoxicity: aquatic ecotox data give a clue in case of sufficient water solubility.
Presentation. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.4.–22.4.2004

Hörner, J., Hund-Rinke, K., Kördel, W.:
Übergreifende Versuche mit Modellsubstanzen – Untersuchungen der in Böden und Grundwasser ablaufenden Prozesse bei unterschiedlichen Milieubedingungen (TV5.5).
Poster. BMBF-Statusseminar, Leipzig, 28.–29.9.2004

Hörner, J., Hund-Rinke, K., Schäffer, A.:
Quantifizierung des ökotoxikologischen Gefahrenpotenzials kontaminierter Grundwässer sowie wässriger Bodenextrakte aus Rüstungsaltslasten.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8.10.2004

Hommen, U.:
Aquatic risk assessment for carbaryl – recovery of cladocerans.
Poster. EUFRAM Project Meeting 2, Zeist, The Netherlands, 18.–21.10.2004

Hommen, U.:
Pesticide-related monitoring studies in Germany.
Presentation. 4th ECOTOX Conference on Aquatic and Terrestrial Ecotoxicology and Risk Assessment, Darmstadt, 2.–3.12.2004

Hommen, U., Schäfers, C.:
Monitoring der Effekte von Pflanzenschutzmitteln auf den Naturhaushalt.
Presentation. BVL-Fachgespräch, BVL Braunschweig, 22.3.2004

Hommen, U., Schäfers, C., Streloke, M.:
Pesticide-related monitoring studies in Germany.
Presentation. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22.4.2004

Hommen, U., Schäfers, C., Dembinski, M., Gonzalez-Valero, J.F.:
Kann die mögliche Exposition gegenüber Pflanzenschutzmitteln die Struktur und Dynamik von Makroinvertebraten-Lebensgemeinschaften in Gräben erklären?
Presentation. 54. Deutsche Pflanzenschutztagung, Hamburg, 20.–23.9.2004

Hommen, U., Schäfers, C., Roß-Nickoll, M., Ratte, T., Streloke, M.:
Effects of pesticides in non-target areas – a review of monitoring studies in Germany.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8.10.2004

Hommes, G., Corvini, P.F.-X., Schäffer, A.:
Percolating filter to eliminate micro-pollutants in wastewater.
Presentation. Third International Conference „Interfaces Against Pollution“, Jülich, 24.–27.5.2004

Hou, J., Chen, G.-H., Schäffer, A., Ji, R.:
Photocatalytical elimination of methyl orange by chitosan-supported CdS nanoparticles.
Poster. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8.10.2004

Hund-Rinke K.:
Antibiotika im Boden: Verbleib, Wirkung, Resistenzentwicklung.
Presentation. Expertengespräch: Pharmazeutische Spurenstoffe in Wassersystemen – Transferpfade, Risikobewertung und -verminderung. Dechema, Frankfurt, 4.3.2004

Hund-Rinke, K.:
Ökotoxikologische Untersuchungen von Bauprodukten – Umsetzung des DIBt-Merkblattes zur Bewertung der Auswirkungen von Bauprodukten auf Boden und Grundwasser.
Presentation. IBK-Symposium 306: Bewertung von Bauprodukten. Neue Ansätze zur stärkeren Berücksichtigung von Umwelt, Hygiene und Gesundheit, Ludwig Erhard Haus, Berlin, 20.–21.9.2004

Hund-Rinke, K., Simon, M.:
Laboratory test strategy to investigate side effects of genetically modified plants on the habitat function of soils.
Presentation. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22.4.2004

Hund-Rinke, K., Simon, M.:
Storage of Soil Samples for a Retrospective Biological Assessment in the German Environmental Specimen Bank.
Poster. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22.4.2004

Ji, R., Schäffer, A.:
Schicksal natürlicher monomerer Phenole im Boden.
Presentation. Workshop of DFG SPP 1090: Böden als Quelle und Senke für CO₂: Mechanismen und Regulation der Stabilisierung organischer Substanzen in Böden, Bonn, 17.–18.3.2004

Ji, R., Corvini, P.F.-X., Schäffer, A.:
Fate of phenolic compounds from sewage treatment plant to soil. Part II: Immobilization and degradation in soil.
Presentation. Workshop on Poultry Farming and Food Security and Environmental Quality, Nanjing, China, 20.–27.3.2004

Ji, R., Bertmer, M., Corvini, P.F.-X., Schäffer, A.:

Mineralization and transformation of catechol in soil after a long-term incubation.

Poster. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Klein, M.:

Modelling pesticide emissions after application: New PELMO developments after the end of APECOP.

