

Data Mining Methoden und Systeme für prädiktive Toxikologie und metabolische Vorhersage

Prof. Dr. Stefan Kramer

Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Institut für Informatik

Die Vorhersage des Umweltverhaltens von Chemikalien (metabolische Vorhersage) und ihrer toxischen Effekte (prädiktive Toxikologie) ist von großem wissenschaftlichen, politischen und kommerziellen Interesse. In dem Vortrag werde ich einen Überblick über neue Data Mining Methoden und Werkzeuge geben, die für diese Bereiche entwickelt wurden, um ein neues Niveau in der Vorhersagekraft und Skalierbarkeit zu erreichen. Im ersten Teil des Vortrags liegt der Schwerpunkt auf Data Mining Methoden für die prädiktive Toxikologie, u.a. der datengetriebenen Berechnung substruktureller Deskriptoren und statistischen Lernverfahren. Der zweite Teil des Vortrags befasst sich mit metabolischer Vorhersage, insbesondere der Vorhersage von Abbauprodukten von chemischen Verbindungen. Aufgrund der kombinatorischen Explosion durch Übervorhersage können aktuelle Systeme kaum genutzt werden, um realistische Abbaupfade vorherzusagen. Aus diesem Grund haben wir Verfahren entwickelt, die erlauben, den Raum der vorhergesagten Produkte benutzerdefiniert einzustellen und damit zu reduzieren. Abschließend werde ich diskutieren, welche Rolle -omics Daten auf beiden Gebieten spielen können, um bessere Vorhersagen mit mechanistischen Erklärungen zu liefern, und wie die Integration solcher Daten bewerkstelligt werden kann.

Toxische Stoffe im Wasser – ist eine Echtzeitmessung möglich?

Autorin: Dr. Iris Trick,

Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, Nobelstr. 12,
70569 Stuttgart

Tel. 0711 970 4217, E-Mail: iris.trick@igb.fraunhofer.de

Wasser ist unumstritten unser wichtigstes Lebensmittel. Gleichzeitig stellt es eine essentielle Grundlage für zahlreiche industrielle Prozesse von der Lebensmittelgewinnung bis hin zur Fahrzeugproduktion dar. Die Qualität des Wassers wird in den industrialisierten Ländern durch die Trinkwasserversorger in regelmäßigen Intervallen untersucht und hinsichtlich gesetzlich festgelegter Parameter geprüft. Das Auftreten toxischer Stoffe ist demnach in der Regel eher unwahrscheinlich. Der Nachweis kann allerdings derzeit nicht in Echtzeit erfolgen, da für eine Analytik Probenahmen erforderlich sind. Zunehmend spielen weltweit Wasseraufbereitungsprozesse eine Rolle, bei denen z. T. auf Ressourcen zurückgegriffen werden muss, die nicht unbedingt unbedenklich sind. In vielen Fällen ist es wünschenswert, das Auftreten toxischer Verbindungen in Wasser, gereinigtem Abwasser oder Regenwasser rasch zu erkennen, um geeignete Maßnahmen und spezifische Analysen durchführen zu können. Auch bei der Prozesskontrolle oxidativer Verfahren zur Wasserbehandlung sind entsprechende Verfahren sinnvoll.

Die Mehrzahl der online-fähigen Messverfahren beschränken sich auf die Erfassung physikalischer oder chemischer Parameter, sind aber nicht in der Lage die Toxizität zu erfassen. Geeignet sind dazu allerdings biologische Systeme, die auf unterschiedliche chemische Verbindungen oder Stoffkonzentrationen reagieren. Der Vortrag gibt einen Überblick über den derzeitigen Stand bei der Echtzeitmessung toxischer Stoffe in Wasser und stellt ein Verfahren vor, das zur Überwachung von Wasser angewendet werden kann.

Das Messprinzip basiert auf dem Einsatz mikrobieller Reporterstämme. Eine Vielzahl toxischer Stoffe kann über Fluoreszenzänderungen erfasst werden. Die Reaktionszeiten sind kurz und liegen deutlich unter 1 min. Keine Reaktion zeigen die Biosensoren in Konzentrationsbereichen, die sich unterhalb der von der Trinkwasserverordnung angegebenen Werte bewegen.

