

# Biotechnologie & Medizin

POSTGRADUIERTE QUALIFIKATIONSKURSE

"VORAUSSCHAU DER GRÜNEN TECHNOLOGIE AUF DIE HERAUSFORDERUNGEN DER BIOTECHNOLOGIE UND IKT"

DIGIT-BIOTECH

2019-1-BG01-KA203-062371

DIGIT~Bio~TECH



# LO1 SYSTEMBIOLOGIE UND OMICS-TECHNOLOGIE

***Fortgeschrittenes Niveau***

AUTOR:

**VENTSISLAVA PETROVA**

# Inhalt

Inhalt ..... 2
OMICS-Technologien zur Verbesserung der Lebensqualität ..... 3
OMICS Technologien und Molekulare Medizin ..... 3
OMICs-Technologien in der Diagnostik ..... 4
OMICs-Analyse zur Aufdeckung der genetischen Architektur von Volkskrankheiten ..... 9
Anwendung des OMICs-Ansatzes bei der Behandlung von Krankheiten ..... 10
OMICs-Technologien zur Krankheitsprävention - Zukunftsperspektiven ..... 12
Anwendung von OMICS-Technologien in der Toxikologie ..... 12
Toxikologische Untersuchungen über OMICs-Analyse ..... 13
OMICs-Anwendungen für toxikologische Risikobewertung und Zulassungsanträge ..... 18
Umwelt-OMICS und Biodiversität ..... 19
Einzelzell-Genomik ..... 20
Omics-Ansätze in der industriellen Biotechnologie und Bioprozesstechnik ..... 25
Omics-geführte Biotechnologie ..... 26
Nutri-omics Forschung ..... 31
Genomik und Ernährung ..... 31
Traskriptomik und Ernährung ..... 33
Proteomik und Ernährung ..... 34
Matbolomics und Ernährung ..... 34
Ernährung und andere OMICs ..... 35
Verweise ..... 36

# OMICS-Technologien zur Verbesserung der Lebensqualität

## OMICS TECHNOLOGIEN UND MOLEKULARE MEDIZIN

Fortschritte in den Omics-Technologien - wie Genomics, Transcriptomics, Proteomics und Metabolomics - haben begonnen, Medizin auf einer außerordentlich detaillierten molekularen Ebene zu ermöglichen. Die schnell sinkenden Kosten der Hochdurchsatz-Sequenzierung und anderer massiv-paralleler Technologien, wie der Massenspektrometrie, ermöglichen deren Einsatz in der klinischen Forschung und Praxis. Exom- und Genomsequenzierung werden bereits eingesetzt, um Diagnosen zu unterstützen, insbesondere bei seltenen Krankheiten, um Informationen über die Krebsbehandlung und den Krankheitsverlauf zu erhalten und, in ersten Ansätzen, um Vorhersagemodelle für Krankheiten bei gesunden Personen zu erstellen. Zahlreiche Forschungsbemühungen und Unternehmen konzentrieren sich auf genomweite Profile von genetischen, Genexpressions- und anderen Omics-Daten, wie z. B. dem Mikrobiom, als Biomarker für Krankheiten. Diese Techniken wurden auch bei der Identifizierung von Risikoloci für Krankheiten, bei der Definition der genauen Pathophysiologie der Krankheit sowie bei der Durchführung von Forschungen im Bereich Occupational Environmental Health (OEH) eingesetzt.

Im Idealfall werden verschiedene Technologien kombiniert, um sowohl die Diagnose von Krankheiten zu unterstützen als auch ein ganzheitliches Bild des menschlichen Phänotyps und der Krankheit zu erstellen. Die Implementierung von Multi-Omics-Daten führt jedoch zu neuen Herausforderungen in der Informatik und Interpretation. Welchen Einfluss kann die integrative Omics-Technologie auf die Medizin haben, indem sie sowohl beim Gesundheitsmanagement als auch bei der Diagnose und Behandlung von Krankheiten hilft? Um die Behandlungsergebnisse zu verbessern und unerwünschte Ereignisse zu reduzieren, die sowohl für den Arzt als auch für den Patienten von Bedeutung sind, besteht eine der perspektivischen Lösungen in der Entwicklung der personalisierten Medizin - einer maßgeschneiderten medizinischen Behandlung, die auf die Eigenschaften, Bedürfnisse und das einzigartige molekulare und genetische Profil des Einzelnen abgestimmt ist (Abb. 1).

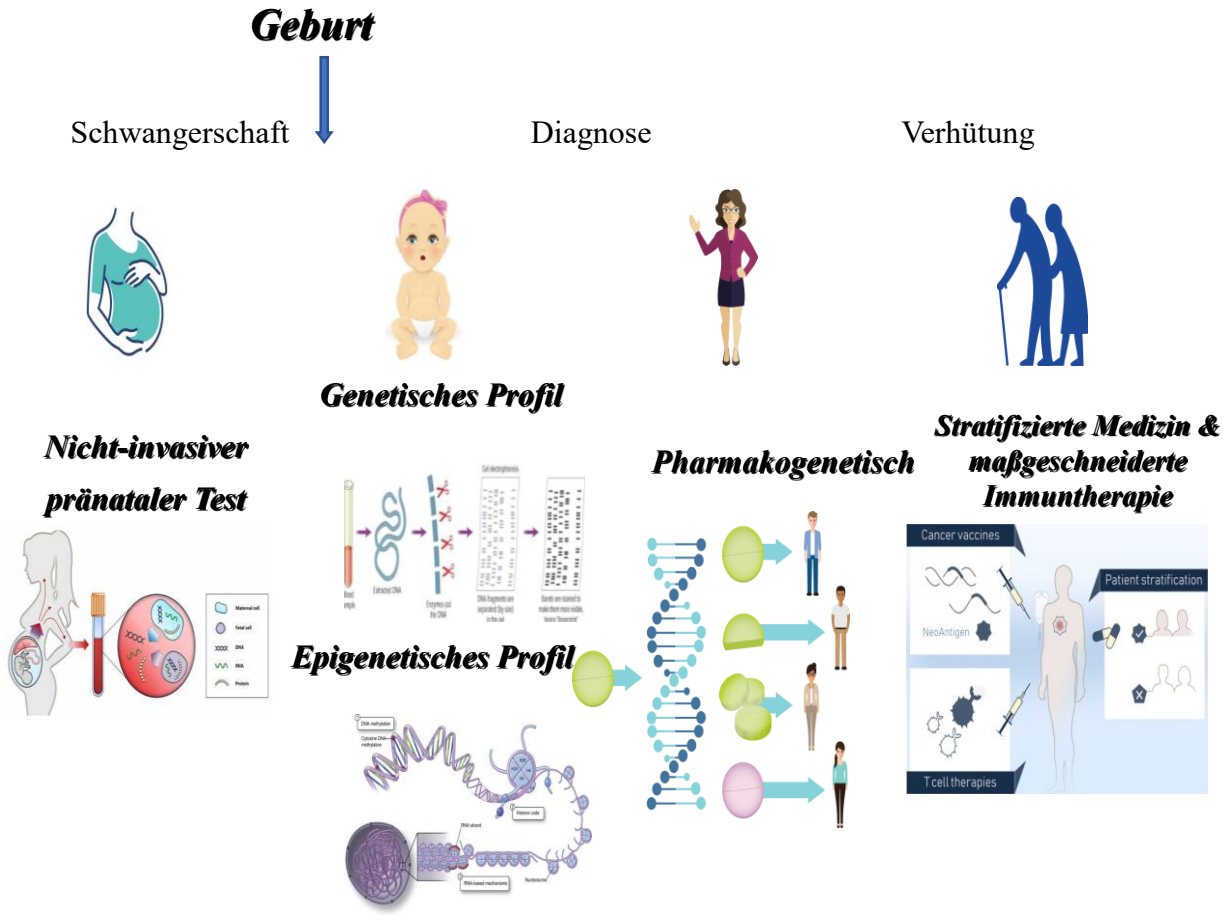



**Abb. 1. Personalisierte Medizin über die gesamte Lebensspanne**

## 1. OMICs-Technologien in der Diagnostik

### PRÄNATALE DIAGNOSTIK

Nahezu 10 % der Kinderkrankheiten und 20 % der Todesfälle bei Säuglingen sind auf Mendelsche Krankheiten zurückzuführen. Genetische Defekte können eine große Gefahr für die

Gesundheit des Babys darstellen. Um dieses Problem zu überwinden, werden die neuesten Entwicklungen in den Omics-Technologien bereits vor der Geburt eingesetzt. Pränatales Screening ist in vielen Ländern weit verbreitet, um nicht nur Anomalien eines Fötus zu untersuchen, sondern auch die möglichen Risiken von Krankheiten oder abnormalen Zuständen nach der Geburt. Wenn eine genetische Veranlagung vorliegt, wie z. B. Mukoviszidose oder Muskeldystrophie, wird die Konsultation eines Facharztes oder einer Gendiagnosefirma von großer Bedeutung. Die neuesten Innovationen in der Molekular- und Zellbiologie ermöglichten verschiedene genetische Diagnosen für Föten. Bis vor kurzem wurden verschiedene invasive Technologien wie die Amniozentese und die Chorionzottenbiopsie angewandt. Obwohl die Verfahren verbessert wurden, besteht immer noch das Risiko einer Fehlgeburt und ernsthafter Nebenwirkungen. Einer der innovativen Versuche, die Nebenwirkungen der konventionellen invasiven Technologien zu vermeiden, ist die Isolierung und Analyse von fetalen kernhaltigen Zellen aus mütterlichem Blut. Leider ist die Anzahl der fötalen Zellen, die isoliert werden können, etwa 3-5 Zellen pro 30 ml mütterlichen Blutes. Der große Sprung auf dem Gebiet der nicht-invasiven pränatalen Tests (NIPT) wurde nach dem Fortschritt der Omics-Technologien und ihrer Kombination mit verschiedenen experimentellen Ansätzen gemacht. Der Einsatz der DNA-Amplifikationstechnologie in Kombination mit NGS ermöglichte den direkten Nachweis der fetalen DNA im mütterlichen Blut. Gegenwärtig wird ein solcher Ansatz zur Bestimmung des Geschlechts und der Rhesus-Blutgruppe sowie zur Analyse von chromosomalen Aneuploidien verwendet. Die zellfreie fetale DNA wird typischerweise im mütterlichen Blut während des Prozesses der Apoptose der Plazentazellen freigesetzt. Die fragmentierte zellfreie fetale DNA ist ~200 bp lang und hat eine Halbwertszeit von ~16 min und kann im mütterlichen Plasma ab der frühen Schwangerschaft (5-7 Wochen) nachgewiesen werden. Zusätzlich zur fetalen DNA können auch fetale RNAs für den NIPT verwendet werden. Zum Beispiel kann eine fetale Trisomie 21 diagnostiziert werden, indem das allelische Verhältnis der PLAC4 mRNA überprüft wird, die von Chromosom 21 in der Plazenta produziert wird. Wenn ein Baby heterogene Allele von den Eltern erhält, deutet ein ungleiches Allelverhältnis (2 : 1) auf eine Trisomie hin.

Die Integration von fetalen genomischen, transkriptomischen, proteomischen, metabolomischen und epigenetischen Daten wird dazu beitragen, die pränatale genetische Diagnostik voranzutreiben. Auf diese Weise könnte jede genetische Störung in einem frühen Stadium der Schwangerschaft durch die Anwendung nicht-invasiver Ansätze identifiziert werden. Allerdings gibt es einige Bedenken hinsichtlich der Aufwerfung ernsthafter ethischer Fragen, die sich bei der Verwendung fortschrittlicher Genomtechnologie ergeben können. Daher sollten weitere Studien über die Auswirkungen neuer Technologien auf die Gesellschaft, wie z. B. mögliche Diskriminierung aufgrund genetischer Informationen, unbestimmte schädliche Auswirkungen der Nanotechnologien auf Mensch und Natur sowie Urheberrechtsverletzungen aufgrund der Entwicklung der Informationstechnologie, in Betracht gezogen werden (siehe LO8).

## LAB-ON-A-CHIP-TECHNOLOGIE IN DER DIAGNOSTIK

Schon bald nach der Entwicklung von mikro-elektromechanischen Systemen (MEMS) wurde der potenzielle Einsatz dieser miniaturisierten Plattformen für verschiedene Anwendungen entdeckt. In den letzten Jahrzehnten hat das Interesse an biologischen oder biomedizinischen MEMS (BioMEMS) deutlich zugenommen und sie haben weit verbreitete Anwendungen in verschiedenen Bereichen der Biowissenschaften gefunden, darunter Diagnostik, Therapeutik, Medikamentenabgabe, Biosensoren und Tissue Engineering. Diese integrierten Systeme sind auch als "Lab-on-a-Chip" (LOC) oder "Mikro-Total-Analyse-Systeme" (μTAS) bekannt und bieten einen soliden Weg zur Miniaturisierung, Integration, Automatisierung und Parallelisierung chemischer Prozesse.

Lab-on-a-Chip-Geräte integrieren mehrere Laborfunktionen auf einem einzigen Chip (von wenigen Quadratmillimetern bis zu einigen Quadratzentimetern Größe). Diese Plattformen ermöglichen komplexe chemische und/oder biologische Analysen, die im Vergleich zu konventionellen Labortests billiger, schneller, kontrollierbarer und leistungsfähiger sind als biochemische Assays in sehr kleinem Maßstab. Sie sind in der Lage, extrem kleine Flüssigkeitsvolumina bis hinunter zu weniger als ein paar Pikolitern (wenige Mikrotropfen Vollblut, Plasma, Speichel, Träne, Urin oder Schweiß) zu verarbeiten. Diese Tatsache ist sehr wichtig für viele klinische Studien, bei denen in der Regel sehr kleine Volumina an Patientenproben zur Verfügung stehen. Außerdem kann die Automatisierung mit der Eliminierung der menschlichen Störparameter die Zuverlässigkeit in der Analyse erhöhen.

LOC wurde in verschiedenen Anwendungen eingesetzt, wie z. B.: DNA-Extraktion und -Reinigung, PCR, qPCR, molekularer Nachweis, Elektrophorese, etc.

*LOC für DNA-Extraktion und Aufreinigung:* Für diagnostische Assays müssen Nukleinsäuren oft aus Zellen aufgereinigt werden. Der Prozess der DNA-Extraktion umfasst im Allgemeinen zwei Schritte: die Zelllyse durch Zerstörung der Zell- und Kernmembran und die Aufreinigung der DNA von Membranlipiden, Proteinen und RNA. Die Zelllyse auf LOC-Geräten kann durch verschiedene Arten von Lyse-Methoden erreicht werden: chemische, thermische, Ultraschall-, elektrische, mechanische oder eine andere Art der Lyse. Die bekannten DNA-Reinigungsmethoden durch Extraktionssäulen, die die DNA-Adsorption an Siliziumdioxid-Perlen unter bestimmten Pufferbedingungen nutzen, sind auch für mikrofluidische Techniken adaptierbar.

*LOC-Geräte für PCR, qPCR und molekulare Detektion:* Nach der DNA-Extraktion ist die häufigste Analyse die PCR. Die Bedeutung der PCR in der genomischen Analyse führte zur Entwicklung zahlreicher LOC-Geräte. Die Miniaturisierung des Volumens und das hohe Verhältnis von Oberfläche zu Volumen definieren einen schnellen thermischen Transfer und eine genauere PCR. Diese Analyse erfordert eine Nachanalyse und Größenbestimmung der Amplikons, die in der Regel durch Elektrophorese durchgeführt wird. Mit der Einführung der LOCs war die DNA-Elektrophorese einer der ersten molekularen Prozesse, der auf einem Chip integriert wurde. Durch diese Miniaturisierung wird die Gesamtprozesszeit noch weiter verkürzt und der Reagenzienverbrauch reduziert.

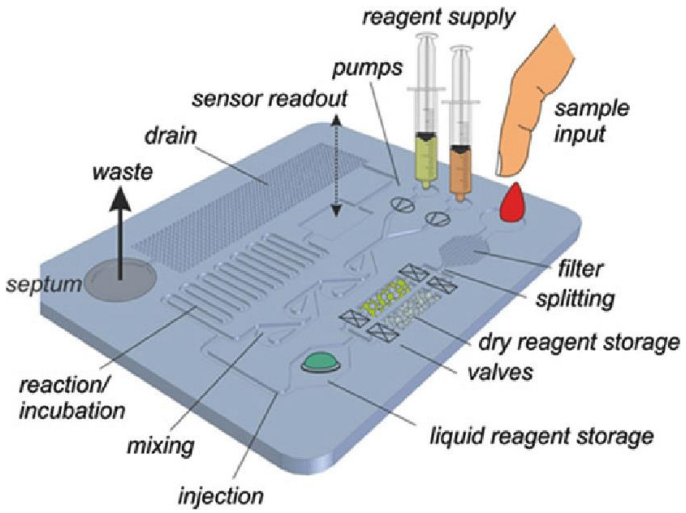



**Abb. 2. Lab-on-a-Chip-Gerät**

qPCR ist eine weitere Technik, die an LOC-Geräte angepasst wurde. Unter Verwendung eines ultraschnellen Druckreglers und eines Fluoreszenz-Readers wurde ein ultraschnelles qPCR-Mikrofluidiksystem für den molekularen Nachweis von Krankheiten wie Anthrax und Ebola entwickelt. Die Nachweiseffizienz ist identisch mit der kommerzieller Systeme und die Ergebnisse sind in weniger als 8 Minuten zu erreichen, was 7-15 mal schneller ist als bei den traditionell verwendeten Systemen. Ein weiterer fortschrittlicher Bereich ist die digitale Mikrofluidik, die sich mit Emulsionen und Tröpfchen in LOC-Geräten beschäftigt. Kleinste DNA-Mengen können in den Tröpfchen aufgenommen werden, und die Nachweisgrenzen können mit einer Kopienzahl-Detektion innerhalb der LOC-Tröpfchen-qPCR verbessert werden.

*Genomische Anwendung:* Durch die zahlreichen Sequenzierprojekte, wie z. B. das Human Genome Project, hat das Gebiet der Genomik in den letzten Jahren eine enorme Aufmerksamkeit erfahren. Zu den derzeit in der Entwicklung befindlichen Next-Generation-Sequenzierungstechniken gehören Sequencing-by-Hybridization (SBH), Nanopore-Sequencing und Sequencing-by-Synthesis (SBS), wobei letztere viele verschiedene DNA-Polymerase-abhängige Strategien umfasst. Die Verwendung des LOC-Ansatzes ermöglicht die drastische Reduzierung von Kosten und Dauer der Hochdurchsatz-Sequenzierung.

Bei der Untersuchung der komplexen DNA-Probenexpression ist eine Integration von mehreren Biosensoren in Verbindung mit DNA-Microarrays erforderlich. Die wichtigsten Eigenschaften dieser LOCs sind Miniaturisierung, Geschwindigkeit und Präzision. Diese Technologie bietet enorme Möglichkeiten für die schnelle Multiplex-Analyse von Nukleinsäureproben, einschließlich der Diagnose

von genetischen Krankheiten, der Erkennung von Infektionserregern, der Messung der differentiellen Genexpression, des Drogenscreenings oder der forensischen Analyse.