Presentation. Workshop „Emissions of pesticides into the atmosphere“, Wageningen, The Netherlands, 11.–12. 2. 2004

Klein, M.:

Combination of PELMO with GIS as a strategy for higher tier assessment.

Presentation. Third European Modelling Workshop assessing the transport of pesticides to ground- and surface waters using standard and higher-tier experimental and modelling approaches, Catania, Sicily, 17.–19. 2. 2004

Klein, M.:

Assessment of pesticide leaching in Europe using the GIS-version of PELMO.

Presentation. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Klein, M.:

Simulation of chemical transport through macropores using PELMO.

Presentation. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Klein, W., Hund-Rinke, K.:

Sorption an Klärschlamm – Risiko im Kreislauf?

Presentation. Bremer Kolloquium Produktionsintegrierte Wasser-/Abwassertechnik „Pharmazeutische Reststoffe in Abwässern“, Vorkommen – Gefährdungspotenzial – Techniken zur Eliminierung, Bremen, 13.–14. 9. 2004

Kördel, W., Egli, H., Klein, M.:

Significance of pesticides transport through macropores.

Poster. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Kördel, W., Herrchen, M., Terytze, K.:

Concept for the derivation of trigger values for the soil - plant uptake.

Presentation. COST 859, Greenwich, UK, 11.–13. 11. 2004

Lennartz, G., Roß-Nickoll, M., Schäffer, A., Ratte, H.T., Schulte, C.:

Definition von Mindeststandards für Lebensraumqualitäten in der Agrarlandschaft und deren Bedeutung für die Ökotoxikologie.

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Lenz, M., Ebel, M., Schäffer, A.:

Aspects of environmental fate of cyanides in sediment.

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Lepper, P.:

Setting of Quality Standards for the Priority Substances of the Water Framework Directive (WFD).

Presentation. 6th AGRO Conference „Behaviour of Pesticides in Air, Soils and Water“, Köln, Fresenius Akademie, 8.–9. 7. 2004

Marcel, S., Arcalis, E., Drakakaki, G., Fischer, R., Christou, P., Stoger, E.:

Molecular farming in crop plants: species- and tissue-specific N-glycosylation and protein deposition.

Poster. ABIC 2004: AgBiotech goes Europe, Köln, 12.–15. 9. 2004

Marcel, S., Drakakaki, G., Glahn, R.P., Arcalis, E., Fischer, R., Christou, P., Stoger, E.:

Endosperm specific co-expression of recombinant soybean ferritin and *Aspergillus niger* phytase in maize results in significant increases in the levels of bioavailable iron.

Poster. ABIC 2004: AgBiotech goes Europe, Köln, 12.–15. 9. 2004

Müller, J.:

Polyzyklische Moschusverbindungen: Vorkommen im Klärschlamm – Verhalten im Boden.

Presentation. Fachgespräch „Organische Schadstoffe in Böden und Sekundärrohstoffdüngern“, Umweltbundesamt, Berlin, 10. 2. 2004

Müller, J., Litz, N.:

Polyzyklische Moschusverbindungen in Klärschlämmen, Böden und Pflanzen.

Presentation. Fachgespräch „Untersuchung des Stoffverhaltens von polyzyklischen Moschusverbindungen im Klärschlamm und Boden“, Umweltbundesamt, Berlin, 29. 4. 2004

Müller, J., Schröter-Kermani, C.:

Retrospektives Monitoring von Triclosan und Methyl-Triclosan in Umweltproben.

Presentation. 2. Erfahrungsaustausch „Meeresmonitoring, Wasserrahmenrichtlinie und Qualitätssicherung“, Internationale Naturschutzakademie, Insel Vilm, 10.–14. 5. 2004

Müller, M., Radke, K., Nagel, R.:

Entwicklung von QSAR-Modellen zur Beschreibung der Toxizität aliphatischer Amine gegenüber Embryos des Zebrafischblinds *Danio rerio*.

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Nölke, G., Schneider, B., Fischer, R., Schillberg, S.:
Immunomodulation of polyamine biosynthesis in tobacco plants has a significant impact on polyamine levels and generates a dwarf phenotype.
Poster. The 14th FESPB Congress, Cracow, Poland, 23.–27. 8. 2004

Nölke, G., Orrechia, M., Cobanov, P., Reustle, G., Krczal, G., Fischer, R., Schillberg, S.:
Engineering of monoclonal antibodies and single chain fragments specific to ArMV and GFLV.
Poster. BCPC Seminars Crop Science & Technology, Glasgow, Scotland, 1.–3. 11. 2004