Nicht-invasive optische pCO₂-Sensoren – Ein neues Werkzeug für die nachhaltige Bioprozessentwicklung und Produktion

Dr. Daniel Riechers
Presens Precision Sensing GmbH
Regensburg

Fluoreszenzbasierte Chemosensoren zur Messung von pH- und gelösten Sauerstoff sind seit ihren Anfängen in den 80er Jahren zu etablierten Werkzeugen der Bioprozessentwicklung aufgestiegen. Von der Klonauswahl und Medienoptimierung bis zum Produktionsbioreaktor migrieren sie vorteilhaft in alle *Upscale*-Schritte, insbesondere in *single use* Bioreaktoren. Der *Upscale*-Schritt in Reaktoren $\geq 200\text{L}$ stellt bei hohen Zelldichten und mäßigen Begasungsraten Herausforderungen bezügl. des Massentransports und der CO₂-Entfernung dar. Hohe CO₂-Konzentrationen mindern die Zellviabilität und führen zu veränderten Glykosylierungsmustern von monoklonalen Antikörpern und können nur durch angepasste Begasung bzw. Stripping verhindert werden. Die zur Entwicklung von geeigneten Regelalgorithmen notwendige Messtechnik stand bislang nur in Form der Severinghaus-Elektrode zur Verfügung, welche aufgrund ihrer Messperformance, ihrer Kostenstruktur und nicht zuletzt ihrer Größe nicht mit einer nachhaltigen Bioprozessentwicklung vereinbar ist. Diese Lücke wird nun durch autoklavier- und bestrahlbare, vorkalibrierte optische pCO₂-Sensoren geschlossen.

**Toxizitätstestung von Nanomaterialien in vitro:
Zelluläre Effekte von Nanosilber in menschlichen Makrophagenzellen -
Aufnahme, oxidativer Stress, Lipidveränderungen und funktionelle
Beeinträchtigungen**

Andrea Haase¹, Jutta Tentschert¹, Philipp Graf², Alexandre Manton³, Felix Draude⁴, Harald Jungnickel¹, Johanna Plendl⁵, Heinrich F. Arlinghaus⁴, Andreas F. Thuenemann³, Andreas Taubert and Andreas Luch¹

1) *Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin, Deutschland*

2) *Universität Basel, Department für Chemie, Basel, Schweiz*

3) *Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin, Deutschland*

4) *Universität Münster, Institute für Physik, Münster, Deutschland*

5) *Freie Universität Berlin, Institut für Veterinäranatomie, Berlin, Deutschland*

6) *University of Potsdam, Institut für Chemistry*

Email: andrea.haase@bfr.bund.de

Silbernanopartikel (SNP) gehören zu den am stärksten kommerzialisierten Nanopartikeln und werden wegen ihrer mikrobiellen Eigenschaften in vielen Produkten eingesetzt. Mögliche adverse Effekte sind nur zum Teil untersucht. Wir haben hier die zellulären Effekte von SNP in zwei verschiedenen Größen (20 und 40 nm) und mit zwei unterschiedlichen Coatings (Citrate, Peptide) in THP-1 abgeleiteten Makrophagenzellen untersucht. Als Kontrolle wurden 20 nm Goldnanopartikel (GNP) mit dem gleichen Peptidcoating eingesetzt.

Mit verschiedenen Assays (WST-1, LDH, PI/ Annexin V) konnten wir eine dosis-abhängige Zytotoxizität für die Peptid- beschichteten SNP nachweisen. Die Citrat- gecoateten SNP und die GNP erwiesen sich als nicht zytotoxisch. Mittels TEM konnten wir zeigen, dass alle Nanopartikel sehr effizient in die Zellen aufgenommen werden. Die Peptid -beschichteten Nanopartikel befanden sich im Kern, frei im Zytoplasma sowie in Lysosomen. Neben individuellen Partikeln konnten wir auch verschieden große Agglomerate in den Zellen detektieren. Die Aufnahme der Partikel konnten wir darüber hinaus auch mittels Konfokaler Ramanmikroskopie und TOF-SIMS/ Laser-SNMS nachweisen. Mittels TOF-SIMS Analysen konnten wir darüber hinaus zeigen, dass es spezifische Lipidveränderungen in der Plasmamembran der Zellen

gibt. Diese Veränderungen sind indikativ für oxidativen Stress, Inflammation oder Veränderungen der Lipidfluidität. Mit proteinbiochemischen und proteomischen Methoden haben wir den oxidativen Stress weiter untersucht. So konnten wir die Induktion von Hämoxigenase-1, einem Marker für oxidativen Stress, oder die ROS induzierte Oxidationen von zellulären Proteinen (Bildung von Proteincarbonylen) zeigen. Schließlich konnten wir nachweisen, dass die Phagozytosefähigkeit der Makrophagen nach Behandlung mit Peptid-beschichteten SNP, jedoch nicht nach Behandlung mit GNP, stark reduziert war.

Zusammenfassung:

Silbernanopartikel können in menschlichen Makrophagenzellen schon in sub-zytotoxischen Konzentrationen adverse Effekte induzieren. Verschiedene Typen von Silbernanopartikel induzieren dabei unterschiedliche zelluläre Effekte.

Referenz:

Haase A.*, Arlinghaus H.F.*, Tentschert J., Jungnickel H., Graf P., Manton A., Draude F., Galla S., Plendl J., Goetz M.E., Mašić A., Meier W.P., Thünemann A.F., Taubert A., Luch A., Application of Laser-SNMS/TOF-SIMS in nanotoxicology: visualisation of nanosilver in human macrophages and cellular responses, **ACS Nano** 5, 3059- 3068.