*Biochemische Anwendungen:* Die LOC-Strategie ist auch bei der Kopplung enzymatischer und immunologischer Assays auf einem Einkanal-Mikrofluidikgerät anwendbar. Ein typisches Beispiel ist die gleichzeitige Messung von Glukose und Insulin. Der Schlüssel zur effektiven Realisierung eines solchen Glukose-/Insulin-Monitorings ist die Integration relevanter Probenvorbehandlungs-/Reinigungsverfahren, die für die Vollblutanalyse unerlässlich sind. Dieser innovative LOC-Ansatz lässt sich auf die Integration anderer Analysen und zusätzlicher Probenbehandlungsschritte übertragen, wie sie für die Schaffung miniaturisierter klinischer Instrumente gewünscht werden.

*Proteomik:* Die Proteomik ist eine der großen wissenschaftlichen Herausforderungen in der Post-Genom-Ära. LOC-Geräte sind nützlich für die Entwicklung fortschrittlicher Techniken zur Beantwortung komplexer analytischer Probleme, wie z. B. die Erstellung von Proteom-Profilen. LOC-Geräte könnten in vier Schlüsselbereichen der Proteomik eingesetzt werden: chemische Verarbeitung, Probenanreicherung und -reinigung, chemische Trennungen und Schnittstellen zur Massen-MS. Da es sich bei LOC um ein miniaturisiertes Gerät handelt, könnte es für die Trennung und Detektion von Proteinen verwendet werden. Dieses Verfahren zeichnet sich durch einen geringen Reagenzienverbrauch, eine einfache Bedienung und eine sehr schnelle Analyse aus. Ein weiterer Vorteil ist, dass die Daten aus den LOC-Geräten leicht mit denen verglichen werden können, die mit 2D-PAGE gewonnen wurden. Um Proteine zu quantifizieren, wird ein LOC-MS-Proteinprofilierungsgerät entwickelt. Einige Autoren beschreiben LOC-Geräte, die für die direkte Infusion in das Massenspektrometer verwendet werden, einschließlich Kapillarelektrophorese (CE)-Trennung, On-Chip-Probenaufschluss und Infusion oder CE vor der MS-Analyse. Die Forscher verwenden Elektrospray-Ionisations-MS und konzentrieren sich auf das Schnittstellendesign zwischen LOC und dem Massenspektrometer.

*Biosensoren:* Zum Nachweis von Zielanalyten werden auch LOC-Biosensoren entwickelt. Solche Geräte verknüpfen ein biologisches Erkennungselement mit einem physikalischen Wandler, der das biologische Erkennungsereignis in ein elektrisches Signal umwandelt. Es gibt zwei Arten von LOC-Biosensoren: bioaffine und biokatalytische Geräte. Bioaffinitätsgeräte basieren auf der selektiven Bindung des Zielanalyten an einen oberflächenumschlossenen Ligandenpartner (z. B. Antikörper, Oligonukleotid). In Hybridisierungs-Biosensoren sind beispielsweise einzelsträngige (ss) DNA-Sonden auf der Wandleroberfläche immobilisiert. Wenn ein Duplex gebildet wird, kann dieser nach Assoziation eines entsprechenden Hybridisierungsindikators nachgewiesen werden. Andererseits wird in biokatalytischen Geräten ein immobilisiertes Enzym zur Erkennung des Zielsubstrats verwendet. Zum Beispiel Sensorstreifen mit immobilisierter Glukoseoxidase zur Überwachung von Diabetes (weitere Informationen siehe LO3).

*Zellforschung:* Mit LOC-Geräten könnte auch ein Experiment mit Zellen im kleinen Maßstab durchgeführt werden. Die einzelne Zelle wird innerhalb des Mikrokanals an einer vorbestimmten Stelle positioniert, was ihre Handhabung und Manipulation erleichtert. Das Mikrosystem ermöglicht die

Handhabung von kleinen Flüssigkeitsvolumina, die geringe Mengen an Analyt enthalten. LOC-Systeme bieten auch eine präzise Kontrolle der lokalen Umgebung der Zelle, indem sie die physikalische oder chemische Beschaffenheit der Oberfläche, an der die Zelle haftet, den lokalen pH-Wert und die Temperatur überwachen. Wenn die Zelle einer anderen Art von Stimuli ausgesetzt werden soll, können zahlreiche und oft komplexe Fluid-Handling-Komponenten eingesetzt werden. Wenn die Zelle Gegenstand einer weiteren Analyse ist, können die Lyse und die notwendigen analytischen Methoden ebenfalls auf derselben Plattform durchgeführt werden. So wird ein Probenverlust oder eine Verdünnung vermieden, die bei der Verwendung mehrerer Geräte unweigerlich auftreten würden.

*Medikamentenentwicklung:* Der Bedarf der Industrie an der Entwicklung neuer Medikamente und an der Vorhersage ihres potenziellen Verhaltens in Tieren und Zellen löst weitere analytische Anwendungen von LOC-Systemen aus: z. B. analytische Systeme zur Überwachung und Optimierung der Produktion von Proteinmedikamenten wie therapeutischen Antikörpern; Assays auf der Basis primärer menschlicher Zellen, die die Leistung in klinischen Studien am Menschen vorhersagen könnten, und Pothers. Diese LOC-Systeme sind nachweislich hoch reproduzierbar, leicht zu manipulieren und könnten routinemäßig eingesetzt werden.

## 2. OMICs-Analyse zur Aufdeckung der genetischen Architektur von Volkskrankheiten

Die Identifizierung von genetischen Markern, die mit einem bestimmten Krankheitsmerkmal assoziiert sind, ist eine Schlüsselfrage bei der Abschätzung des Krankheitsrisikos. Da die genetische Information eines Individuums meist unverändert bleibt, können die mutierten Sequenzen zuverlässige Marker für bestimmte Krankheiten sein. Eine der wichtigsten Anwendungen der Omics-Technologie sind in diesem Zusammenhang die genomweiten Assoziationsstudien (GWASs). Sie können häufige genetische Varianten, in der Regel Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs), identifizieren, die mit bestimmten Krankheitsmerkmalen assoziiert sind. Im Allgemeinen werden die SNP-Informationen von zwei Gruppen gesammelt, einer Patientengruppe und einer gesunden Kontrollgruppe. Dann werden sie statistisch analysiert, und die SNPs, die mit den spezifischen Krankheitsmerkmalen der entsprechenden Patientengruppe assoziiert sind, werden identifiziert.

Zum Beispiel sind Variationen im Apolipoprotein E (APOE)-Gen ein bekannter genetischer Faktor, der mit der spät einsetzenden Alzheimer-Krankheit (LOAD) korreliert ist. Nach der Auswertung von 502.627 SNPs bei 1086 AD-Patienten wurde gezeigt, dass rs4420638 auf Chromosom 19 der stärkste Marker ist, der AD-Patienten von der Kontrollgruppe unterscheidet. Ein weiterer wichtiger Erfolg wurde bei der Untersuchung von erblichen Krebserkrankungen erzielt. Die BRCA1- und BRCA2-Gene sind einer der wichtigsten genetischen Marker für erblichen Brust- und Eierstockkrebs. Diese Gene kodieren für Tumorsuppressorproteine, die bei der Reparatur von beschädigter DNA durch homologationsgerichtete Reparatur helfen. Einige Mutationen in BRCA1 und/oder BRCA2 erhöhen das

Risiko, an Brust- und/oder Eierstockkrebs zu erkranken, erheblich. Für BRCA1 wurden zwei Mutationen nachgewiesen: 185delAG und 5382insC. Etwa 55-65% der Frauen, die eine der schädlichen BRCA1-Mutationen geerbt haben, und etwa 45% der Frauen, die die BRCA2-Mutation tragen, haben bis zum Alter von 70 Jahren Brustkrebs entwickelt. Zahlreiche andere Krankheitsmarker wie autosomal-dominantes kolorektales Karzinom, Li-Fraumeni-Multikarzinom-Syndrom, Mukolipidose IV und hypertrophe Kardiomyopathie wurden ebenfalls erfolgreich mittels NGS identifiziert.

Für die häufigsten Krankheiten wie Diabetes, Fettleibigkeit, Schizophrenie und Autismus ist jedoch eine Kombination aus mehreren genetischen und Umweltfaktoren verantwortlich. Eine wachsende Zahl von Hinweisen deutet darauf hin, dass genetische Marker in der Regel nur einen Teil der gesamten Merkmalsvariation erklären. Einer der fehlenden entscheidenden Faktoren sind die epigenetischen Variationen. Es wurde berichtet, dass verschiedene epigenetische Modifikationen mit dem Frühstadium verschiedener Krebsarten (abnormales Wachstum eines Tumors) in Verbindung gebracht werden. Außerdem ist bekannt, dass Darmkrebs bei Männern häufiger vorkommt als bei Frauen. Deshalb wurde vermutet, dass Östrogen dazu beitragen könnte, Darmkrebs zu unterdrücken. Darüber hinaus haben die epigenetischen Profile von benachbarten und nicht benachbarten Mukosa-Proben von 95 Darmkrebspatienten gezeigt, dass der Promotor des MGMT, eines DNA-Reparatur-Gens, häufig methyliert war. Bislang wurden Tausende von genomischen Loci identifiziert und mit verschiedenen menschlichen Krankheiten in Verbindung gebracht. Die Schwierigkeiten entstehen jedoch, wenn diese Gene im Zusammenhang mit der molekularen Pathophysiologie und den entsprechenden interagierenden Genen und Signalwegen charakterisiert werden müssen.

## 3. Anwendung des OMICs-Ansatzes bei der Behandlung von Krankheiten

Das Hauptziel der personalisierten Medizin ist die Entscheidung über die effektivste Behandlungsoption für ein Individuum. In dieser Hinsicht kann die gleichzeitige Quantifizierung mehrerer Proteinmarker eine wichtige Rolle bei der Subtypisierung von Tumoren und der Auswahl optimierter Therapien für jeden Subtyp spielen. Auf Einzelzellen basierende Hochdurchsatz-Proteinquantifizierungstechniken, wie z. B. CyTOF, können eine hervorragende Alternative zu den auf Immunhistochemie basierenden Methoden sein.

So ist im letzten Jahrzehnt ein neuer Ansatz zur Behandlung von Krebserkrankungen entstanden - das Immunsystem des Patienten seinen Krebs bekämpfen zu lassen, genannt adoptiver Zelltransfer (ACT). Das Glioblastoma multiforme (GBM) ist die häufigste und aggressivste Form eines bösartigen Hirntumors. Obwohl GBM mit Methoden der chirurgischen Entfernung, der Strahlenbehandlung und der Chemotherapie behandelt wurde, gab es keine spürbaren Effekte. In den letzten 20 Jahren wurden zahlreiche klinische Studien durchgeführt, um das Immunsystem zur Heilung von Krebserkrankungen wie GBM einzusetzen. Unter den zahlreichen ACT-Ansätzen wurde besonderes Augenmerk auf die dendritischen Zell (DC)- und T-Zell-basierten Impfstoffe gelegt. Sie können in das Gehirn eindringen

und eine antitumorale Reaktion auslösen und zeigen ein großes Potenzial für die effektive Abtötung verschiedener Krebsarten, einschließlich der malignen und fortgeschrittenen Typen. Autologe DCs, die aus Tumorgewebe oder in Form eines Tumorlysats eines Patienten gewonnen werden, können *in vitro* in Anwesenheit von Tumor-assoziierten Antigenen (TAAs) gezüchtet werden, eine Methode, die als "pulsieren" bezeichnet wird. Die gepulsten, autologen DCs werden dem Patienten wieder zugeführt, um eine spezifische, zellvermittelte, antitumorale Zytotoxizität gegen GBM und andere bösartige Tumoren zu stimulieren. Weitere revolutionäre Ansätze, z. B. das Engineering spezifischer Immunzellen mit Hilfe von Zink-Finger-Nukleasen (ZFNs) und CRISPR-Technologie, wurden ebenfalls versucht.

Jedes Jahr unterziehen sich Tausende von Patienten einer Transplantation von Organen oder hämatopoetischen Stammzellen. Allerdings ist die Sterblichkeit unter diesen Patienten nach wie vor sehr hoch. Ein Standardverfahren für das Matching von Spendern und Empfängern ist die Typisierung von humanen Leukozytenantigenen (HLA). Es wird jedoch deutlich, dass auch Nicht-HLA-Faktoren die Prognose und die Entwicklung der Graft-versus-Host-Disease (GVHD) erheblich beeinflussen können. Um dies zu überwinden, können viele Omics-Anwendungen genutzt werden, um optimale Spender-Empfänger-Matches zu bestimmen sowie verschiedene Marker der Abstoßung zu untersuchen. So kann beispielsweise die freie DNA-Sequenzierung zur Beurteilung des Schweregrads der Organabstoßung sowie zum gleichzeitigen Nachweis des eventuellen Vorhandenseins von viraler DNA als Marker für eine Infektion verwendet werden. Zusätzliche Omics-Daten, wie die RNA- oder Proteinexpression, können auch zur Beurteilung der Spender-Empfänger-Kompatibilität genutzt werden. Somit kann die Integration mehrerer Omics-Technologien als nützliches Werkzeug für die Transplantationsbiologie genutzt werden.

Außerdem wurde das Mikrobiom mit vielen häufigen menschlichen Krankheiten in Verbindung gebracht. Während die Kausalität bei genomischen Daten einfach ist, da die DNA den Phänotyp beeinflusst, ist es schwieriger zu entschlüsseln, ob die Zusammensetzung des Mikrobioms eine Ursache oder eine Wirkung von Krankheiten ist. Dennoch ist es offensichtlich, dass Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen, Typ-2-Diabetes und Adipositas andere Mikrobiom-Profile aufweisen als gesunde Kontrollpersonen. Darüber hinaus hat das Mikrobiom einen großen Einfluss auf die Immunfunktion, die in einigen Fällen in Tiermodellen kausal mit der Krankheit in Verbindung gebracht wurde. In dem Maße, wie unser Verständnis des Mikrobioms voranschreitet, wird die integrative Auswertung dieser und anderer Daten aus der Omics-Technologie zu einem besseren Verständnis menschlicher Krankheiten beitragen. Kürzlich wurde gezeigt, dass menschliche genetische Profile die Gesamtzusammensetzung der Darmmikrobiota beeinflussen. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Interaktionen zwischen der menschlichen Genetik und dem Mikrobiom die Manifestation von Krankheiten beeinflussen. In ähnlicher Weise ist die metabolische Signalübertragung zwischen Wirten und ihren Mikrobiomen zu einem aktiven Forschungsgebiet geworden, und es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass eine Reihe von Metaboliten, die von Darmbakterien abgesondert werden, eine Rolle bei menschlichen Krankheiten spielen können. Daher ist es offensichtlich, dass eine integrierte Analyse von Genom, Metabolom, Mikrobiom und anderen omics-Profilen Mittel für das Management von Gesundheit und die Bekämpfung von Krankheiten bieten wird.

### 4. OMICs-Technologien zur Krankheitsprävention - Zukunftsperspektiven

Ein weiteres wichtiges Ziel der personalisierten Medizin ist es, die Entwicklung verschiedener Krankheiten zu verhindern, bevor sie ausbrechen. Derzeitige präventive Behandlungen beschränken sich auf Operationen - die Entfernung eines Gewebes oder eines Organs, wenn eine Person relevante Krebsmarker besitzt. Dieser Ansatz ist jedoch nicht auf Krankheiten wie Alzheimer, Chorea Huntington und kongenitale Muskeldystrophie anwendbar. Einer der jüngsten Ansätze, um solche Probleme anzugehen, ist die Nutrigenomik-basierte Ernährungsbehandlung. Omics-Profiling kann ein effektiver Ansatz sein, um Veränderungen auf großer Ebene oder auf der Ebene von Signalwegen zu erkennen, kann patientenspezifische Trends aufzeigen und durch wiederholte Messungen statistische Unterstützung bieten.

## ANWENDUNG VON OMICS-TECHNOLOGIEN IN DER TOXIKOLOGIE

Die Verwendung von Omics-Tools zur Bewertung des Gesundheitszustands der Umwelt gewinnt im Umweltmanagement und in der Risikobewertung immer mehr an Bedeutung. Omics erlauben es, molekulare Ereignisse und schädliche Wirkungen mit biologischen Organisationsebenen zu verbinden, die für Risikobewertungssysteme relevant sind. Die Analyse der RNA-Transkript-Ebene oder zelluläre Proteomik haben bereits besonderes Interesse erlangt. Diese Untersuchungen helfen, die Wechselwirkungen zwischen den Stressfaktoren und dem Organismus besser zu verstehen, aber auch die Wirkungsweisen (modes of action, MoA) verschiedener toxischer Substanzen zu entschlüsseln. Aus toxikologischer Sicht ermöglichen es Omics-Techniken daher, effektiv und präzise wichtige Informationen über substanzinduzierte molekulare Störungen in Zellen und Geweben zu generieren, die mit unerwünschten Wirkungen in Verbindung gebracht werden.

An zellulären Regulationswegen sind eine Reihe verschiedener (Bio-)Moleküle beteiligt, die sich durch unterschiedliche physikochemische Eigenschaften auszeichnen und komplexe nichtlineare Wechselwirkungen aufweisen. Eine Single-omics-Technik kann Biomoleküle eines bestimmten Typs, RNAs oder Proteine, messen, und häufig handelt es sich dabei nicht einmal um die Gesamtheit der Biomoleküle eines Typs, sondern um eine kleinere Teilmenge davon. So erfordert beispielsweise der Nachweis von kurzen und langen RNAs oder kurzen Peptiden und Proteinen unterschiedliche transkriptomische oder proteomische Ansätze. Nur die Verwendung von Multi-omics, auch bekannt als Cross-omics-Ansätze, erlaubt es, einen signifikanten Teil der Reaktion eines Stoffwechselweges auf chemische Exposition direkt zu identifizieren. Daher hat die Nutzung von Multi-omics-Strategien für toxikologische Forschungsfragen eine größere Bedeutung.

Ein solcher systemtoxikologischer Ansatz, der die klassische Toxikologie mit der quantitativen Analyse großer molekularer Netzwerke und funktioneller Veränderungen, die auf mehreren Ebenen der biologischen Organisation auftreten, integriert, ist vielversprechend für die Analyse des gesamten Spektrums der Toxizität von Xenobiotika. Ein systemtoxikologischer Ansatz umfasst die folgenden Elemente:

- Absorption und Verteilung des Xenobiotikums im biologischen System.
- Transformation des Xenobiotikums und Erzeugung von toxischen und/oder nicht-toxischen Zwischenprodukten.
- Interaktion des Xenobiotikums und/oder seiner Produkte mit den zellulären Zielen.
- Modifikationen in den zellulären Molekülen einschließlich Genen, Proteinen und Lipiden.
- Strukturelle Manifestationen der Zielorgan-Toxizität.
- Funktionelle Manifestationen der Toxizität, und
- Eliminierung des Xenobiotikums und/oder seiner Zwischenprodukte aus dem biologischen System.

## 1. Toxikologische Untersuchungen über OMICs-Analyse

Zum besseren Verständnis der zellulären Reaktion auf chemische Exposition sollten Studien auf verschiedenen Ebenen durchgeführt werden: Transkriptomik, Proteomik, Phosphoproteomik und Metabolomik. Auch die Epigenomik sollte in bestimmten Fällen in Betracht gezogen werden.