Nölke, G., Orecchia, M., Saldarelli, P., Dell'Orco, M., Minafra, A., Martelli, G., Fischer, R., Schillberg, S.:
Antibody-based resistance in grapevine: Expression of GLRaV-3 specific scFv fragments in the cytosol of tobacco and grapevine.
Poster. BCPC Seminars Crop Science & Technology, Glasgow, Scotland, 1.–3. 11. 2004

Orecchia, O., Nölke, G., Saldarelli, P., Fischer, R., Schillberg, S.:
Production of a functional recombinant antibody fragment specific to GLRV-3 in the cytosol of tobacco plants.
Poster. Bioforum, Liège, Belgium, 7. 12. 2004

Piepenbreier, K., Renn, J., Fischer, R., Goerlich, R.:
Influence of space flight conditions on phenotypes and functionality of nephritic immune cells of fish (*Xiphophorus helleri*).
Poster. 35th COSPAR Scientific Assembly, Paris, France, 18.–25. 7. 2004

Prüfer, D.:
Microinjection - an old technology re-developed for plant transformation.
Presentation. International LINK2PALM 2004 Symposium „Advances in Biotechnology Application to Coconut and Oil Palm“, Manila, Philippines, 19.–21. 4. 2004

Reher, S.:
Quecksilberanalytik mit Hilfe des DMA-80 im Rahmen der Umweltprobenbank des Bundes.
Presentation. Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Physikalisch-technische Bundesanstalt Braunschweig, 14. 6. 2004; Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Bundesforschungsanstalt für Fischerei Hamburg, 15. 6. 2004; Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Universität Bonn, 16. 6. 2004

Reher, S., Krause, M., Rüdell, H.:
Analysis of methylmercury in roe deer liver, limnetic and marine mussels.
Poster. Third International Conference on Trace Element Speciation in Bio-medical, Nutritional and Environmental Sciences, GSF München, 10.–13. 5. 2004

Reher, S., Schörmann, J., Rüdell, H.:
As- und Se-Konzentration in Baumadeln/-blättern mittels Hybrid/ICP-MS – Schadstoffmessung im Rahmen der Umweltprobenbank des Bundes.
Poster. Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Physikalisch-technische Bundesanstalt Braunschweig, 14. 6. 2004; Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Bundesforschungsanstalt für Fischerei Hamburg, 15. 6. 2004; Seminar für innovative Probenpräparations-Technologien, Universität Bonn, 16. 6. 2004

Renn, J., Fischer, R., Goerlich, R.:
Medaka (*Oryzias latipes*) as *in vivo* model to study effects of estrogens on expression of osteogenesis genes.
Poster. BioForum, Liege, Belgium, 7. 1. 2004

Roß-Nickoll, M., Lennartz, G., Ottermanns, R., Theißen, B., Toschki, A., Schäffer, A., Ratte H.T.:
The typical composition of bio-coenosis in off-crop-sites of three agricultural landscape areas in Germany.
Presentation. SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004; Syngenta, Jealotts Hill, England, 9. 6. 2004

Rüdell, H., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective Analysis of Persistent Toxic Substances in Samples from the German Environmental Specimen Bank.
Presentation. International Symposium on Environmental Behaviour and Ecological Impacts of Persistent Toxic Substances, Matsuyama (Japan), 18.–19. 3. 2004

Rüdell, H., Schröter-Kermani, C.:
The German Environmental Specimen Bank as a Tool for the Retrospective Monitoring.
Presentation. 9th FECS Conference on Chemistry and the Environment, Bordeaux, France, 29. 8.–1. 9. 2004

Rüdell, H., Schröter-Kermani, C.:
Retrospective Analysis of Pollutants in Marine Samples from the German Environmental Specimen Bank.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Schäfers, C.:

Quality Criteria for Full Life Cycle Tests with zebrafish (*Danio rerio*).
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Schäfers, C., Boshof, U., Greve, J., Teigeler, M.:

Statischer Fish Full Life Cycle Test für die Pflanzenschutzmittelprüfung.
Poster. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Schäfers, C., Hommen, U., Wellmann, P., van Sprang, P., Comber, S., Delbeke, K.:
Aquatic community effects of cop-per exposure.
Poster. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Schäffer, A.:

Gebundene Rückstände von Fremdstoffen in Böden.
Presentation. Podiumsdiskussion, Workshop UBA, Umweltverhalten von Arzneimitteln, Berlin, 10. 3. 2004

Schillberg, S.:

Opportunities for recombinant antigen and antibody expression in transgenic plants – technology assessment.
Presentation. Plant-derived vaccines and antibodies: potential and limitations, Fondation Mérieux, Annecy, France, 21.–24. 3. 2004