*Transkriptomik.* Das Hauptziel der Transkriptomik ist der umfassende Nachweis von RNAa in der Zelle. Eine Pfadantwort in der Transkriptomik wird in erster Linie über einen bekannten Satz von Zielgenen nachgewiesen, die differenziell exprimiert werden. Zu den Techniken, die angewandt werden, um Veränderungen in der Genexpression als Reaktion auf die Exposition gegenüber einem Xenobiotikum zu bestimmen, gehören: Nordhybridisierung, quantitative Echtzeit-PCR (QRT-PCR), subtraktive Hybridisierung, serielle Analyse der Genexpression, Microarray-Analyse und Next Generation Sequencing. Je nach Zweck der Studie können eine oder mehrere dieser Techniken angewendet werden, um entweder partielle oder globale Expressionsprofile in der untersuchten biologischen Probe zu definieren. Die am häufigsten verwendeten Techniken zur Erstellung von Genexpressionsprofilen sind jedoch QRT-PCR, Microarray-Analyse und NGS. Wenn das Ziel darin besteht, das Expressionsprofil eines einzelnen oder einer begrenzten Anzahl von Transkripten zu untersuchen, ist die QRT-PCR-Analyse die Methode der Wahl. Die QRT-PCR-Analyse ist eine relativ einfache Technik, die die reverse Transkription von mRNAs und die anschließende PCR-Amplifikation der resultierenden cDNAs unter Verwendung von Primern umfasst, die für das Zielgen sowie für ein oder mehrere Housekeeping-Gene spezifisch sind. Die Menge der PCR-amplifizierten Genprodukte wird dann quantifiziert. Da die QRT-PCR die Expression eines einzelnen oder einer begrenzten Anzahl von

Transkripten genau bestimmen kann, hat sie aus systemtoxikologischer Sicht einige Einschränkungen. Um die Toxizität eines bestimmten Xenobiotikums auf Systemebene zu untersuchen, ist es notwendig, eine Hochdurchsatztechnik zu verwenden, die in der Lage ist, die Expressionswerte des gesamten Transkriptoms zu bestimmen. Aus diesem Grund sind Microarray und Next Generation Sequencing die populärsten globalen Transkriptomanalysetechniken, die in der toxikologischen Forschung eingesetzt werden.

Die Microarray-Technik stellt in der Ära der Post-Human-Genom-Sequenzierung einen großen Durchbruch bei den Analysen dar. Wie die Southern-Hybridisierungstechnik basiert der Microarray-Ansatz auf der Fähigkeit von DNA-Molekülen, nukleotidsequenzspezifisch zu binden oder zu hybridisieren. Microarray kann als eine Hochdurchsatz-Nord-Blot-Hybridisierung betrachtet werden, bei der fast alle Gene, die zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer biologischen Probe exprimiert werden, gleichzeitig nachgewiesen werden können. Daher ist es möglich, kleine Unterschiede in den globalen Genexpressionsprofilen in einer gegebenen biologischen Probe als Reaktion auf die Xenobiotika-Exposition(en) zu erkennen. Die Microarray-Technik umfasst die Isolierung hochwertiger RNA, die reverse Transkription der mRNA zur Synthese von cDNA, die cRNA-Synthese und Markierung zur Erzeugung von "Sonden", die Hybridisierung der "Sonden" mit den auf dem Microarray vorhandenen "Targets", den Nachweis der Signalintensität des hybridisierten Sonden-Target-Komplexes und die Analyse der resultierenden Daten zur Bestimmung der Expressionsniveaus der interessierenden Gene. Die Microarray-basierte Analyse wurde in verschiedenen Bereichen wie der Umwelttoxikologie, der Arzneimittelentwicklung und der Arbeitstoxikologie eingesetzt. Die gewonnenen Daten liefern eine Momentaufnahme aller Gene, deren Expressionsniveau als Reaktion auf eine Xenobiotika-Exposition beeinflusst wird.

Next Generation Sequencing (NGS) ist die jüngste Entwicklung der globalen Transkriptomanalyse. Diese Technik kann angewendet werden, um ein globales Genexpressionsprofil in RNA zu bestimmen, die aus verschiedenen biologischen Proben gewonnen wurde. Die wichtigsten Schritte bei NGS sind die RNA-Isolierung, die Entfernung von reichlich vorhandenen RNA-Molekülen wie ribosomaler RNA und Globin-RNA, die Vorbereitung von Sequenzierungsbibliotheken, die PCR-Amplifikation und die Sequenzierung der Bibliotheken. Die resultierenden Daten werden analysiert und die Menge der einzelnen Transkripte wird bestimmt.

*Proteomik*: Die Transkriptomik ist oft die erste Wahl für Untersuchungen auf Systemebene, da im Laufe der Jahre zahlreiche gut etablierte Messmethoden entwickelt wurden. Proteinveränderungen können jedoch als näher an den relevanten funktionellen Auswirkungen eines untersuchten Stimulus angesehen werden. Obwohl mRNA- und Proteinexpression durch Translation eng miteinander verbunden sind, ist ihre Korrelation begrenzt. Die mRNA-Transkriptniveaus erklären nur etwa 50% der Variation der Proteinniveaus. Dies ist auf die zusätzlichen Ebenen der Proteinregulation zurückzuführen, einschließlich ihrer Translations- und Degradationsrate. Darüber hinaus hört die Regulation der Proteinaktivität nicht auf der Expressionsebene auf, sondern wird oft durch posttranslationale Modifikationen weiter kontrolliert. Aus toxikologischer Sicht sind solche Beispiele für eine wichtige posttranskriptionelle Regulation: die enge Regulation der p53- und Hypoxie-induzierbaren Faktor (HIF)-

Proteinspiegel und ihre schnelle posttranskriptionelle Stabilisierung, z. B. bei DNA-Schäden und hypoxischen Bedingungen; die Regulation verschiedener zellulärer Stressreaktionen (z. B. oxidativer Stress) auf der Ebene der Proteintranslation; und die Regulation der zellulären Stressreaktion durch Proteinphosphorylierungskaskaden. Zu den am häufigsten angewandten Proteomics-Analysen, die für die Toxikologie von zentraler Bedeutung sind, gehören: 2D-Polyacrylamid-Gelelektrophorese, gelfreie Flüssigkeitschromatographie, Massenspektrometrie und Analyse der posttranslationalen Modifikationen.

Die 2D-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (2DGE) wird verwendet, um Störungen im Proteom zu untersuchen, die auf Veränderungen der Proteinexpression beruhen. Die 2DGE-Technik basiert auf der Trennung von Proteinen basierend auf ihrem pH-Wert (Ladung) sowie ihrer Größe. Sie hat die Fähigkeit, bis zu 2000 Proteine in einem Gel zu trennen und zu visualisieren. Die erste Dimension, die als isoelektrische Fokussierung (IEF) bezeichnet wird, trennt die Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt (pI). Die zweite Dimension trennt die Proteine weiter nach ihrer Masse. Modernste Bildaufnahme- und Analysesoftware ermöglicht den Vergleich von Kontroll- und behandelten Proben und hilft, die differentiell regulierten Proteine anhand ihrer relativen Intensität zu identifizieren. Eine Variante der 2DGE ist die Differenzgelelektrophorese (DIGE), die auf der Markierung der Proteine mit fluoreszierenden Cyaninfarbstoffen (Cy2, Cy3 und Cy5) basiert. Obwohl die 2DGE ein leistungsfähiges Werkzeug zur Identifizierung vieler Proteine ist, hat der Ansatz seine Grenzen. Die Haupteinschränkung besteht darin, dass nicht alle Proteine mit IEF getrennt werden können, wie z. B. Membran-, basische, kleine (< 10 kDa) und große (> 100 kDa) Proteine. Die zweite Einschränkung ist, dass weniger häufig vorkommende Proteine oft von den häufig vorkommenden Proteinen in der Mischung überdeckt werden.

Andere häufig verwendete Techniken sind die gel-freie Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC MS/MS). Der LC-Ansatz nutzt die Unterschiede in den physiochemischen Eigenschaften von Proteinen und Peptiden, d. h. Größe, Ladung und Hydrophobizität. 2D-LC kann zur Fraktionierung von Proteingemischen auf zwei Säulen mit unterschiedlichen physiochemischen Eigenschaften eingesetzt werden und maximiert die Trennung von Proteinen und Peptiden in komplexen Gemischen. Die Massenspektrometrie wird weithin als die wichtigste Technologieplattform für die Toxikoproteomik angesehen. Zu ihren Hauptvorteilen gehören die unübertroffene Empfindlichkeit, die verbesserte Geschwindigkeit und die Fähigkeit, Datensätze mit hohem Durchsatz zu erzeugen. Aufgrund der hohen Präzision der MS können in Geweben und biologischen Matrices Peptide im femtomolaren ($10^{-15}$) bis attomolaren ($10^{-18}$) Bereich nachgewiesen werden. Dies ist äußerst vorteilhaft bei vergleichenden Analysen, bei denen eine gleichzeitige Analyse von Kontroll- und behandelten Proben durchgeführt wird. Auf diese Weise kann ein umfassendes Verständnis darüber erreicht werden, wie Stimuli das Proteom beeinflussen, und die anschließende Identifizierung potenzieller Biomarker.

Da die Systembiologie eine genaue Quantifizierung eines bestimmten Satzes von Peptiden/Proteinen über mehrere Proben hinweg erfordert, wurden auch gezielte Ansätze für die Quantifizierung von Biomarkern entwickelt. Eine solche Technik ist das Selected Reaction Monitoring (SRM). SRM misst Peptide, die durch den enzymatischen Verdau des Proteoms entstehen, im Triple-Quadrupol-MS. Ein SRM-basiertes Proteom-Experiment beginnt mit der Auswahl einer Liste von

Zielproteinen, die aus vorangegangenen Experimenten oder einer Datensuche, wie z. B. einer Pathway Map oder Literatur, abgeleitet wird. Diesem Schritt folgt 1) die Auswahl der proteotypischen Zielpeptide, die das Protein-Target optimal und eindeutig repräsentieren, 2) die Auswahl eines Satzes geeigneter SRM-Übergänge für jedes Zielpeptid, 3) die Detektion der ausgewählten Peptidübergänge in einer Probe, 4) die Optimierung der SRM-Assay-Parameter und 5) die Anwendung der Assays zur Detektion und Quantifizierung der Proteine/Peptide. Die wichtigsten Vorteile der SRM-Technik sind: 1) die Möglichkeit, Dutzende bis Hunderte von Proteinen während desselben Laufs zu überwachen, 2) die Möglichkeit zur absoluten und relativen Quantifizierung, 3) die hohe Reproduzierbarkeit der Daten und 4) die Erzielung absoluter molekularer Spezifität. Allerdings gibt es auch einige Einschränkungen bei dieser Technik: 1) es kann nur eine begrenzte Anzahl von messbaren Proteinen in denselben Lauf aufgenommen werden und 2) selbst mit ihrer hohen Empfindlichkeit kann sie nicht alle in einem Organismus vorhandenen Proteine erfassen.

Ein weiterer MS-basierter gezielter Ansatz, bekannt als parallele Reaktionsüberwachung (PRM), wurde ebenfalls eingesetzt. Sie basiert auf der Verwendung von hochauflösenden und genauen Quadrupol-Massenmessgeräten der nächsten Generation (hauptsächlich das Orbitrap MS-System). Diese Technik ist eng mit SRM verwandt, ermöglicht aber die parallele Messung aller Fragmentierungsprodukte eines bestimmten Peptids.

Ein weiterer wichtiger Ansatz ist die Analyse der posttranslationalen Modifikationen (PTMs), die durch die toxische Exposition entstanden sind. Sie stellen einen wesentlichen Mechanismus zur Regulierung des zellulären Proteoms dar. PTMs sind chemische Modifikationen, die eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Aktivität, Lokalisierung und Interaktionen von zellulären Biomolekülen spielen. Die Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen und ihren PTM-Stellen sind sehr wichtig für das biochemische Verständnis der PTM-Wege. Dieses Wissen liefert tiefere Einblicke in die mögliche Regulierung der zellulären Physiologie, die durch PTM ausgelöst wird. Einige Beispiele für PTMs sind Phosphorylierung, Glykosylierung, Ubiquitinierung, Nitrosylierung, Methylierung, Acetylierung, Lipidierung und Proteolyse. In den letzten zehn Jahren hat sich die MS-basierte Proteomik als leistungsfähiges Werkzeug für die Identifizierung und Kartierung von PTMs erwiesen. Darüber hinaus profitierten die MS-basierten Ansätze von den Fortschritten in der MS-Instrumentierung, die die Analyse empfindlicher, genauer und mit höherer Auflösung für den Nachweis von weniger häufig vorkommenden Proteinen machte.

*Metabolomik:* Das Metabolom unterscheidet sich von den anderen Omics-Analysen, da es sich um eine Sammlung von chemisch sehr heterogenen Molekülen handelt. Das Metabolom ist typischerweise definiert als die vollständige Bilanz aller kleinmolekularen Metaboliten ( < 1500Da ), die in einer bestimmten Zelle, einem Organ oder Organismus gefunden werden. Dank Initiativen wie dem Human Metabolome Project ist das körpereigene Metabolom von menschlichen und tierischen Modellorganismen weitgehend kartiert worden. Metabolom-Messungen verwenden entweder eine kernmagnetische Resonanz (NMR)-basierte Detektion oder Gas- bzw. Flüssigkeitschromatographie mit Bindestrich zu MS. NMR-basierte Ansätze haben die Fähigkeit, die untersuchten Metaboliten zu quantifizieren und stellen den Goldstandard für die Strukturaufklärung unbekannter Metaboliten dar.

MS-basierte Ansätze übertreffen die NMR in Bezug auf die Empfindlichkeit und können ungezielt oder gezielt durchgeführt werden.

Metabolomics unterscheidet sich von Proteomics und Transcriptomics in mehreren Aspekten:

(i) erkennt die Reaktion auf sehr unterschiedlichen Ebenen eines Signalweges, und
(ii) gleichzeitige Erfassung von Molekülen eines Signalwegs, die auf extrem unterschiedlichen Zeitskalen reagieren.

Durch das Fortschreiten der Metabolomik ist diese in vielen toxikologischen Studien routinemäßig und sehr nützlich geworden. Sie hat ein bemerkenswertes Potenzial beim Screening von arzneimittelinduzierter Zell- oder Organtoxizität. Die schnelle Auswertung biologischer Proben zusammen mit der mathematischen und statistischen Analyse (Chemometrie) der gewonnenen Daten dient als leistungsstarkes Werkzeug für die Bewertung der Arzneimittelsicherheit. Wenn zum Beispiel ein Medikament oder eine chemische Substanz hepatische Toxizität durch Induktion von zellulärem oxidativem Stress verursachen kann, kann die Metabolomics-Analyse der dem Medikament ausgesetzten biologischen Probe direkte Informationen über Metaboliten liefern, die Marker für den oxidativen Stress sind. Sie kann auch Metaboliten identifizieren, die als bekannte Biomarker für Leberschäden gelten und somit auf eine hepatische Pathologie hinweisen. Darüber hinaus kann die Metabolomics-Analyse auch Informationen über Metabolite liefern, die indirekt mit Toxizität in Verbindung gebracht werden.

Metabolomics hat mehrere Vorteile gegenüber der herkömmlichen klinisch-pathologischen Beurteilung. Zum Beispiel hat eine Studie, in der eine unbekannte Verbindung untersucht wurde, gezeigt, dass diese Verbindung den Cholesterinspiegel im Serum erhöht. Bei der Anwendung von Metabolomics wurde festgestellt, dass dieselbe Verbindung neben Cholesterin auch mehrere Phytosterine erhöht, was darauf hindeutet, dass das höhere Cholesterin eine Folge der Sterolabsorption im Darm ist. Solche Befunde zeigen deutlich, dass die Metabolomik ein viel höheres Potenzial in Bezug auf die Identifizierung genauer toxikologischer Endpunkte hat.

*Epigenomik*. Der Schwerpunkt der Epigenomik liegt auf der Untersuchung der chemischen Modifikationen der DNA und der Proteine, die die dreidimensionale Struktur der genomischen DNA organisieren. Heutzutage wird die DNA-Methylierung durch einen modifizierten Genomsequenzierungsansatz (Methylome-seq) untersucht. Dieser Ansatz erfordert jedoch immer noch eine hohe Abdeckung, verbunden mit immer noch erheblichen Sequenzierkosten. Deshalb werden am häufigsten die gezielten Microarray-basierten Ansätze verwendet. Die DNA-Methylierung umfasst zwei verschiedene chemische Modifikationen mit unterschiedlichen funktionellen Konsequenzen - 5-Methylcytosin und 5-Hydroxy-Methylcytosin. Histon-Modifikationen werden mit der Chromatin-Immuno-Präzipitationsmethode unter Verwendung von Antikörpern, die spezifisch für die jeweilige Modifikation sind, und anschließender Sequenzierung (ChIP-seq) analysiert. Um ein umfassendes Bild zu erhalten, müssen typischerweise mehrere Modifikationen detektiert werden. Das erfordert die gleichzeitige Durchführung mehrerer ChIP-seq-Analysen. Da ChIP-seq mehr Probenmaterial benötigt als die anderen epigenomischen Ansätze, kann eine solche Strategie in toxikologischen Studien schwer

zu implementieren sein. ATAC-seq ist ein alternativer Ansatz, der nicht die chemischen Modifikationen direkt untersucht, sondern eine der Hauptfolgen der Modifikationen, die DNA-Zugänglichkeit.

Das Wissen über die Beteiligung von Regulationswegen und spezifischen epigenetischen Modifikationen ist jedoch noch spärlich. Die Epigenomik ist daher von begrenztem Wert, wenn ein Pfad-basierter Datenintegrationsansatz verwendet wird. Allerdings haben sich epigenomische Daten als sehr wertvoll für transgenerationale Studien erwiesen oder wenn versucht wird, langfristige Auswirkungen einer chemischen Exposition auf der Grundlage von Omics-Daten einer kurzfristigen Exposition vorherzusagen.

## 2. OMICs-Anwendungen für toxikologische Risikobewertung und Zulassungsanträge

In den letzten Jahrzehnten wurden "Omics"-Technologien in der Forschung ausgiebig genutzt und es konnte gezeigt werden, dass sie in der Lage sind, einen tiefen Einblick in die Biochemie und Physiologie der Zelle sowie in die schädliche Wirkung von Xenobiotika zu geben. Dies hat zu einer begeisterten Zustimmung der Forschungstoxikologen geführt. Es wurde die Hoffnung geäußert, dass die "Omics"-Technologien die Werkzeuge liefern würden, um eine Reihe von Biomarkern für schädliche Wirkungen und deren Wirkungsweisen zu identifizieren. Damit soll die Vorhersage von Effekten auf den Menschen bei der Gefährdungsbeurteilung von Substanzen verbessert und ein Beitrag zur Entwicklung von Alternativmethoden zu Tierversuchen geleistet werden. Trotzdem bleibt die Übertragung von 'omics in den regulatorischen Bereich bestenfalls vorsichtig.

Das Europäische Zentrum für Ökotoxikologie und Toxikologie von Chemikalien (ECETOC) hat daher eine Reihe von Workshops organisiert, um die Möglichkeiten und Herausforderungen von Omics-Techniken in der chemischen Risikobewertung zu bewerten. Der jüngste Workshop kam zu dem Schluss, dass Omics-Ansätze zur Beantwortung relevanter Fragen in der Risikobewertung beitragen, darunter:

(i) die Klassifizierung von Substanzen und die Definition der Ähnlichkeit,
(ii) die Aufklärung der Wirkungsweise von Stoffen, und
(iii) die Identifizierung von artspezifischen Wirkungen und der Nachweis der Relevanz für die menschliche Gesundheit.

Es wurde jedoch ein Bedarf festgestellt, die Reproduzierbarkeit der Omics-Datenerfassung und Datenanalyse zu erhöhen sowie die besten Praktiken zu definieren. Darüber hinaus ist die regulatorische Verwendung jeder Testmethode eng mit dem spezifischen rechtlichen Rahmen verbunden, der für den zu untersuchenden Stoff relevant ist. In Anbetracht der REACH-Verordnung (EP und Rat der EU, 2006) könnten "omics-basierte Daten potenziell für regulatorische Einreichungen verwendet werden". Um Omics in REACH-Dossiers zu verwenden, listet die REACH-Verordnung verschiedene Anforderungen auf: spezifische Standardinformationen, die bestimmte physikalisch-chemische, toxikologische und

ökotoxikologische Grenzwerte abdecken. Diese Daten werden während der Gefahren- und Risikobewertung ausgewertet und analysiert, um Alternativen für das Risikomanagement zu bestimmen. Die Anwendung und Integration von Omics-Tools kann auf verschiedenen Ebenen der regulatorischen Gefahrenerkennung und -bewertung nützlich sein und dazu beitragen:

1. Einstufung und Kennzeichnung (C&L) von Stoffen.
2. Weight-of-Evidence (WoE)-Ansätze zur Aufklärung des MoA der untersuchten Substanz.
3. Substantiierung der chemischen Ähnlichkeit.
4. Bestimmung von Abgangspunkten (PoDs) zur Gefahrenbeurteilung.
5. Nachweis der artspezifischen Wirkungen und der Relevanz für die menschliche Gesundheit.

Die schnelle Entwicklung von Omics-Technologien bringt einige Herausforderungen mit sich, um ihre Verwendung für die Gefahrenabschätzung zu erleichtern, insbesondere aus Sicht der Zulassungsbehörden. Sätze von "Big Data" müssen unter Anwendung komplexer Ansätze und spezifischer Kenntnisse verdichtet werden, um Informationen zu erhalten, die für die Gefahrenbewertung relevant sind. Darüber hinaus ist das Wissen in diesem sich schnell entwickelnden Bereich vielen Forschern, die im regulatorischen Umfeld arbeiten, nicht unbedingt vertraut. Dementsprechend hängt die fehlende behördliche Zulassung von Omics-Technologien nicht nur mit dem Fehlen von Best-Practice-Rahmenwerken und Qualitätskriterien zusammen, sondern auch mit dem mangelnden Vertrauen in die Analyse und dem Grad der Unsicherheit in Bezug darauf, was genügend Daten sind. Wissenschaftler und Regulierungsbehörden müssen zunächst Erfahrungen mit den aus dieser neuen Technologie gewonnenen Daten sammeln und dann Vertrauen in ihre Anwendbarkeit aufbauen.

## UMWELT-OMICS UND BIODIVERSITÄT

Im Allgemeinen umfassen die meisten Umweltstudien die Kultivierung von isolierten Mikroorganismen oder die Amplifikation und Sequenzierung von konservierten Genen. Es bestehen jedoch einige Schwierigkeiten, die Komplexität einer großen Anzahl verschiedener Mikroorganismen in einer Umwelt zu verstehen. Dies führte zur Entwicklung neuer Techniken, die eine Anreicherung spezifischer Mikroorganismen für vorgelagerte Analysen ermöglichen, wie z. B. die Isolierung und Analyse einzelner Zellen. Fortgeschrittene Werkzeuge in der Metagenomik und Einzelzellgenomik (SCG) ebnen den Weg zu neuen Methoden zur Untersuchung und zum Verständnis unserer Umwelt.

Frühe Umweltstudien zur Diversität von Organismen erforderten die Kultivierung von Proben, um die DNA-Menge zu erhöhen, bevor genomische Bibliotheken erstellt werden konnten. Zu dieser Zeit war die Sequenzierung von 16S und 18S rRNA die beste verfügbare Option zur Bestimmung der Umweltdiversität. Es wurde jedoch klar, dass die Mehrheit der Probengemeinschaften nicht kultivierbare

Arten repräsentiert. Glücklicherweise ermöglicht die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von rRNA den Zugang sowohl zur kultivierbaren als auch zur nicht kultivierbaren Probenvielfalt. Da die PCR direkt an Umweltproben ohne Klonierung durchgeführt werden kann, kann sie zur Amplifikation von Zielgenen direkt aus der Umwelt eingesetzt werden.

Die Bedeutung der Sequenzierung sowohl von nicht-kodierender rRNA als auch von proteinkodierenden Genen nimmt zu, wobei ein besonderes Interesse an der Rekonstruktion bakterieller Genome besteht. Ein umfassendes Sampling aller Gene von allen in einer komplexen Probe vorhandenen Organismen ist durch Shotgun-Metagenomsequenzierung möglich. Mit dieser Methode ist es möglich, die bakterielle Diversität zu bewerten und die Abundanz von Mikroorganismen in einer bestimmten Umgebung zu erfassen. Darüber hinaus erlaubt sie die Rekonstitution kompletter Genome von nicht kultivierbaren Mikroorganismen. Neben der Entdeckung neuer Archaeen-, Bakterien-, Protozoen-, Algen-, Pilz- und eukaryotischer Spezies ist diese Technik von entscheidender Bedeutung für die Rekonstruktion von viralen Genomen. Dies war ein entscheidender Fortschritt, wenn man bedenkt, dass Viren ein gemeinsamer universeller phylogenetischer Marker wie die bakterielle 16S rRNA oder die eukaryotische 18S rRNA fehlt.

Ein weiterer Ansatz ist der Metatranskriptom-Ansatz, bei dem anstelle von genomischer DNA (gDNA) die gesamte RNA-Gemeinschaft gesammelt wird. Diese wird verwendet, um cDNA-Bibliotheken zu konstruieren, die sequenziert werden. Obwohl RNA weniger stabil ist als DNA, liefert sie eine Momentaufnahme des aktuellen Zustands der Gemeinschaft, indem sie auf- und abregulierte Gene aufdeckt. Bis heute wird eine der wichtigsten Metatranskriptom-Studien für die marinen Wassergemeinschaften durchgeführt.

## 1. Einzelzell-Genomik

Metagenomische Sequenzierung ist ein hilfreiches Werkzeug zum Verständnis von Umweltgemeinschaften. Die Assemblierung von Genkatalogen und zusammengesetzten Genomen kann jedoch eine Herausforderung sein. Außerdem ist es schwierig, in bereits assemblierten Genomen zwischen Genen zu unterscheiden, die aus demselben oder aus verschiedenen Organismen stammen (Abb. 3). Daher besteht ein großes Interesse an der Entwicklung eines Systems zum Verständnis der Organisation von entdeckten Genen und Signalwegen innerhalb von Genomen.

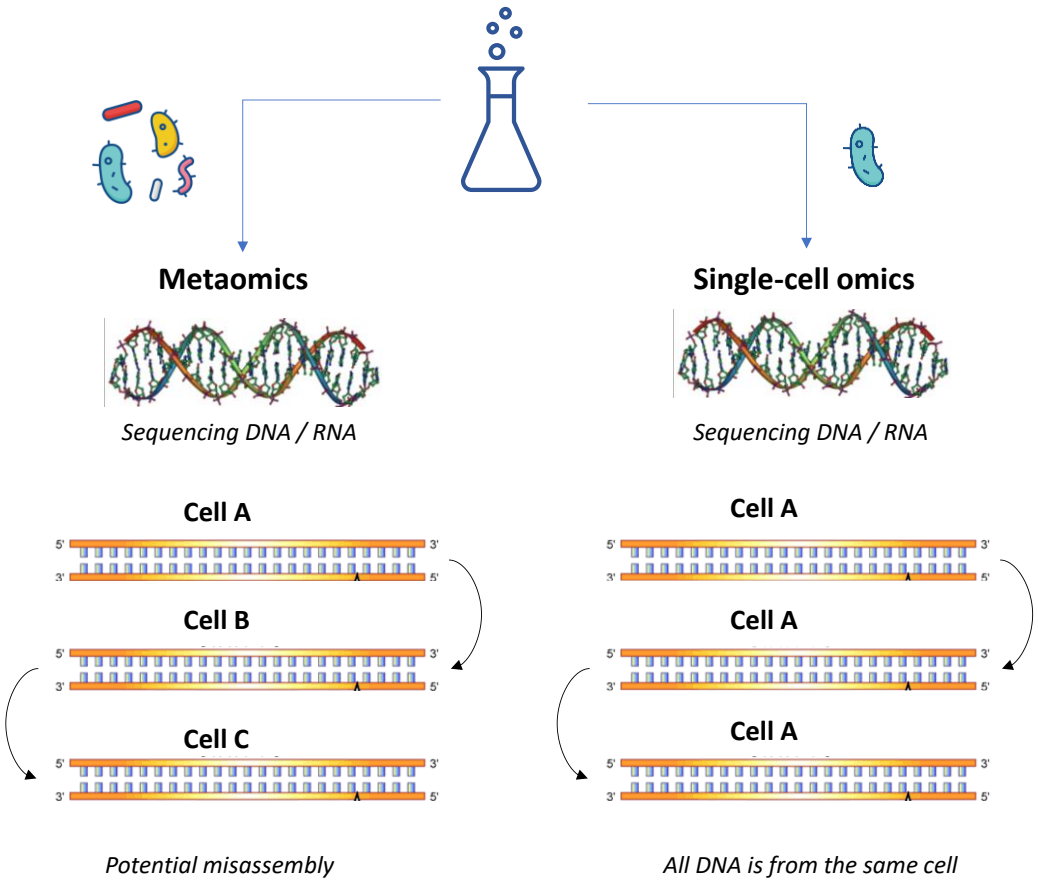



**Abb. 3. Metagenomik vs. Einzelzellgenomik**

Die Herausforderung der Probenheterogenität könnte teilweise durch den Einsatz von zwei Techniken gelöst werden - Scaling-up und Deep-Sequencing. Es sind verschiedene Ansätze erforderlich, um metagenomische Proben aus verschiedenen Umgebungen zu vergleichen und die Zusammensetzung und Organisation von Mikroorganismengenomen in der Umwelt aufzudecken. Einer der Ansätze ist die Anreicherung der Kultur eines bestimmten Organismus auf der Grundlage seiner spezifischen Umweltfunktionen. Diese Art des gezielten metagenomischen Ansatzes erlaubt die Entwicklung von zusammengesetzten mikrobiellen Genomen. Zusätzlich zur Unkultivierbarkeit vieler Organismen treten weitere Probleme auf, wenn schneller wachsende Mikroorganismen die langsameren überflügeln und dadurch zusätzliche Verzerrungen einführen.

Anstelle der Kultivierung kann daher eine komplexe Probe mittels fluoreszenzaktivierter Zellsortierung (FACS) auf eine Zielzellpopulation angereichert werden. Mit diesem Ansatz lassen sich Zellen auf der Grundlage ihrer Form, Größe und Dichte sortieren. Alternativ können bestimmte Organismen von Interesse angereichert werden, indem eine kleine Anzahl von Zellen behandelt wird, die eine bestimmte Funktion in der Umgebung besitzen. Mit der Entwicklung von Whole Genome Amplification (WGA)-Techniken (z. B. Multiple Displacement Amplification (MDA) oder Rolling Circle Amplification (RCA)) kann die gDNA einer begrenzten Anzahl von Zellen amplifiziert und sequenziert werden. WGA-Techniken erzeugen jedoch potenzielle Abweichungen, da die Häufigkeit bestimmter Sequenzen variiert und daher nicht gleichmäßig amplifiziert wird. Daher beeinträchtigt die gDNA-Amplifikation von definierten Populationen mit einer begrenzten Anzahl von Zellen die quantitative Analyse der Metagenomik.

Jüngste Fortschritte in der Einzelgenom-Amplifikationstechnik ermöglichen SCG unter Verwendung von physischer Zellseparation (normalerweise durch FACS auf 96-Well-Platten), Zelllyse und WGA. Ein amplifiziertes Genom aus einer einzelnen Zelle kann dann sequenziert werden. Während bei der Metagenomik die Mikroorganismengemeinschaft gesammelt und die Gesamt-DNA extrahiert und sequenziert wird, werden bei der SCG einzelne Zellen aus der Mikroorganismengemeinschaft abgetrennt und untersucht. Die gewonnenen Sequenzierdaten liefern quantitative Informationen über die genomische Variabilität in Mikroorganismenpopulationen. Gen-Insertionen, -Deletionen, -Duplikationen und Genom-Rearrangements können auf Einzelzell-Ebene untersucht werden. Auf diese Weise können die komplexen Stoffwechselwege für eine einzelne Zelle analysiert werden.

## EINZELZELLISOLIERUNG UND -VERARBEITUNG

Die Untersuchung des Genoms und seiner Regulation auf Populationsebene erfolgt durch die Analyse von Millionen von Zellen auf einmal. Solche Untersuchungen erlauben jedoch weder einen Blick auf die Heterogenität in biologischen Systemen, noch charakterisieren sie den aktuellen Zustand der Population. Deshalb gewinnt das SCG immer mehr an Popularität, um sowohl kultivierbare als auch insbesondere unkultivierbare Mikroorganismen zu untersuchen. Das Verfahren zur Gewinnung, Vermehrung und Sequenzierung von genetischem Material aus lebenden oder toten Zellen ist relativ einfach. Zunächst muss die Zelle isoliert und lysiert werden, dann wird das freigesetzte genetische Material amplifiziert und die genomische Bibliothek kann aufgebaut werden.

Einer der Ansätze zur Einzelzellisolierung ist die Mikromanipulation. Zellen von Interesse werden identifiziert, isoliert und mikroskopisch untersucht. Geeignete Zellen werden mit einer Mikropipette, einer Laserquelle, einer optischen Pinzette oder durch mikrofluidischen Fluss in Echtzeit isoliert. Mit Hilfe der Mikrofluidik kann ein gewünschter Phänotyp, der mit einem bestimmten Genom korreliert, ausgewählt werden. Darüber hinaus können die Zellen vor dem Einfangen leicht beobachtet werden.

Ein anderer Ansatz ist die zufällige Verkapselung. Die Zellen werden durch serielle Verdünnung zufällig ausgewählt. Die verdünnte Probe kann dann in Mikrovertiefungen übertragen werden, oder die Zellen können durch Mikrotröpfchen verkapselt werden. Mit dieser Technik können einzelne Zellen separiert, verarbeitet und einer genomischen Analyse unterzogen werden.

Die Durchflusszytometrie ist das am weitesten verbreitete Verfahren der Zufallsverkapselung. FACS ermöglicht die Isolierung von Zellen, die bestimmte Kriterien wie Größe, Form, Farbe oder sogar das Vorhandensein bestimmter Nukleinsäuren oder Aktivitäten besitzen, unter Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen (Abb. 4). Einer der Hauptvorteile von FACS ist der hohe Durchsatz, die hohe Sortiergeschwindigkeit und die Fähigkeit, lebende Zellen zu unterscheiden. Darüber hinaus kann FACS die Anwesenheit von Zellen in einem Tröpfchen erkennen, leere Tröpfchen aussortieren und die Zellen mit den gewünschten Eigenschaften in Multiwell-/Mikrotiterplatten übertragen. Anschließend können die Zellen lysiert und die Genome in einzelnen Wells amplifiziert werden.

Eine weitere Möglichkeit zur Einzelzellisolierung ist die Mikrotröpfchentechnik (Abb. 4). Mikrotröpfchen sind die Emulsion, die entsteht, wenn Zellen in der Wasserphase kräftig mit Öl vermischt werden. Die Öltröpfchen kapseln die Zellen in der Wasserphase ein. Ursprünglich dachte man, dass eine an einer Emulsion durchgeführte PCR viel spezifischer sei als die Analyse von Zellen in der Wasserphase allein. Es wurde angenommen, dass die Ausbeute an Reaktionsprodukten größer ist und weniger chimäre Nebenprodukte gebildet werden. Außerdem schlossen die gebildeten Tröpfchen eine begrenzte Anzahl von Template-Molekülen ein (im Idealfall nur eines). Neueste Entwicklungen in der Mikrofluidik erlauben es, die Tröpfchengröße zu kontrollieren (Nanoliter oder sogar Pikoliter), wodurch wässrige einheitliche (monodisperse) Tröpfchen in Öl entstehen. Einer der Hauptvorteile des Zweiphasensystems von Mikrotröpfchen gegenüber FACS ist die Möglichkeit, einzelne Zellen als getrennte Einheiten zu behandeln. Jedes Tröpfchen wirkt wie ein unabhängiges Well, in dem Zellen gezüchtet und später auf die exprimierten Produkte gescreent werden können. Freigesetzte gDNA kann in Mikrotropfen effektiv amplifiziert und für die Sequenzierung/Bibliotheksvorbereitung verwendet werden. Bakterien-, Hefe-, Pflanzen-, Insekten- und Säugetierzellen können mit der Mikrotröpfchentechnologie auf Agarose oder anderen Mikrogelen leicht untersucht werden. Sogar multizelluläre Organismen können eingekapselt und in einem Tröpfchen gezüchtet werden. Hypothetisch ist es möglich, jedes sekretierte Molekül zu messen, für das ein fluoreszenzmarkierter Ligand existiert. Außerdem können die Aktivitäten verschiedener Zellproteine überwacht werden.

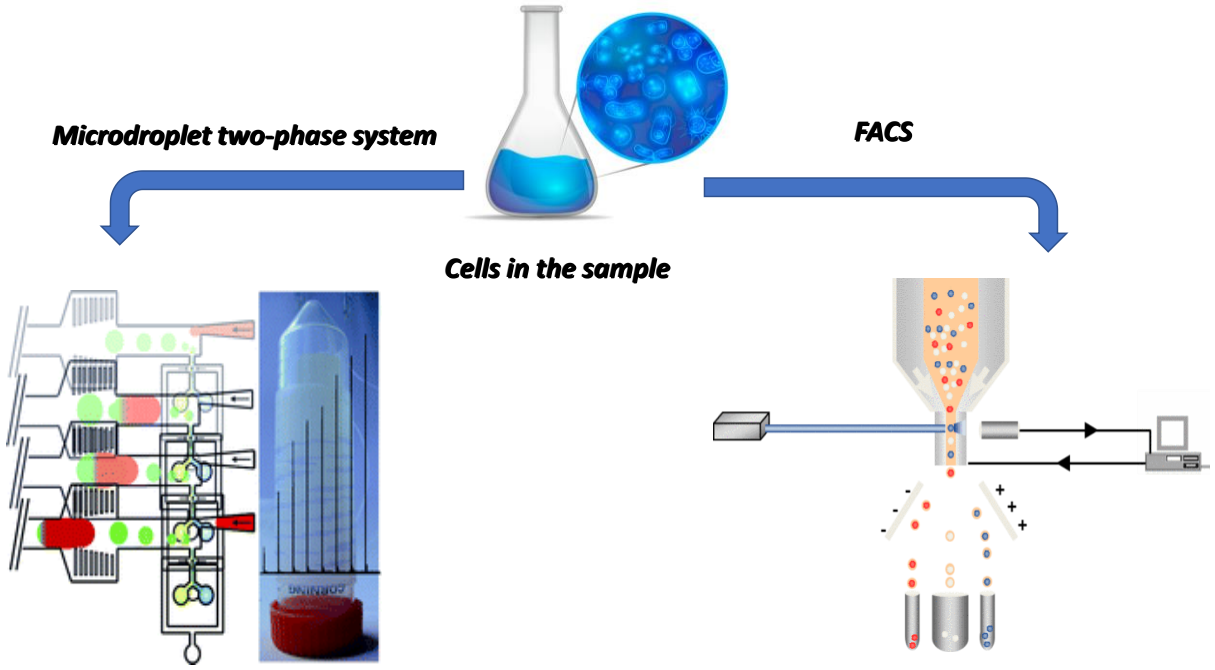



**Abb. 4. Techniken zur Isolierung einzelner Zellen**

## ANSÄTZE ZUR UNTERSUCHUNG VERSCHIEDENER ZELLEN

Lebende Zellen können allgemein in Bakterien, Archaeen und Eukaryoten eingeteilt werden. Obwohl Viren nicht als "lebendig" angesehen werden, stellen sie einen wichtigen Teil der lebenswissenschaftlichen Studien dar. Es gibt verschiedene Einzelzellanalysen, die für unterschiedliche Organismen geeignet sind.