Schuler, T., Huhn, M., Thepen, T., Hellwig, S., Drossard, J., Fischer, R., Finnern, R., Barth, S.:

Fermentation of E. coli under stress conditions in the presence of compatible solutes for the production of human anti-CD64 antibody for clinical application.
Poster. Bioforum, Liège, Belgium, 7. 12. 2004

Seidel, B., Peters, R., Kördel, W., Tertyze, K.:

Scrapie Strain Shows a Long-term Persistence in Soil.
Poster. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Seidel, B., Alm, M., Peters, R., Kördel, W., Schäffer, A.:

Risk Assessment of a Manufacturing Process Using Prion-contaminated Animal Fat as a Source for Biodiesel Production.
Poster. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Simon, M., Hund-Rinke, K.:

Microbial Respiration Activity within the Scope of On-Site Analysis.
Poster. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Simon, M., Hund-Rinke, K.:

Beurteilung von Bodenverunreinigungen anhand der mikrobiellen Funktion.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Teigeler, M., Wenzel, A., Schäfers, C.:
Sexual endocrine effects in zebrafish (*Danio rerio*). Comparison between 14 d vitellogenin response and full life cycle test data.
Presentation. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Poster. CREDO Cluster Workshop on Ecological Relevance of Chemically Induced Endocrine Disruption in Wildlife, University of Exeter, United Kingdom, 5.–7. 7. 2004

Teigeler, M., Wenzel, A., Schäfers, C., Schäffer, A.:

Biomarker sexualendokriner Wirkung beim Zebrafisch (*Danio rerio*). Vergleich zwischen Kurzzeitbelastung und Daten aus Full Life Cycle Tests.
Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Teigeler, M., Boshof, U., Wenzel, A., Schäfers, C.:

Biomarker for sexual endocrine effects in zebrafish (*Danio rerio*). Comparison between short-time exposure and Full Life Cycle Test data.
Poster. Conference on Environmental and Human Health Effects of Endocrine Disrupting Chemicals, Headquarters of the Society of Chemical Industry (SCI), London, 30. 11. 2004

Telscher, M., Schmidt, B., Schäffer, A.:
Degradation of 353-nonylphenol in soil depends on its bioavailability.
2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Telscher, M., Schuller, U., Schmidt, B., Schäffer, A.:
Adsorption of s-Triazine derivatives on Na-bentonites – influence of humic acids and pH.
Presentation. 24. Tagung des Arbeitskreises Phytopharmakologie, in Zusammenarbeit mit Syngenta, Stein/Aargau, Switzerland, 2.–3. 3. 2004

Telscher, M., Schuller, U., Schmidt, B., Schäffer, A.:
Fate of a defined p-nonylphenol isomer in soil/sewage sludge.
Presentation. SETAC Europe 14th Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Ternes, T., Wenzel, A., Müller, J.:
Endocrine Disruptors in Drinking Water.

Poster. 14th SETAC Europe Annual Meeting, Prague, Czech Republic, 18.–22. 4. 2004

Theißen, B., Schäffer, A.,
Roß-Nickoll, M.:

The collembolan coenoses of grassy field margins of the *Artemisia vulgaris-Arrhenaterum elatius*-community (ruderalized tall oat-grass meadow) in the agricultural landscape and its relation to soil properties.

Presentation. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Theißen, B., Schäffer, A.,
Roß-Nickoll, M.:

The soil mesofauna coenoses of non-used grassy fields' margins in the agricultural landscape – A pool of bioindicators to assess the impact of land use on non-target sites?

Poster. XIVth International Colloquium on Soil Zoology and Ecology, Université de Rouen, France, 30. 8.–3. 9. 2004

Theißen, B., Schäffer, A.,
Ross-Nickoll, M.:

Die Bodenmesofauna-Zönose grasiger Feldraine in der Agrarlandschaft. Ein Bioindikator-Pool zur Bewertung des Einflusses der Landnutzung auf Nichtzielflächen?

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Vinken, R., Schmidt, B., Schäffer, A.,
Corvini, P.F.-X.:

Einfluss von gelösten organischen Substanzen auf die Bioverfügbarkeit von Nonylphenol-Isomeren – Studien mit organischer Materie aus Böden und Abwasser.

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Vinken, R., Ji, R., Schmidt, B.,
Schäffer, A., Corvini, P.F.-X.:

Bioavailability of nonylphenol isomers in dependence on their association with dissolved humic substances.

Presentation. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Weinfurter, K., Hund-Rinke, K.,
Kördel, W., Schlüter, C.:

German Environmental Specimen Bank: Today's Soil Sampling and Archiving for a Future Analysis and Assessment.