Viren sind praktisch in jeder Umgebung vorhanden. Sie sind die am häufigsten vorkommenden und vielfältigsten biologischen Einheiten. Um jedoch einzelne Viren zu isolieren und ihr Genom zu sequenzieren, muss zunächst ein geeignetes kultivierbares Virus-Wirt-System etabliert werden. Eukaryotische Algen sind zum Beispiel ein Wirt für eine unglaubliche Vielfalt an Viren. Mit Hilfe von FACS und Einzeltropfensystemen können Viren jedoch theoretisch auch ohne Abhängigkeit vom Virus-Wirt-System isoliert werden.

Archaeen und Bakterien haben eine ähnliche Zellstruktur. Nur Unterschiede in der Zellzusammensetzung und -organisation unterscheiden diese beiden Domänen voneinander. Bakterielle Zellen haben normalerweise einen Durchmesser von 0,5-5,0 µm, während Archaeen größer sein können

und einen Durchmesser von 15 µm erreichen. Grundsätzlich können alle oben beschriebenen Methoden verwendet werden, um einzelne Archaeen- und Bakterienzellen zu trennen und zu bearbeiten. Bei FACS können jedoch hohe Ströme das Wachstum dieser Organismen verlangsamen.

Eukaryoten unterscheiden sich von anderen Lebensbereichen durch ihren membrangebundenen Zellkern und membrangebundene Organellen. Sie können mehrzellige oder einzellige Organismen sein. Die Zellgröße liegt typischerweise zwischen 10-100 µm oder sie sind zehnmal größer als Bakterien. Verdünnung, FACS und Tröpfchensortierung sind allesamt geeignete Methoden zur Isolierung eukaryotischer Zellen.

Multizelluläre Organismen können theoretisch auch mit verschiedenen Methoden isoliert und bearbeitet werden. FACS zum Beispiel kann multizelluläre Organismen leicht sortieren. Werden Einzeller für eine ausreichende Zeit in Tröpfchen inkubiert, können sie ein Protein oder einen Liganden synthetisieren und haben die Möglichkeit, sich zu vermehren, wodurch möglicherweise eine mehrzellige Struktur entsteht.

Molekulare Studien über unsere Umwelt und Ökologie gewinnen immer mehr Erkenntnisse über Lebensgemeinschaften. Mit der Entwicklung von molekularen Werkzeugen, insbesondere Sequenziermaschinen, wurde es möglich, ganze Gemeinschaften aus ausgewählten Umgebungen zu sequenzieren. Jüngste Fortschritte in der Einzelzelltechnologie erleichtern die Isolierung und Amplifikation von genomischem Material aus einzelnen Zellen und ermöglichen die Strukturierung zahlreicher sequenzbasierter Bibliotheken. Darüber hinaus ergänzen die aus SCG gewonnenen Daten die durch Metagenomik gewonnenen Daten.

## OMICS-ANSÄTZE IN DER INDUSTRIELLEN BIOTECHNOLOGIE UND BIOPROZESSTECHNIK

Die Biotechnologie nutzt biologische Prozesse, Organismen oder Systeme, um Produkte und Technologien zu erzeugen, die das Leben der Menschen verbessern. Die Nutzung biologischer Systeme zur Herstellung von Bioprodukten von kommerzieller Bedeutung ist eine Schlüsselkomponente der Biotechnologiebranche. Dieser biotechnologische Ansatz hat in verschiedenen Bereichen Anwendung gefunden: Energie-, Material-, Pharma-, Lebensmittel-, Landwirtschafts- und Kosmetikindustrie. Die Bioprodukte aus Biomanufacturing-Prozessen sind in der Regel Stoffwechselprodukte und Proteine, die aus Zellen, Geweben und Organen gewonnen werden. Die biologischen Systeme, die diese Bioprodukte synthetisieren, können natürlich sein oder durch Gentechnik, Stoffwechseltechnik, synthetische Biologie und Proteintechnik verändert werden. "Omics"-Technologien sind für die Biotechnologie und das Metabolic Engineering von großer Bedeutung und helfen bei der Charakterisierung und dem Verständnis von Stoffwechselnetzwerken. Die bedeutende Menge an Wissen, die aus "Omics"-getriebenen Experimenten gewonnen wird, kann bei der Entwicklung von biotechnologischen Werkzeugen und der

Weiterentwicklung von Metabolic Engineering eingesetzt werden. Dies ermöglicht die Manipulation komplexer biologischer Systeme mit dem Ziel, robuste industrielle Strategien für die Bioproduktion zu entwickeln.

## 1. Omics-geführte Biotechnologie

"Omics"-Werkzeuge werden mehr und mehr bei der Entwicklung biotechnologischer Prozesse und der Herstellung vieler wichtiger Produkte eingesetzt. Die Anwendung von "Omics"-Technologien bei der Charakterisierung und dem Verständnis biologischer Systeme hat es ermöglicht, Phänotypen auszuwählen und vorherzusagen, was die Optimierung biotechnologischer Prozesse in Richtung einer verbesserten Produktion (in Qualität und Quantität) von kommerziell relevanten Produkten erleichtert (Abbildung 5).

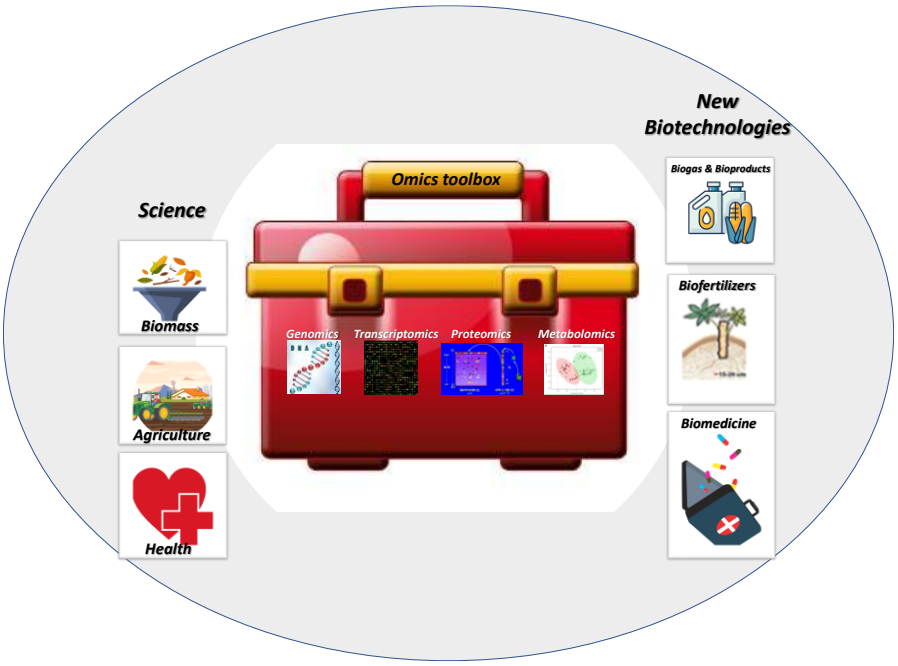



**Abb. 5. Omics-Werkzeuge in der Biotechnologie**

## PRODUKTION VON BIOKRAFTSTOFFEN UND BIOPRODUKTEN

Die mikrobielle Produktion von Naturstoffen stellt eine attraktive und nachhaltigere Alternative zu herkömmlichen Petrochemikalien dar. Ihre Umsetzung hat zu einem wachsenden Katalog von Naturprodukten und hochwertigen Chemikalien geführt. Die Nutzung von lignozellulosehaltiger Biomasse stellt einen wirtschaftlichen Ansatz zur Erzeugung von Biokraftstoffen und Bioprodukten dar. Um jedoch eine stabile Umwandlung von kostengünstigen Rohstoffen in Produkte mit hoher Wertschöpfung auf industriellem Niveau zu erreichen, bedarf es systematischer technischer Pläne. Der Design-Build-Test-Learn (DBTL)-Zyklus wird zunehmend als Ansatz für Metabolic-Engineering-Experimente eingesetzt. Er stellt ein systematisches und effektives Werkzeug dar, um die Entwicklung von Biokraftstoffen und biobasierten Produkten voranzutreiben. Der DBTL-Zyklus verwendet einen *in silico*-Ansatz, um genetische Konstrukte in mikrobiellen Wirten zu entwerfen und aufzubauen. Als nächstes werden die Informationen, die während der Testphase des Zyklus aus den "Omics"-Technologien gewonnen werden, auf Lernprozesse übertragen (Abbildung 6). Das Gelernte wird dann in neue Designzyklen zurückgeführt, um eine weitere Stammentwicklung und -optimierung zu erreichen. Dadurch wird eine schnelle Optimierung von mikrobiellen Stämmen, die eine beliebige chemische Verbindung von Interesse produzieren, ermöglicht. Der schwächste Punkt im Arbeitsablauf des DBTL-Zyklus ist der Lernprozess, da die mathematischen Modelle nur so gut sind wie ihre Annahmen. Daher werden sowohl qualitativ hochwertige als auch große "Omics"-Datensätze benötigt, um die Trainingsmodelle zu verbessern und eine höhere Genauigkeit und Zuverlässigkeit des Lernprozesses zu gewährleisten.

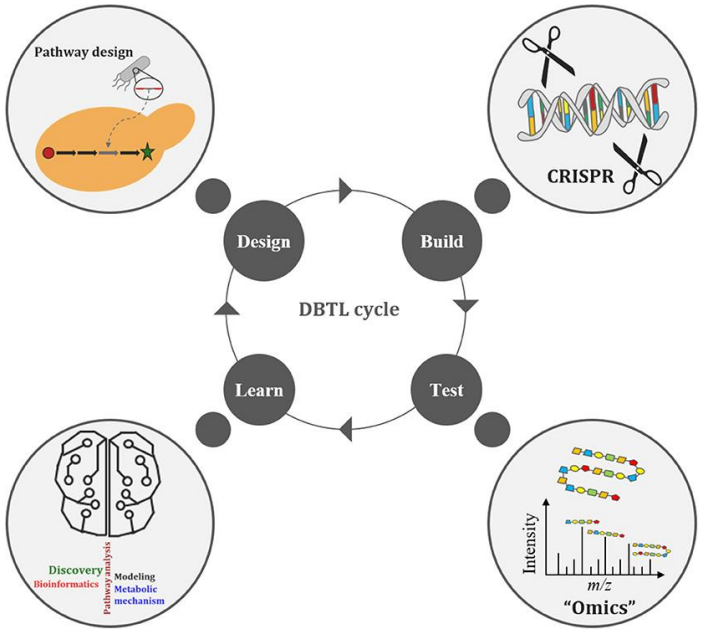



**Abb. 6. DBTL-Zyklus zur Optimierung von Biokraftstoffen und biobasierten Produkten**

Im DBTL-Zyklus ist die genomische Sequenzinformation oft der traditionelle Ansatz, der in den ersten Phasen einer Studie verwendet wird. Zum Beispiel kann die Barcode-Sequenzierung (Bar-seq) (eine Methode, die einen kurzen Abschnitt der DNA eines bestimmten Gens oder bestimmter Gene verwendet) verwendet werden, um die Populationsdynamik von *Saccharomyces cerevisiae*-Deletionsbibliotheken während der Bioreaktorkultivierung zu untersuchen, was die Identifizierung von Faktoren ermöglicht, die die Diversität eines Mutantenpools beeinflussen. Einzelzellsequenzierungs-geführte Ansätze können verwendet werden, um mutierte Schlüsselpromotoren für die Anpassung der Expressionsniveaus zu identifizieren, wodurch die dynamische Regulierung des mikrobiellen Wachstums erleichtert wird. Proteomik-geführte Ansätze wurden eingesetzt, um Polyketid-Biosynthese-Plattformen für die *in vitro*-Produktion von Adipinsäure in Hefe zu entwickeln. Darüber hinaus erlaubt die Metabolomik die Bewertung des Stoffwechselweges, der Nutzung von Kohlenstoffquellen und des Ungleichgewichts von Cofaktoren, die alle zur Identifizierung von Engpässen im Stoffwechselweg beitragen. Ein solcher Metabolomics-geführter Ansatz wird bereits für die Charakterisierung der Cannabinoid-Produktion in gentechnisch veränderten *S. cerevisiae* verwendet. Es wurden Cannabinoid-Analoga identifiziert, die von mehreren promiskuitiven Stoffwechselweg-Genen produziert werden. Darüber hinaus half die Anwendung von Metabolomics beim Design und der Optimierung eines neuartigen Isopentenyldiphosphat-Bypass-Mevalonat-Wegs in *E. coli* für die C5-Alkoholproduktion. Kürzlich haben einige Autoren den DBTL-Zyklus genutzt, um *Rhodosporidium toruloides* zu entwickeln, eine ölhaltige Hefeart, die auf lignozellulosehaltigen Materialien wächst und das Diterpen Ent-Kauren produziert, ein potenzielles Therapeutikum, das antimikrobielle, entzündungshemmende, kardiovaskuläre, harntreibende, Anti-HIV- und zytotoxische Wirkungen aufweist.

## AGRAR- UND LEBENSMITTELBIOTECHNOLOGIE

Jüngste Innovationen in der landwirtschaftlichen Biotechnologie haben zu neuen Pflanzensorten geführt, die durch rekombinante DNA-Technologie entwickelt wurden und besser auf die Marktanforderungen und Umweltprobleme reagieren. Tatsächlich wurden "Omics"-Werkzeuge in der landwirtschaftlichen Biotechnologie eingesetzt, um erwünschte phänotypische Eigenschaften (z. B. Farbe, Geschmack, Trockentoleranz, Pestizidresistenz usw.) zu verbessern. "Omics" spielt nicht nur bei der Verbesserung der Qualität, Konsistenz und Produktivität von Nutzpflanzen eine Rolle, sondern auch bei der Entwicklung von Nahrungspflanzen mit verbesserter Nährstoffzusammensetzung. Darüber hinaus hilft die Omics-getriebene Systembiologie dabei, die Interaktionen zwischen den "OMEs" zu verstehen und Verbindungen zwischen Genen und spezifischen Eigenschaften herzustellen.

Im Ackerland ist der Boden anfälliger für den Verlust von Struktur, organischer Substanz, Mineralien und Erosion. Daher werden mit Hilfe der landwirtschaftlichen Biotechnologie Anstrengungen unternommen, um eine konstante Versorgung mit Nährstoffen zu gewährleisten, die für das Wachstum von Nutzpflanzen wichtig sind. Ein wesentlicher Bestandteil dieses Ansatzes ist die

Verwendung von Biodüngern. Dabei handelt es sich um Präparate, die spezialisierte mikrobielle Inokulanzien enthalten, die Nährstoffquellen fixieren, mobilisieren, auflösen oder abbauen können. Biofertilizer werden in der Regel über das Saatgut oder den Boden ausgebracht und verbessern die Nährstoffaufnahme der Pflanzen. Die weit verbreitete Anwendung dieses Ansatzes wurde jedoch durch schwankende Reaktionen von mikrobiellen Inokulanten auf verschiedenen Feldern und Kulturen behindert. Daher besteht ein dringender Bedarf, die Mechanismen besser zu verstehen, die den Wechselwirkungen zwischen den mikrobiellen Gemeinschaften im Boden und der Produktivität der Wirtspflanzen zugrunde liegen. Jüngste Genomik- und Exo-Metabolomik-Studien zeigten, dass bestimmte Rhizosphärenbakterien eine natürliche Präferenz für bestimmte aromatische organische Säuren haben, die von Pflanzen ausgeschieden werden. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass die Exsudationseigenschaften der Pflanzen und die Eigenschaften der mikrobiellen Substrataufnahme interagieren und spezifische Muster der mikrobiellen Gemeinschaft bilden. Darüber hinaus ergab die Anwendung von Genomik und Transkriptomik zur Untersuchung der Phosphataufnahme durch verschiedene Mikroalgen eine Reihe von Pi-Transportern mit spezifischen Expressionsmustern in Bezug auf die Verfügbarkeit von P. Derzeit werden "Omics"-Ansätze zur Untersuchung komplexer rhizosphärischer Interkommunikationen verwendet, was für die Entwicklung neuer Biodünger von entscheidender Bedeutung ist und somit ein stabiles Pflanzenwachstum, eine bessere Pflanzenproduktivität und einen höheren Ertrag fördert.

Im verwandten Bereich der Lebensmittelbiotechnologie konnte durch die Anwendung von Transkriptomik und Metabolomik gezeigt werden, dass *Bacillus pumilus* LZP02 das Wachstum von Reiswurzeln durch die Verbesserung des Kohlenhydratstoffwechsels und der Phenylpropanoid-Biosynthese fördert. Darüber hinaus ermöglicht die Anwendung von "Omics" im Bioengineering von Stärke ein besseres Verständnis der wichtigsten Enzyme für ihre Biosynthese. Dies erleichtert die Vorhersage, wie stärkebezogene Phänotypen modifiziert werden können und sichert weitere Fortschritte auf dem Forschungsgebiet der Reisstärke-Biotechnologie. "Omics" helfen auch bei der Lösung von Fragen der Lebensmittelqualität und Rückverfolgbarkeit, beim Schutz der Herkunft von Lebensmitteln und bei der Entdeckung von Biomarkern für mögliche Probleme der Lebensmittelsicherheit. Die fortschrittliche Untersuchung des Weinmikrobioms hat einen großen Einfluss auf die Weinindustrie und hilft dabei, die Faktoren besser zu verstehen, die Trauben in Wein verwandeln, einschließlich Geschmack und Aroma. Die "Omics"-Charakterisierung der komplexen Beziehungen zwischen diesen Mikroorganismen, dem Substrat und der Umwelt ist essentiell für die Gestaltung der Weinproduktion. Schließlich kann die Kombination von "Omics"-Technologien mit der Genom-Editierung von Lebensmittel-Mikroorganismen genutzt werden, um verbesserte probiotische Stämme zu generieren, innovative Bio-Therapeutika zu entwickeln und die Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft in Lebensmittelmatrizen zu verändern.

## "OMICS" TECHNOLOGIEN UND COVID-19

Die Coronavirus-Krankheit 2019 (COVID-19) wird durch das Coronavirus 2 des Schweren Akuten Respiratorischen Syndroms [d. h. SARS-CoV-2, das an den ACE2-Rezeptor in der Lunge und anderen Organen bindet] verursacht. Aufgrund seiner weltweiten Ausbreitung wurde eine globale Pandemie ausgerufen und ein Großteil der Weltwirtschaft wurde ausgebremst. Bis zum April 2021 gibt es weltweit mehr als 138 Millionen bestätigte Fälle und 2,5 Millionen bestätigte Todesfälle (https://www.worldometers.info/coronavirus/). Es besteht also ein dringender Bedarf an einer wirksamen Gegenmaßnahme, um die Ausbreitung der Pandemie einzudämmen.

Daher werden derzeit Anstrengungen unternommen, um die Entwicklung und Produktion von sicheren und wirksamen Impfstoffen gegen SARS-CoV-2 zu beschleunigen. Vorangegangene Erkenntnisse über SARS und das Middle East Respiratory Syndrome (MERS) haben die Ausrichtung auf das Spike-Protein als virales Antigen (über den ACE2-Rezeptor) erleichtert. Darüber hinaus ermöglichte die Genomsequenzierung des SARS-CoV-2 im Januar 2020 die beschleunigte Entwicklung von mRNA- und Impfstoffplattformen der nächsten Generation, die für das Antigen kodieren. Nach der Injektion in einen Wirt verbleibt die mRNA, eingekapselt in Lipid-Nanopartikel, im Zytoplasma. Bei Verwendung von DNA, die in einem abgeschwächten Adenovirus-Vektor verpackt ist, gelangt sie in den Zellkern. Die Wirtszelle übersetzt dieses genetische Material in das Spike-Protein. Es setzt sich auf der Zelloberfläche ab und provoziert eine adaptive Immunantwort, die durch T-Zellen (z. B. CD4+ und CD8+) und B-Zellen (d. h. Antikörper) vermittelt wird. Diese Impfstoffe haben sich in jüngsten klinischen Studien als wirksam gegen SARS-CoV-2 erwiesen, was die Bedeutung der Genomik für diese neue Ära der Impfstoffentwicklung unterstreicht.

Seit Beginn des Ausbruchs von SARS-CoV-2 wurde eine Protein-Interaktionskarte erstellt und mit Hilfe eines Proteomics-basierten Ansatzes wurden Ziele für das Drug Repurposing aufgedeckt. Durch die Anwendung der Proteomics-Analyse wurden 26 der 29 SARS-CoV-2-Proteine kloniert, affinitätsmarkiert und in menschlichen Zellen exprimiert und die assoziierten Proteine identifiziert. Insgesamt wurden 66 menschliche Proteine oder Wirtsfaktoren als potenzielle Wirkstoffziele von 69 Substanzen entdeckt. Zwei Sätze dieser pharmakologischen Wirkstoffe zeigten antivirale Aktivität. Darüber hinaus wurden computergestützte Immunoproteomics-Studien durchgeführt, die die laborgestützten Untersuchungen unterstützen und die Bewertung der Spezifität diagnostischer Produkte, die Vorhersage potenzieller unerwünschter Wirkungen von Impfstoffen und die Reduzierung der Verwendung von Tiermodellen ermöglichen.

Darüber hinaus wurde kürzlich eine auf Metabolomics basierende Methode entwickelt, die in der Lage ist, COVID-19-Patienten von gesunden Kontrollen über die Analyse von 10 Plasmametaboliten zu unterscheiden. Zusätzlich deuten die Daten aus der Lipidomics-Studie darauf hin, dass mit Monosialodihexosyl-Gangliosid angereicherte Exosomen an den pathologischen Prozessen beteiligt sein könnten. Proteomics- und Metabolomics-Untersuchungen in COVID-19-Patientenseren ergaben, dass die SARS-CoV-2-Infektion eine metabolische Dysregulation des Makrophagen- und Lipidstoffwechsels, der Thrombozyten-Degranulation, der Komplementsystem-Wege und eine massive

metabolische Suppression verursacht. Die Analyse der metabolomischen Signaturen des Plasmas zeigte ein ähnliches Profil, wie es für das Sepsis-Syndrom beschrieben wurde. Darüber hinaus zeigten die Ergebnisse der Transkriptomik eine Hochregulierung von Genen, die mit der oxidativen Phosphorylierung zusammenhängen, sowohl in peripheren mononukleären Leukozyten als auch in der bronchoalveolären Lavageflüssigkeit. All diese Informationen deuten auf eine kritische Rolle der mitochondrialen Aktivität während der SARS-CoV-2-Infektion hin. Das Verständnis der klinischen Präsentation von COVID-19 sowie der metabolomischen, proteomischen und genetischen Profile könnte bei der Entdeckung spezifischer diagnostischer, prognostischer und prädiktiver Biomarker helfen und die Entwicklung einer erfolgreicheren medizinischen Therapie gewährleisten. Darüber hinaus könnte die Unterscheidung von metabolischen Biomarkern für schwere vs. leichte Krankheitszustände in der Lunge während Atemwegsinfektionen zur Entdeckung neuartiger Therapeutika führen, die die Symptom- und Krankheitsschwere modulieren.

# NUTRI-OMICS FORSCHUNG

Mehr als ein Jahrzehnt ist vergangen, seit die Idee der Nutrigenomik erstmals vorgestellt wurde. Nutrigenomik, auch als Ernährungsgenomik, Ernährungsomik oder Nutri-omik bezeichnet, kann als ein Bereich der Lebensmittel- und Ernährungsforschung definiert werden, der tiefgreifende Analysen von Molekülen oder anderen physikalischen Phänomenen nutzt.

In Anbetracht der Komplexität des menschlichen Körpers und seiner vielfältigen Wechselwirkungen mit der Nahrung ist es denkbar, dass ganzheitliche Analysen der Nahrungsmittel-Körper-Interaktionen eine wichtige Voraussetzung für ein besseres Verständnis der Wirkung von Nahrungsbestandteilen sind. Die Hauptannahme ist, dass die Kombination verschiedener Omics-Plattformen einen tieferen Einblick in den Einfluss von Nahrungsbestandteilen und den Mechanismus ihrer Wirkung ermöglicht.

## 1. Genomik und Ernährung

Menschliche Gene haben unterschiedliche Varianten in der Bevölkerung. Wenn man bedenkt, dass die Reaktion auf die Ernährung ein multigener Prozess ist, ist es nicht überraschend, dass nicht miteinander verwandte Individuen unterschiedlich reagieren können. Die Schlüsselhypothese, die in den letzten Jahren vorgeschlagen wurde, besagt, dass genetische Variationen den Unterschieden bei ernährungsbedingten Störungen und dem Risiko für Krankheiten zugrunde liegen. In der Tat versucht die Nutrigenetik zu erklären, wie und in welchem Ausmaß ernährungsbezogene Merkmale und Störungen durch genetische Variation beeinflusst werden. Mit anderen Worten, die Schlüsselfragen der Nutrigenetik sind:

- Welche Gene sind an der Bestimmung eines bestimmten Merkmals beteiligt?
- Was ist die funktionale Identität der Variation, durch die sich Menschen für dieses Merkmal unterscheiden?
- Wie kann dieses Wissen zum Wohle der Bevölkerung genutzt werden?

Normalerweise definieren die Forscher "Kandidatengene" für ein Merkmal oder eine Störung und suchen in diesen Genen nach Variationen. Dies wird als "hypothesengetriebener" Ansatz bezeichnet, weil die Auswahl der Gene auf ihrer vermuteten Funktion beruht. Zum Beispiel werden die Gene für Lipoproteine als Kandidaten für Fettleibigkeit und die Gene für die Insulinsignalisierung - als Kandidaten für Diabetes - verwendet. Andere attraktive Kandidaten beim Menschen sind die orthologen Gene, die Tiermodellen mit einer mendelschen Segregation eines Merkmals zugrunde liegen. Ein bekanntes Beispiel ist die db/db-Maus. Sie ist ein Modell für Diabetes, bei dem das Gen für den Leptinrezeptor identifiziert wurde. Das menschliche Homolog wurde dann an Personen mit einer gestörten Glukosetoleranz getestet. Eine Variante (Allel) des Gens wurde identifiziert und es wurde nachgewiesen, dass diese mit einer signifikant höheren Häufigkeit des Auftretens von Diabetes im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung assoziiert ist.

Andere angewandte Methoden beziehen sich auf die Untersuchung der bevorzugten Segregation eines Allels von den Eltern auf ein betroffenes Kind (Transmissionsungleichgewichtstest) oder auf mehrere betroffene Geschwister (Geschwisterpaaranalyse). Wenn ein Gen mit dem Merkmal in Verbindung gebracht wird, muss noch bewiesen werden, ob das assoziierte oder verknüpfte Allel selbst der Risikofaktor ist, oder ob es nur als Marker für eine nahe gelegene ursächliche Variation verwendet werden kann. Wenn die genetische Variation mit einer Aminosäurevariation im Protein verknüpft ist, könnte ein Funktionstest entwickelt werden und die allelischen Proteine können auf ihre enzymatische Aktivität, DNA-Bindungsaffinität usw. verglichen werden.

Ein weiterer Ansatz zur Suche nach risikobehafteten Genen für ein bestimmtes Merkmal oder eine Störung ist der Total-Genom-Scan. Dabei werden Hunderte von Polymorphismen mit einer zufälligen Verteilung über das Genom, aber mit einer bekannten chromosomalen Lage nachgewiesen. Für jede polymorphe Stelle wird dann ermittelt, ob eine Assoziation zwischen dem Allel und dem Merkmal besteht. Mit diesem Ansatz können Risikoloci für viele ernährungsbedingte Erkrankungen des Menschen wie Adipositas und Diabetes identifiziert werden.

Nach dem Zweiten Weltkrieg wurde in vielen westlichen Ländern beobachtet, dass die Inzidenzen von Spina bifida allmählich zurückgingen. Es wurde vermutet, dass die Verbesserung der Ernährung diesen Effekt hervorgebracht hatte. Eine große epidemiologische Studie wurde gestartet. Die erzielten Ergebnisse zeigten, dass die Anreicherung der Ernährung mit Vitaminen das Auftreten und Wiederauftreten von Spina bifida bei Menschen zu mehr als 50 % verhindern konnte. Folsäure wurde als die aktive Substanz entdeckt und nun wird in vielen Ländern eine präkonzeptionelle Folsäure-Supplementierung als allgemeine Präventionsmaßnahme empfohlen. Gleichzeitig ist klar geworden, dass sich die Frauen in der Bevölkerung hinsichtlich des Risikos für ein Kind mit Spina bifida grob in drei Gruppen einteilen lassen: [i] kein Risiko auch bei geringer Folatzufuhr, [b] ein Risiko bei geringer

Folatzufuhr, dem aber durch eine erhöhte Folatzufuhr geholfen werden kann, und [c] ein Risiko trotz zusätzlicher Folatzufuhr. Es wurde eine genetische Prädisposition vermutet, und Kandidatengene aus dem Folatstoffwechsel wurden auf genetische Variation untersucht. Dabei wurden die Allele 667C->T und 1298A->C im Gen für Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) als Risikofaktoren entdeckt. Diese Risiko-Allele wurden jedoch in allen drei Gruppen von Frauen in gewissem Umfang entdeckt, was zeigt, dass ein Gentest im Rahmen einer personalisierten Diät unzureichend wäre. Außerdem wurde deutlich, dass nicht das gesamte relative Risiko durch diese Allele erklärt werden kann. Daher wird die Suche nach genetischen Variationen in anderen Genen fortgesetzt und es könnten neue Kandidatengene gefunden werden.

Derzeit sind bereits mehrere Hundert Gene identifiziert worden, die mit bestimmten ernährungsbedingten Merkmalen und Störungen in Verbindung stehen, und zwar durch genetische Experimente in verschiedenen Populationen und die Untersuchung von Tier- und In-vitro-Modellsystemen. Schließlich soll die Nutrigenomik- und Nutrigenetik-Forschung zu einem umfassenden Verständnis der Ätiologie dieser Merkmale und Störungen im Hinblick auf die interagierenden Gene, die Ernährungskomponenten und das relative Risiko führen, das sowohl durch genetische Variation als auch durch die Ernährung vermittelt wird. Dieses kombinierte Wissen wird es ermöglichen, ein genetisches Profil jedes Individuums zu erstellen und damit sein Risiko für die Entwicklung von ernährungsbedingten Störungen abzuschätzen. Auf der Grundlage dieses persönlichen Risikoprofils genetischer Faktoren könnte dann eine "personalisierte Diät" vorgeschlagen werden, mit der das Auftreten einer Störung verhindert oder zumindest verzögert werden könnte. Einige Unternehmen bieten bereits Gentests für Allele an, die mit bestimmten Merkmalen in Verbindung gebracht wurden. So wird z.B. das ApoE-Allel als Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen getestet und ein Allel des Alkoholdehydrogenase-Gens wird zur Vorhersage einer möglichen Alkoholempfindlichkeit und eines (Ab-)Konsums verwendet. Es ist jedoch wichtig zu beachten, dass das Vorhandensein eines bestimmten Allels das Risiko für eine Störung um 100 % erhöhen kann, während in absoluten Zahlen das Risiko normalerweise immer noch sehr gering ist, wie z. B. eine Erhöhung von 0,001 auf 0,002. Außerdem kann das Testen nur eines genetischen Faktors ein unvollständiges oder sogar falsches Bild der Situation vermitteln. Heutzutage haben wir keine Ahnung von allen genetischen Faktoren und wie sie zusammenwirken. Bis mehr Informationen gesammelt werden, müssen die Ratschläge, die auf einfachen Tests beruhen, wahrscheinlich einfach bleiben und klingen wie "weniger Alkohol trinken" oder "weniger gesättigte Fette essen".

## 2. Traskriptomik und Ernährung

Die Transkriptomik wird in der Lebensmittelforschung aufgrund der vielen Vorteile der DNA-Microarray-Technologie am häufigsten eingesetzt, einschließlich der Vollständigkeit der Expressionsdaten, der etablierten Protokolle und der hohen Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit der Daten. Es wurde auch über die Veränderungen der globalen Genexpression als Reaktion auf

verschiedene Veränderungen in der Ernährung berichtet, wie z.B. Nährstoffmangel, Fasten, übermäßiges Essen und die Einnahme von spezifischen Nahrungsfaktoren. Als ein Beispiel für die durchgeführten Versuche, Referenzdaten zu gewinnen, wurde eine Transkriptomanalyse der Leber von Ratten durchgeführt, die mit einer milden kalorischen Restriktion behandelt wurden. Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass eine bescheidene Reduktion der Nahrungsaufnahme oder ein verändertes Aufnahmemuster für das Auftreten signifikanter metabolischer Veränderungen ausreichen kann. Daher ist es wichtig, zwischen den direkten Effekten der Nahrungskomponente und den sekundären Effekten zu unterscheiden, die durch die Änderung des Essverhaltens verursacht werden. Wenn Ratten eine Diät mit 5 bis 30% weniger Nahrung als eine ad libitum gefütterte Gruppe für 1 Woche oder 1 Monat gefüttert wurde, wurden restriktionsabhängige Veränderungen im Expressionsniveau von cyp4a14 beobachtet. Tatsächlich wurde das cyp4a14-Gen sogar durch ein niedriges Niveau der kalorischen Restriktion induziert. Diese Daten deuten darauf hin, dass das Gen als Biomarker für die positiven Auswirkungen der Nahrung auf den Energiestoffwechsel verwendet werden kann.

## 3. Proteomik und Ernährung

Viele Studien zur Lebensmittel- und Ernährungsforschung wurden mit Hilfe von Proteomics-Ansätzen durchgeführt. Zum Beispiel wurde die oben beschriebene Wirkung einer milden kalorischen Restriktion auch mit Proteomics untersucht. Neun signifikant hoch-regulierte Proteine und neun herunter-regulierte Proteine wurden nach dem Proteom-Vergleich der Leber von Ratten, die mit 30-prozentiger Nahrungsrestriktion behandelt wurden, mit den Kontroll-Ratten festgestellt. Zehnprozentige Restriktion verursachte die Hochregulierung von 9 Proteinen und die Herunterregulierung von 2 Proteinen. Eine interessante Entdeckung war die Hochregulierung von Prohibitin, dessen Beteiligung an der Regulierung der Langlebigkeit kürzlich aufgedeckt wurde. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass Prohibitin als effektiver Biomarker für die positiven Effekte von Nahrungsfaktoren eingesetzt werden kann. Obwohl das derzeitige Stadium der Proteomik-Forschung im Vergleich zur Transkriptomik viel weniger umfangreich ist, zeigt die hier beschriebene Studie zusammen mit anderen Forschungsergebnissen der Ernährungsproteomik, dass die Proteomik ein vielversprechendes Werkzeug für die Entdeckung von Biomarkern ist.

## 4. Matbolomics und Ernährung

Es gibt etwa zehntausend verschiedene Arten von Hauptmetaboliten in Tierkörpern, während die Anzahl der Proteine 100.000 übersteigen soll. Es wird erwartet, dass diese Eigenschaft der Metabolite zu umfassenderen Funktionen der Metabolomics-Analyse führt als die der Proteomics. Die Analyse von Metaboliten ist jedoch in der Tat mit Schwierigkeiten behaftet und erfordert in der Regel den Einsatz ausgefeilter Techniken und hochqualifiziertes Personal. Eine weitere Schwierigkeit ergibt sich aus der

Breite der Metabolitenhäufigkeit. Unabhängig von diesen Hindernissen ist die Metabolomik ein leistungsfähiges Werkzeug in der Lebensmittel- und Ernährungswissenschaft.

Viele Untersuchungen zeigten, dass der Darm- und Serumstoffwechsel durch die Veränderung der Zusammensetzung des Darmmikrobioms beeinflusst wird. Das Darmmikrobiom und seine Veränderung in Abhängigkeit von der Ernährung sind essentiell für die Bewertung von diätetischen Interventionsstudien mit metabolomischen Endwirkungen. Der Vergleich zwischen keimfreien Mäusen, die mit menschlicher Babyflora kolonisiert wurden, und konventionellen Mäusen zeigte die Komplexität der durch die Ernährung modifizierbaren Mikrobiom/Metabolom-Kovariation. In dieser Studie wurde der Einfluss des intestinalen Mikrobioms auf Plasmametabolite untersucht. Die Daten zeigten, dass mehr als 10% des Plasmametaboloms direkt vom Mikrobiom abhängig sind. Einige Beispiele für mikrobiomabhängige Verbindungen im Plasma sind Zimtsäure, konjugierte Glycinverbindungen, Hippursäure und andere Plasmametabolite. Das Darmmikrobiom beeinflusst auch direkt die Fähigkeit des Wirts, Lipide, Kohlenhydrate und Proteine zu verstoffwechseln, und kann mehrere Phase-II-Entgiftungsreaktionen durchführen. Es gibt auch Hinweise darauf, dass Darmmikroorganismen nicht-nutritive Phytochemikalien verwerten. So haben mehrere Untersuchungen gezeigt, dass die Konzentrationen von drei mikrobiomabhängigen, aus der Nahrung stammenden Metaboliten, Cholin, Trimethylamin-N-Oxid und Betain, das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Mäusen vorhersagen können.