Presentation. EUROSIL 2004, Freiburg, 4.–12. 9. 2004

Wenzel, A.:

Ermittlung und Auswertung von Daten zur Beurteilung prioritärer organischer Schadstoffe in Abfalldüngern für eine Risikobewertung.

Presentation. Fachgespräch „Organische Schadstoffe in Böden und Sekundärrohstoffdüngern“, Umweltbundesamt Berlin, 10. 2. 2004

Weyers, A., Caspers, N., Kördel, W.,
Schwarz-Schulz, B., Widmann, K.,
Nagel, R.:

Hormesis in der Ökotoxikologie: Fakt oder Fiktion?

Presentation. 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Wiandt, S., Müller, M.:

PropertEst – A Software System of Environmental QSARs for Chemical Assessment.

Poster. 11th International Workshop on Quantitative Structure-Activity Relationships in Environmental Sciences (QSAR 2004), Liverpool, England, 9.–13. 5. 2004; 2nd Joint Annual Meeting 2004, SETAC-GLB & GDCh, RWTH Aachen, 6.–8. 10. 2004

Impressum

Editorial Notes

Ansprechpartner/Contact

Molecular Biology

Prof. Dr. Rainer Fischer
Fraunhofer-Institut für Molekular-
biologie und Angewandte Oekologie
RWTH Aachen, Institut für Biologie VII
Worringerweg 1
52074 Aachen, Germany
Tel: +49 (0) 2 41/80-2 66 31
Fax: +49 (0) 2 41/87 10 62
rainer.fischer@ime.fraunhofer.de

Applied Ecology

Prof. Dr. Andreas Schäffer
Fraunhofer-Institut für Molekular-
biologie und Angewandte Oekologie
Auf dem Aberg 1
57392 Schmallenberg, Germany
Tel: +49 (0) 29 72/3 02-2 90
Tel: +49 (0) 2 41/80 2 68 15
Fax: +49 (0) 29 72/30 23 19
andreas.schaeffer@ime.fraunhofer.de

Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology CMB

Dr. Vidadi M. Yusibov
9 Innovation Way, Suite 200
Newark, DE 19711, USA
Tel: +1 302 369 3766
vyusibov@fraunhofer.org

Redaktion/Editors

Prof. Dr. Rainer Fischer
Prof. Dr. Andreas Schäffer

Koordination und Gestaltung/ Coordination and Layout

Brigitte Peine, Dr. Udo Hommen

Satz/Typesetting

BUCHprojekt, Tübingen

Druck/Production

Laupp & Göbel, Nehren

Fotos/Photographs

Cover: links (left) Klaus Fritze; oben
Mitte und rechts (top middle and right)
LSA GmbH; unten Mitte (bottom
middle) Marc Steinmetz
p. 10: Klaus Fritze; p. 11: LSA GmbH;
p. 12: Rüdiger Carow;
p. 22: oben (top) Klaus Fritze;
p. 23: unten (bottom) Peter Horn;
p. 32 von oben nach unten (from top
to bottom): MEV-Verlag, Bernd Müller,
Fh-IGB, Fh-IBMT;
p. 35: oben links (top left) Marc
Steinmetz, unten links (bottom left)
Klaus Fritze, unten rechts (bottom
right) Bernd Müller;
p. 56: oben links (top left) Christoph
Meyer;
p. 81: Fraunhofer-Allianz Photokatalyse

Weiteres Bildmaterial/ Further photographs:

Fraunhofer IME, RWTH Aachen,
Fraunhofer-Gesellschaft

Herausgeber/Published by:

Fraunhofer-Institut für Molekular-
biologie und Angewandte
Oekologie IME
Fraunhofer Institute for Molecular
Biology and Applied Ecology IME

Alle Rechte vorbehalten.
Nachdruck nur mit Genehmigung des
Fraunhofer IME.

All rights reserved.

*Reproduction only with permission
from Fraunhofer IME.*

Titelfotos

(von links nach rechts):

- 1 Umweltprobenbank, Probenein-
lagerung
- 2 FACS (Fluorescence-activated cell
sorting), Gerät zur Analyse und
Selektion von Zellen
- 3 Aquatische Mikrokosmen zur
Risikoabschätzung von
Pflanzenschutzmitteln
- 4 140-L Bioreaktor zur Herstellung
von rekombinanten Proteinen

Photos Coverage

(from left to right):

- 1 *Environmental Specimen Bank,
storage of samples*
- 2 *FACS (Fluorescence-activated cell
sorting)-device for analysis and
selection of cells*
- 3 *Aquatic microcosms for the risk
assessment of plant protection
products*
- 4 *140-L bioreactor for the production
of recombinant proteins*