## 5. Ernährung und andere OMICs

Viele andere Omics-Plattformen sind ebenfalls im Fokus der Nutriomics-Forschung. Es wurde gezeigt, dass epigenetische Veränderungen durch die Ernährung während der fetalen Entwicklung verursacht werden und die Prädisposition für lebensstilbedingte Krankheiten im späteren Leben beeinflussen könnten. Zum Beispiel haben Kinder von Müttern, die während der Schwangerschaft unter Über- oder Unterernährung litten, ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Fettleibigkeit, Diabetes, Bluthochdruck, Herz-Kreislauf-Erkrankungen usw. Viele Studien haben die Beteiligung von epigenetischen Modifikationen an einer solchen erworbenen Anfälligkeit bewiesen. Ein weiteres vielversprechendes Ziel von Omics-Ansätzen in der Lebensmittelwissenschaft ist mit den RNA-Transkripten verbunden, die nicht für Proteine kodieren. MicroRNA (miRNA) ist ein Subtyp dieser nicht-kodierenden RNAs. Vorläufer von miRNAs (pri-miRNA) sind lange Produkte, die gespalten werden, um reife miRNAs mit einer Länge von 22 Nukleotiden zu erhalten. Reife miRNAs regulieren die mRNA-Degradation, die mRNA-Translation und sogar die Gentranskription. Im Falle menschlicher Zellen sind etwa 1.000 miRNAs identifiziert, von denen angenommen wird, dass sie die Expression von mehr als der Hälfte der proteinkodierenden Gene regulieren. In Anbetracht der sich häufenden Daten, die die Schlüsselrolle der miRNA bei der Entstehung von Krankheiten und der Aufrechterhaltung der Gesundheit belegen, ist die Information über den Status der miRNAs zweifelsohne entscheidend für das Verständnis der Interaktion zwischen Nahrungsbestandteilen und dem Körper. Globale miRNA-

Analysen können jetzt einfach durch die Verwendung kommerzieller miRNA-Arrays durchgeführt werden.

Mit der Einführung neuer Technologien und erworbenem Wissen nimmt die Zahl der Omics-Felder und ihrer Anwendungen in verschiedenen Bereichen in der Postgenomik-Ära schnell zu. Diese aufstrebenden Bereiche - einschließlich Pharmakogenomik, Toxikogenomik, Regulomik, Spleißomik, Metagenomik und Umweltomik - bieten vielversprechende Lösungen zur Bekämpfung globaler Herausforderungen in der Biomedizin, Landwirtschaft und Umwelt.

# Verweise

Amer B, Baidoo EEK. 2021. Omics-Driven Biotechnology for Industrial Applications. Frontiers Bioeng. Biotech., 9, Art. 613307: 1-19.

Azizipour N, Avazpour R, Rosenzweig DH, Sawan M, Ajji A. 2020. Evolution of Biochip Technology: A Review from Lab-on-a-Chip to Organ-on-a-Chip. Micromachines, 11: 599.

Canzler S, · Schor J, · Busch W, et al. · 2020. Prospects and challenges of multi-omics data integration in toxicology. Archives of Toxicology, 94:371–388.

Horgan RP, Kenny LC. 2011. 'Omic' technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. The Obstetrician & Gynaecologist, 13:189–195.

Joseph P. 2017. Transcriptomics in toxicology. Food Chem Toxicol., 109(1): 650–662.

Karahalil B. 2016. Overview of Systems Biology and Omics Technologies. Curr. Med. Chem., 23, 1-10.

Karczewski KJ, Snyder MP. 2018. Integrative omics for health and disease. Nat Rev Genet., 19(5): 299–310.

Kato H, Takahashi S, Saito K. 2011. Omics and Integrated Omics for the Promotion of Food and Nutrition Science. J. Trad. Complement. Medicine, 1 (1): 25-30.

Kim DH, Kim YS, Son NI, Kang CK, Kim AR. 2017. Recent omics technologies and their emerging applications for personalized medicine. IET Syst. Biol.,11 (3): 87-98.

Kodzius R, Gojobori T. 2016. Single-cell technologies in environmental omics. Gene 576: 701–707.

Mariman ECM. 2006. Nutrigenomics and nutrigenetics: the 'omics' revolution in nutritional science. Biotechnol Appl Biochem., 44(3):119-28.

Mousumi D, Prasad GBKS, Bisen PS. 2010. Omics technology. In: Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities, Dordrech Heidelberg London, Springer, pp 11-31.

Ryan EP, Heuberger AL, Broeckling CD, Borresen EC, Tillotson C, Prenni JE. 2013. Advances in Nutritional Metabolomics. Current Metabolomics, 1: 109-120.

Sauer UG, Deferme L, Gribaldo L, et al. 2017. The challenge of the application of 'omics technologies in chemicals risk assessment: Background and outlook. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 91: S14 - S26

Simões T, Novais SC, Natal-da-Luz T, et al. 2018. An integrative omics approach to unravel toxicity mechanisms of environmental chemicals: effects of a formulated herbicide. Scientific Reports 8:11376

Titz B, Elamin A, Martin F, et al. 2014. Proteomics for systems toxicology. Computational and Structural Biotechnology Journal, 11: 73–90.

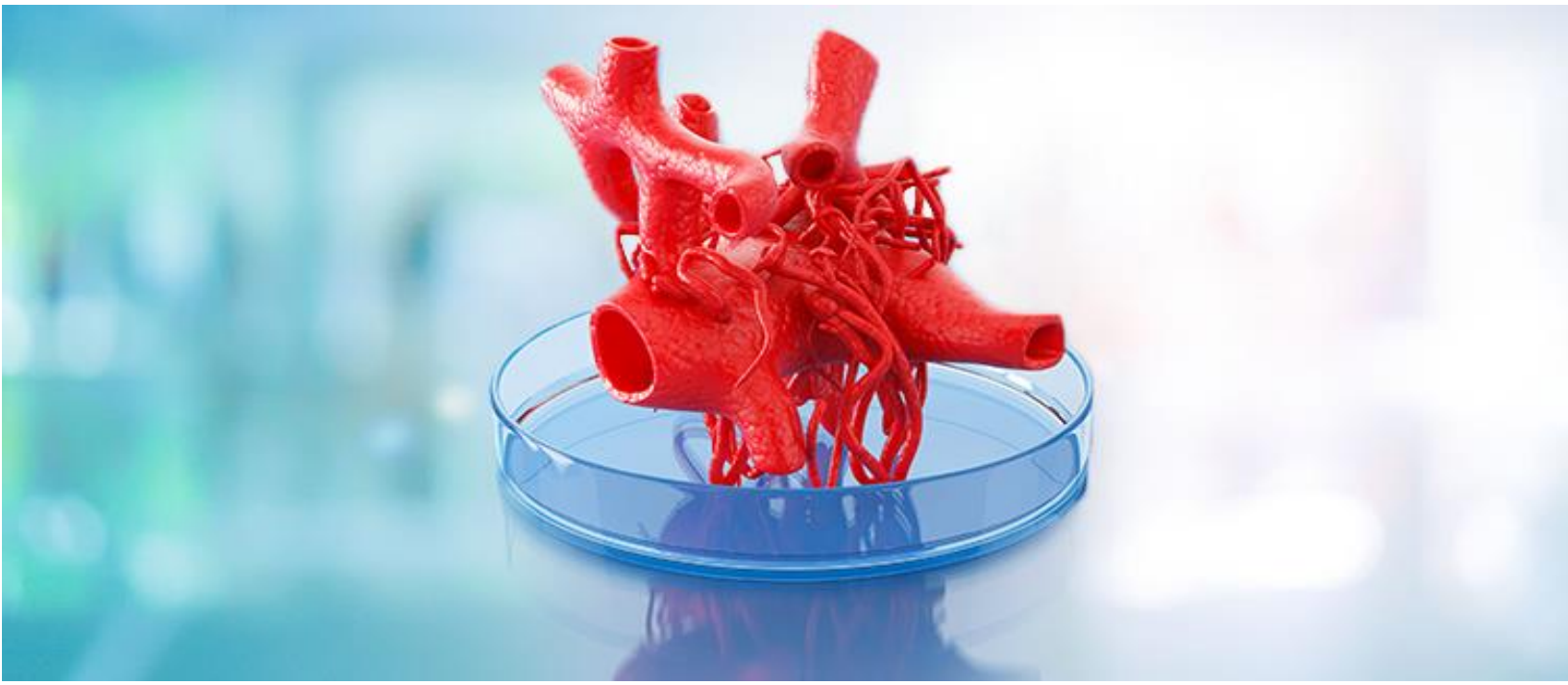
Vlaanderen J, Moore LE, Smith MT, et al. 2010. Application of Omics Technologies in Occupational and Environmental Health Research; Current Status and Projections. Occup Environ Med., 67(2): 136–143.

Yılmaz B, Yılmaz F. 2018. Lab-on-a-Chip Technology and Its Applications. In: Omics Technologies and Bio-engineering: Towards Improving Quality of Life, pp. 145, Elsevier Inc.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***

DIGIT~Bio~TECH



# LO2 DIE ANWENDUNG VON 3D-DRUCK UND IKT FÜR GRÜNE PRODUKTE UND PROZESSE

***Basisniveau***

AUTOR:

**TRAYANA NEDEVA**

# Inhalt

Funktionsprinzipien des 3D-Drucks ... 3
Definitionen ... 3
Kurze Geschichte des Feldes ... 5
Vor- und Nachteile des 3D-Drucks als Fertigungsverfahren ... 6
Grundlagen der 3D-Druckverfahren und Materialien ... 8
Arten von 3D-Druckverfahren ... 8
Nachbearbeitungsanforderungen für verschiedene 3D-Drucktechnologien ... 17
Welches Verfahren für was? Grundlegende Überlegungen bei der Auswahl der für eine bestimmte Anwendung geeigneten 3D-Drucktechnologie ... 18
Häufig verwendete Software für den 3D-Druck ... 20
Gestaltungsrichtlinien für den 3D-Druck ... 21
Verweise ... 24

# Funktionsprinzipien des 3D-Drucks

## DEFINITIONEN

Der 3D-Druck erzeugt ein greifbares Objekt, indem aufeinanderfolgende Schichten hinzugefügt werden, die Querschnitte des Objekts darstellen. Die einfachste Anspielung darauf ist die Herstellung eines Schichtkuchens (Abb. 1), nur dass die Schichten zahlreich und typischerweise sehr dünn sind, nur etwa 1/5 des Millimeters.



A. B.

**Abbildung 1. Schichten und Schichtung im 3D-Druck.**
**A - Geschichteter Kuchen, der das Grundprinzip des 3D-Drucks darstellt. Quelle: Caroline's Cakes - Eigenes Werk, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=12799030**
**B - 3D-gedrucktes Schokoladenschloss. Quelle: FM1418, CC BY-SA 4.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>, via Wikimedia Commons**

Der 3D-Druck ist sowohl vom Verfahren als auch vom Material her dem routinemäßigen 2D-Druck mit Tinte und Papier sehr ähnlich.

Dennoch wird beim typischen 2D-Druck nur eine Illusion von Tiefe durch Perspektive und Farbe oder Graustufen erzeugt, während beim 3D-Druck greifbare 3D-Objekte entstehen. Diese können eine Vielzahl von Zwecken haben, von der schnellen Erstellung von Prototypen für Forschung und Industrie bis hin zu gedruckten Objekten für den alltäglichen oder speziellen Gebrauch; Maschinenteile; maßgeschneiderte kulinarische Artikel wie das in Abb. 1B dargestellte Schokoladenschloss; gedruckte

implantierbare Materialien für die regenerative Medizin und möglicherweise "Ersatzteile" für den menschlichen Körper; und neuartige Formen der Kunst.

Ein einfacher Desktop-3D-Drucker mit PC ist in Abb. 2 dargestellt.

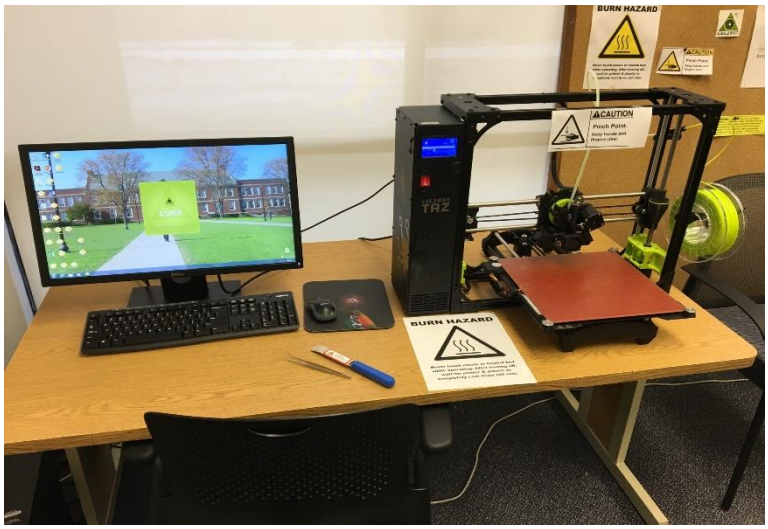



**Abbildung 2. LulzBot TAZ (FAME 3D, Fargo, ND, USA), eine Open-Source-3D-Druckmaschine auf Basis der FDM-Technologie. Quelle: Ochs, J. - Hochschule, CC BY 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=59898086**

Normalerweise ist der Prozess des 3D-Drucks eines Objekts additiv (daher wird der 3D-Druck auch als "additive Fertigung" bezeichnet). Dabei werden Schichten über Schichten eines druckbaren Materials (allgemein als "3D-Tinte" bezeichnet) aufgetragen, bis das Objekt vollständig ist.

3D-gedruckte Objekte müssen nicht in sich massiv sein (obwohl sie es sein könnten). Sie können jede Art von Hohlräumen enthalten, die in der für den Druck verwendeten Datendatei eingerichtet wurde, da jede Schicht einen Querschnitt auf einer bestimmten Ebene im hergestellten Objekt darstellt.

Ein kurzes Zeitraffer-Gif, das den grundlegenden Prozess des 3D-Drucks veranschaulicht, kann hier angesehen werden:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ed/Robot_3D_print_timelapse_on_RepRap Pro_Fisher.gif

Der heutzutage am häufigsten verwendete 3D-Druck ist das Fused Deposition Modeling (FDM), obwohl andere Arten schnell an Popularität gewinnen.

# KURZE GESCHICHTE DES FELDES

Es wird allgemein angenommen (und zitiert), dass die Idee des 3D-Drucks erst in den 1950er Jahren entstand, als der Science-Fiction-Autor Raymond F. Jones eine Kurzgeschichte veröffentlichte, in der er den Einsatz von "molekularem Spray" beschrieb, das durch Informationen von einem zuvor aufgezeichneten Datenband gesteuert wurde. Nichtsdestotrotz wurde die Möglichkeit der kontrollierten, freihändigen Herstellung eines komplexen, greifbaren Objekts, das virtuellen Anweisungen folgt, etwa 50 Jahre zuvor von dem großen Visionär Joseph Rudyard Kipling in seiner Kindergeschichte "Wie das Kamel seinen Humph bekam" vorhergesehen. Der erste Versuch des 3D-Drucks kam jedoch erst in den 1970er Jahren, und er beinhaltete sowohl die Erstellung als auch die Entfernung von Objekten. Konkret handelte es sich dabei um den patentierten 'Liquid metal recorder' von Johannes F. Gottwald (US3596285A), der elektrisch leitende metallische Tinte verwendete, die unter Druck gegen eine Oberfläche getrieben wurde. Die geschmolzene Tinte würde bei Drucktemperatur fließen, sich aber verfestigen, wenn sie mit der Oberfläche in Berührung kommt. Dann könnte sie durch Erhöhen der Temperatur über den Schmelzpunkt entfernt werden, was die Wiederverwendung der Tinte und der Oberfläche zur weiteren Verwendung ermöglicht.

Wie bei den meisten neuartigen Konzepten hatte auch die Idee des 3D-Drucks keinen frühen Erfolg. In den frühen 1980er Jahren wurde von Hideo Kodama in Japan ein Patent für die additive Herstellung eines "stereoskopischen Figurenzeichners" unter Verwendung von UV-härtendem Polymer angemeldet, bei dem die Bereiche der UV-Bestrahlung durch ein vorgegebenes Maskierungsmuster gesteuert wurden (JP S56144478 A). Trotz der zeitnahen Veröffentlichung seiner Ergebnisse konnte Kodama kein großes Interesse an seinem Projekt wecken und es wurde daraufhin eingestellt.

Vier Jahre später ereilte in Frankreich das gleiche Schicksal das von Le Méhauté, de Witte und André vorgestellte Konzept für die Stereolithographie und das anschließende Patent für das Verfahren, angeblich "mangels wirtschaftlicher Perspektive" [http://www.primante3d.com/inventeur/].

Etwa zu dieser Zeit meldete der Amerikaner William E. Masters das erste einer Reihe von Patenten an (nämlich das Patent für "Computer Automated Manufacturing Process and System" (US 4665492), das schließlich den Grundstein für den 3D-Druck, wie wir ihn kennen, legte.

Nur zwei Jahre später erhielt der Amerikaner Charles Hull ein Patent für einen eigenen "Apparat zur Herstellung von Stereolithographen" (US4575330A), gründete seine eigene Firma und brachte schließlich 1987 den ersten kommerziellen 3D-Drucker, den SLA-1, auf den Markt. Das Patent für die heute am häufigsten verwendete Art des 3D-Drucks - den FDM - wurde 1989 in den USA von S. Scott Crump angemeldet (US5340433A) und das erste FDM-Gerät kam 1992 auf den Markt. Hull gab auch die bis heute wohl einfachste und dennoch vollständige Definition des 3D-Drucks, nämlich: "*A system for generating three-dimensional objects by creating a cross-sectional pattern of the object to be formed...*", in der Beschreibung seines Patents für "Method for production of three-dimensional objects by stereolithography" (US5174943A).

# VOR- UND NACHTEILE DES 3D-DRUCKS ALS FERTIGUNGSVERFAHREN

Die Verwendung des 3D-Drucks bietet zahlreiche Vorteile gegenüber herkömmlichen Fertigungsmethoden. Einige davon sind im Folgenden aufgeführt:

1. Komplexe Konstruktion

Da das Objekt nicht aus einem Block ausgeschnitten wird, kann der 3D-Druck verschiedene Designs mit sehr komplexer Struktur verarbeiten.

2. Möglichkeiten für Änderungen in letzter Minute.

Das Design ist leicht modifizierbar und eine Vielzahl von verschiedenen Prototypen eines Objekts kann schnell hergestellt und getestet werden.

3. Einfache und schnelle Anpassung des Designs an die individuellen Bedürfnisse

Im Gegensatz zu herkömmlichen Fertigungsmethoden betrifft die Einführung notwendiger Änderungen eher die Dateien als die Maschine selbst und kann mit sehr geringer Vorankündigung durchgeführt werden.

4. Ergibt leichte und langlebige Objekte

Das hängt vom verwendeten Material ab, aber die meisten kommerziellen 3D-Drucker verwenden Kunststoff, obwohl auch die Verwendung anderer Materialien wie Gips, Metall, Metalllegierungen usw. möglich ist.

5. Relativ schnelle Produktion in kleineren Maßstäben

Je nach Größe und Komplexität des Entwurfs können die meisten Objekte innerhalb von Stunden hergestellt werden, obwohl größere Objekte mehr Zeit in Anspruch nehmen können.

6. Geringer (im Vergleich zu traditionellen Herstellungsverfahren) Materialabfall

Auch hier ist der Materialverlust vernachlässigbar gering, da kein Schneiden, Bohren oder Ausbohren stattfindet. Eine Ausnahme bildet der pulverbasierte 3D-Druck, bei dem überschüssiges Pulver in der Regel verloren geht.

7. Kann kostengünstiger sein als traditionelle Herstellungsmethoden

Das hängt im Wesentlichen vom Material und dem zur Herstellung verwendeten Verfahren ab.

8. Der Zugang von Forschern, der Industrie und der Öffentlichkeit zu 3D-Druckern wird immer einfacher

Derzeit ist es relativ einfach, Zugang zu einem 3D-Drucker zu erhalten, obwohl es normalerweise eine Warteschlange von Kunden gibt, die auf die Nutzung der Geräte warten. Die Wartezeit hängt von der Marke und dem Modell des Druckers, der Institution, bei der er untergebracht ist, und der Art der Nutzung des 3D-Druckers ab.

9. Kann umweltfreundlicher sein als herkömmliche Herstellungsmethoden

Auch dies hängt von der Art des verwendeten Materials, der Intensität der Nutzung und der Wartung der Geräte ab. Weggeworfene Gegenstände, Abwasser und die Emission kleiner Partikel können jedoch ein Problem darstellen (siehe unten).

10. Spezielle Anwendungen des 3D-Drucks in der reparativen und regenerativen Medizin (3D-Bioprinting)

Erhebliche Forschungs- und Entwicklungsanstrengungen werden derzeit in die Entwicklung einer neuen Generation von implantierbaren Materialien investiert. Anstatt einfach nur inerte Unterstützung, reibungsfreundliche Oberflächen und Überbrückung zwischen intakten Teilen des beschädigten Gewebes zu bieten (was die Hauptfunktionen der meisten implantierbaren Materialien von heute sind), können die neuen Materialien vermutlich auch ein Teil des natürlichen Lebensraums der Zellen des beschädigten Gewebes werden. Solche Materialien können rein künstlichen Ursprungs sein, aber biologischem Gewebe ähneln (biomimicking materials). Eine mögliche Anwendung des 3D-Bioprinting ist die Bereitstellung einer optimalen 3D-Umgebung der implantierbaren Materialien für die Besiedlung mit lebenden Zellen aus dem umgebenden Gewebe. Eine weitere vielversprechende Anwendung des 3D-Bioprinting ist das Potenzial zur Schaffung von lebendem Gewebe (und möglicherweise funktionierenden Ersatzorganen und verschiedenen "Ersatzteilen" für lebende Körper) unter Verwendung von auf lebenden Zellen basierenden Materialien als druckbare "Biotinte" (siehe unten).

Mögliche Einschränkungen des 3D-Drucks im Vergleich zu traditionellen Fertigungsmethoden können sein:

1. Einschränkungen durch Fehler in der Konstruktion

Während es praktisch keine Grenzen für mögliche Designtypen gibt, kann ein einziger Fehler im Design zur Herstellung unbrauchbarer Objekte führen. Während einige Fehler im Design durch Nachbearbeitung minimiert werden können, kann dies die Zeit zur Bearbeitung eines Auftrags erhöhen und die Haltbarkeit des Objekts verringern.

2. Begrenzung durch das Material

Die meisten 3D-Drucker verwenden als Tinte eine Art Kunststoffpolymer, obwohl einige auch mit Metall und Metalllegierungen drucken können. Objekte, die produziert und dann weggeworfen werden, können ein Problem darstellen, wenn das Material nicht biologisch abbaubar und/oder recycelbar ist. Der Druck und die Nachbearbeitung können zur Emission von Partikeln führen, die zur Umweltverschmutzung beitragen und beim Einatmen und Verschlucken ein krebserregendes Potenzial haben können.

Die Probleme mit dem Material für das Bioprinting können sich beim 3D-Bioprinting noch verschärfen, da die Lebensfähigkeit der lebenden Zellen und die Biokompatibilität von größter Bedeutung sind.

3. Begrenzungen durch die Größe des Objekts

Sehr große Objekte lassen sich möglicherweise nur schwer in einem Stück herstellen. Verschiedene Teile des Objekts müssen möglicherweise separat gedruckt und dann zusammengesetzt werden. Dies kann die Zeit und die Kosten für die Herstellung erhöhen und die Haltbarkeit des Objekts verringern (siehe unten).

4. Die Integrität der produzierten Objekte kann beeinträchtigt werden

Dies kann vor allem dann ein Problem sein, wenn Teile separat hergestellt und dann zusammengefügt werden. Unter physischer Belastung können sich die Schichten lösen (insbesondere bei FDM-produzierten Objekten) und komplexe Objekte können spröde und empfindlich in der Handhabung sein.

5. 3D-gedruckte Objekte müssen möglicherweise nachbearbeitet werden

Im Wesentlichen macht dies keinen Unterschied zur traditionellen Fertigung. Auch hier kann dies die Zeit und die Kosten für die Fertigung erhöhen.

6. Kosten werden bei größeren Chargen im Allgemeinen nicht reduziert

In der traditionellen Fertigung sind die Herstellungskosten pro Objekt oder pro Charge in der Regel geringer, wenn die Anlagen voll ausgelastet sind. Dies ist beim 3D-Druck nicht der Fall, und die Herstellung großer Mengen kann kostspielig sein.

7. Copyright-Fragen

Das ist selbsterklärend. Es geht nicht nur um die gefertigten Objekte, sondern auch um die Software, die Hardware und die Prozesse, die zu deren Herstellung verwendet werden.

8. Ethische Fragen, die hauptsächlich das 3D-Bioprinting von lebendem Gewebe betreffen
9. Kann indirekt zum Abbau von Arbeitsplätzen im traditionellen Fertigungssektor führen

# Grundlagen der 3D-Druckverfahren und Materialien

## ARTEN VON 3D-DRUCKVERFAHREN

Derzeit gibt es viele Arten von 3D-Drucktechnologien. Allen gemeinsam ist, dass greifbare Objekte durch Ablagerung aufeinanderfolgender Schichten erzeugt werden, anstatt das Objekt aus einem massiven Block auszuschneiden und/oder zu bohren, zu fräsen oder zu bohren. Jede aufeinanderfolgende Schicht stellt einen Querschnitt des zu konstruierenden Objekts dar. Der Prozess wird von einem Computer gesteuert, der mit entsprechender Software für die Erstellung von Konstruktionsdateien, die Dateibearbeitung und den Druck von Objekten ausgestattet ist (siehe weiter unten für Details).

Einige der gängigsten Technologien für den 3D-Druck werden im Folgenden kurz vorgestellt. Diese Liste ist keineswegs exklusiv.

- Flüssige oder halbfeste tintenbasierte Technologien: SLA, FDM, EXT, PolyJet

Alle drei basieren auf der Abscheidung von Schichten flüssiger (mehr oder weniger zähflüssiger) Tinte, die dann durch Wärme oder gerichteten Lichtstrahl (emittiert von einer UV-Lampe oder einem Laser) miteinander verschmolzen werden. Die Tinte kann aus einer Düse extrudiert oder, wenn sie von höherer Konsistenz ist, von einer Spule zugeführt werden.

- Stereolithographie (SLA)

Der stereolithografische 3D-Druck ist vielleicht die am leichtesten verständliche aller 3D-Drucktechnologien, wahrscheinlich weil die Photopolymerisation in der modernen Zahnmedizin häufig verwendet wird. Grundsätzlich handelt es sich bei der Stereolithografie um die Lichthärtung von lichtempfindlichem Material, das schichtweise auf eine bewegliche Plattform extrudiert wird. Die Wellenlänge der Lichtquelle liegt meist im UV-Bereich, es können aber auch andere Wellenlängen verwendet werden. SLA-Materialien polymerisieren über freie radikalische Polymerisation.

Bei der Herstellung des Objekts müssen möglicherweise verschiedene Teile des Objekts gestützt werden, um ein Zusammenfallen der gesamten Struktur zu vermeiden. Aufeinanderfolgende Schichten werden durch Kreuzpolymerisation der gerade polymerisierten Schicht mit der neu aufgebrachten Schicht, bei der die Polymerisation noch nicht abgeschlossen ist, aneinander haftend gemacht. Da die Polymerisation einige Zeit in Anspruch nehmen kann, braucht das gedruckte Objekt in der Regel einige Zeit, um auszuhärten, dann werden Stützen entfernt (falls nach dem Auftragen der letzten Schicht noch welche übrig sind), dann kann eine abschließende Nachbearbeitung erfolgen.

Ein SLA-gedrucktes 3D-Modell ist in Abb. 3 dargestellt.



**Abbildung 3. Stereolithographie des knöchernen Labyrinths des Innenohrs beim Menschen. Quelle: Didier Descouens, CC BY-SA 4.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>, via Wikimedia Commons**

Die beim SLA-basierten Druck verwendete Tinte ist in der Regel flüssig in ihrer unpolymerisierten Form. Sie ist meist auf Epoxid- oder Acrylbasis, obwohl auch Tinten auf Basis von Trimethylencarbonat, Polycaprolacton und Polylactid verwendet werden können. Die Verwendung solcher Materialien führt zu gedruckten Objekten mit erheblicher Steifigkeit, die jedoch recht zerbrechlich sind. Daher eignet sich SLA sehr gut für Rapid Prototyping und Forschungszwecke (z. B. Tissue Engineering Scaffolds), aber nicht für Objekte, die dauerhaft sein müssen. SLA hat eine recht hohe Auflösung (die minimale Schichtdicke beträgt 50 μm) und ist daher sehr zuverlässig, wenn feine Details von entscheidender Bedeutung sind.

Mit SLA erstellte Objekte können lichtempfindlich sein und dazu neigen, sich mit der Zeit aufzulösen, insbesondere wenn sie in hellen Umgebungen aufbewahrt werden.

Beim SLA-Druck werden nur selten Lösungsmittel verwendet, daher ist das Risiko des Austretens von Dämpfen in die Atmosphäre gering. Aufgrund der Zerbrechlichkeit von SLA-gedruckten Objekten können weggeworfene Objekte dennoch eine Gefahr für die Umwelt darstellen. Die Verwendung von UV erfordert besondere Vorsichtsmaßnahmen, um eine versehentliche Exposition von Oberflächen, Objekten und Bedienern gegenüber dem aushärtenden Strahl zu vermeiden. Einige der für die Stereolithografie verwendeten Tinten können ein erhebliches neurotoxisches und karzinogenes Potenzial aufweisen. Auch die UV-vermittelte Bildung von Ozon muss möglicherweise berücksichtigt werden.

- Fused Deposition Modeling (FDM), auch bekannt als Fused Filament Fabrication (FFF)

Zurzeit ist dies die am häufigsten verwendete Technologie für den 3D-Druck. Die FDM-Technologie basiert auf der Extrusion eines Filaments aus thermoplastischer Tinte, das von einer Spule durch eine bewegliche, beheizte Druckerdüse geführt wird. Die Tinte in der Düse wird knapp über ihren Schmelzpunkt erhitzt und in halbfester Form extrudiert, die sich fast sofort verfestigt, nachdem eine Schicht aufgetragen wurde. Das Objekt wird auf einer beweglichen Plattform aufgebaut, die sich allmählich absenkt, während die Struktur wächst (Abb. 4).

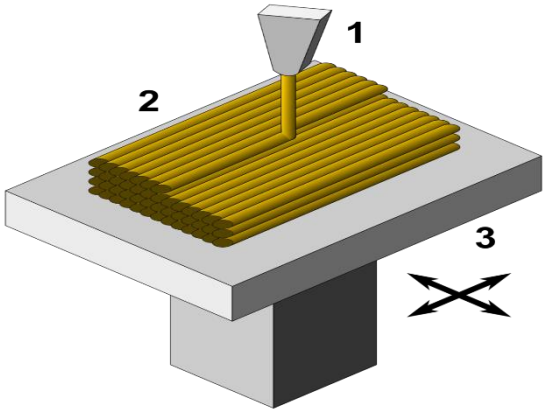



**Abbildung 4. Funktionsprinzip von FDM-Druckern. Quelle: Von Gringer - Eigenes Werk, CC0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=73614647.**

Die minimale Schichtdicke für FDM beträgt 100 µm. Die am häufigsten verwendeten Tintenmaterialien für FDM sind Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS), Polylactid (PLA) und Polyethylenterephthalatglykol (PETG). Andere, wie Polyphenylether (PPE), Polyurethan (PU), Polyethylenterephthalatglykol (PETG), Polyphenylsulfon (PPSP), Polycarbonat (PC), Polyetherimid (PEI), Polyetherketon (PEEK), Polyamid (PA, allgemein bekannt als Nylon) sind ebenfalls im Einsatz. Polyvinylalkohol (PVA) kann ebenfalls verwendet werden, aber da es hydrophil ist, wird PVA am

häufigsten zur Herstellung von leicht entfernbaren Trägern für eine Struktur verwendet, die mit einer anderen Art von thermoplastischer Tinte gedruckt wurde.

Die beheizbare Tinte für FDM kann auch in Form von Stäbchen oder Granulat vorliegen. Eine Variante des FDM verwendet die Kaltextrusion von unbeheizter Tinte, die üblicherweise als Slurry oder Paste geliefert wird.

Ein FDM-Drucker mit einer Spule Filament ist in Abb. 5 dargestellt.



**Abbildung 5. PRUSA i3 MK2 FDM-Drucker (Prusa Research, Prag, Tschechische Republik) mit Spule und einem fertigen Objekt. Bildquelle: Wikimedia Commons, http://reprap.org/wiki/File:Prusai3-MK2.jpg.**

Da FDM relativ kostengünstig ist, ist es besonders bei Bastlern und Desktop-Modellbauern beliebt. Darüber hinaus wird FDM häufig für das Rapid Prototyping im Maschinenbau, bei der Herstellung von Hochleistungsteilen und -maschinen, im Bildungswesen und in der Kunst eingesetzt.

Die mit FDM hergestellten Objekte sind deutlich haltbarer als die mit SLA hergestellten und mit sehr guter Qualität der Detailwiedergabe. FDM-Tinten unterschiedlicher Qualität ergeben Objekte mit unterschiedlichen Eigenschaften in Bezug auf Haltbarkeit, Steifigkeit und Flexibilität (siehe unten).

Die Nachteile des 3D-Drucks mit FDM beziehen sich hauptsächlich auf potenzielle Umweltgefahren (Verwendung von Lösungsmitteln, Emission kleiner Partikel bei der Nachbearbeitung und die Tatsache, dass die weggeworfenen Objekte recht langlebig sind).

- Semi-solid Extrusion (EXT) 3D-Druck

EXT 3D-Druck ist eine weitere Technologie, die auf Extrusion basiert. Die Tinte ist in der Regel ein Polymer-Lösungsmittel-Gemisch mit der Konsistenz einer Paste. EXT-Materialien sind nicht thermoplastisch und ermöglichen den Druck bei niedrigen Temperaturen. Auch hier wird das Objekt auf einer beweglichen Plattform aufgebaut.

EXT wird häufig in der Forschung (z. B. Gewebegerüste) und für pharmazeutische Zwecke (gezielte und/oder zeitgesteuerte Abgabe von Medikamenten) verwendet. Die biologische Sicherheit wird durch die Verwendung von Tinten auf Basis von Polyvinylpirrolidon, Polyethylenglykol, Methycelullose, Hydroxypropylmethylcellulose, Polycaprolacton und anderen Materialien gewährleistet. EXT ist einer der potentiellen Ansätze, um lebendes Gewebe aus einem Hydrogel zu pressen, das lebende Zellen enthält. Auch die Extrusion mit zähflüssiger Lebensmittelpaste (Zuckerguss, Schokolade, Gelee usw.) ist eine bevorzugte Methode für den 3D-Druck in der Lebensmittelindustrie (Abb. 6).



**Abbildung 6. Extrusionsdruck für die Lebensmittelindustrie. Quelle: Grup de recerca de la Universitat de Columbia - https://www.creativemachineslab.com/digital-food.html, CC BY-SA 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=84202502**

Da das Material für den EXT-3D-Druck weder lichtempfindlich noch thermoplastisch ist, verfestigen sich die Schichten normalerweise nicht sofort. Daher kann ein neu gedrucktes 3D-Objekt nach der Fertigstellung Zeit benötigen, um sich zu verfestigen und/oder zu trocknen, während das/die Lösungsmittel verdampfen. Außerdem kann es zu Verwerfungen, Schrumpfung und Verformung neigen. Die minimale Schichtdicke für EXT beträgt 800 µm. Diese geringe Auflösung ist den Semi-Solid-Extrusionstechniken inhärent.

- PolyJet

PolyJet ist eine weitere flüssigkeitsbasierte 3D-Drucktechnologie. Wie SLA basiert sie auf der schichtweisen UV-Härtung eines lichtempfindlichen Polymers. Die Tinte wird jedoch in Tröpfchen aus dem Druckkopf freigesetzt, die sich auf einer Bauplattform ansammeln, wie von einer bestimmten Software gesteuert. Die PolyJet-Technologie ermöglicht das Mischen von Tinten, was zu einer größeren Vielfalt an Eigenschaften der hergestellten Objekte führt.

PolyJet-Tinten umfassen eine große Vielfalt an Materialien. Zu den häufig verwendeten gehören ABS (verschiedene Modifikationen), die verwandte Verbindung Acryl-Styrol-Acrylnitril (ASA, hitzebeständiger und UV-beständiger als ABS), Polycarbonat und Polyetherketon-Keton (PEKK). Verschiedene lichtempfindliche Materialien, die in anderen flüssigkeitsbasierten 3D-Drucktechnologien verwendet werden, können auch in Polyjet eingesetzt werden. Es gibt auch die speziell entwickelte Serie der Vero PolyjetTM-Tinten, die von einem der Marktführer für 3D-Drucker und Materialien, Stratasys, patentiert wurde. Prominente Vertreter der biokompatiblen PolyJet-Materialien sind MED610 und MED620, ein Harz auf Methacrylatbasis, das in der Medizin und Zahnmedizin für Rapid Prototyping eingesetzt wird.

Vorteile der Verwendung von PolyJet sind die relativ hohe Auflösung (die minimale Schichtdicke beträgt 160 µm, was die Erstellung von stabilen Strukturen mit komplexer Geometrie und exquisiten Details ermöglicht) und die große Vielfalt an Eigenschaften (Festigkeit, Flexibilität, Farben usw.). Die Nachteile sind (neben den oben beschriebenen allgemeinen Nachteilen des 3D-Drucks) die inhärent hohe Emission kleiner Partikel, die Verwendung von UV-Licht und die Emission giftiger Dämpfe beim Aushärten von Objekten, die mit einigen Arten von Tinten (z. B. ASA) hergestellt wurden. Gedruckte Objekte müssen möglicherweise nachbearbeitet werden und können lichtempfindlich sein.

● Puderbasierter (PB) 3D-Druck

Die PB-3D-Drucktechnologie basiert auf der Abscheidung aufeinanderfolgender Schichten aus pulverförmigem Material und deren Bindung mittels einer flüssigen Binderlösung oder dem Verschmelzen mit anderen Methoden (siehe unten). Das Pulver wird in einem Pulverbett aufgetragen oder durch einen Pulverstrahl erzeugt und anschließend mit Binder besprüht oder bespritzt, mit Licht bestrahlt oder erhitzt, um die Integrität des Objekts zu erreichen.

Die minimale Schichtdicke kann beim PB-3D-Druck stark variieren und die Schichten können bei einigen Materialien bis zu 20-30 µm dünn sein. Diese sehr hohe Auflösung ermöglicht es, sehr komplexe Strukturen mit exquisiten Details zu erzeugen. Im Allgemeinen liegt die Schichtdicke jedoch bei etwa 200 µm.

Pulverförmige Materialien werden in der Regel durch kryogene Vermahlung in einer Kugelmühle bei einer Temperatur hergestellt, die unterhalb der Glasübergangstemperatur des Materials liegt. Die Zerkleinerung kann mit Niedrigtemperaturgasen (flüssiges $CO_2$ oder flüssiger Stickstoff - Trockenmahlung) oder einer Mischung aus Niedrigtemperaturgas und organischen Lösungsmitteln (Nassmahlung) erfolgen. In seiner einfachsten Form ist der PB-3D-Druck mit Materialien wie pulverisierter Stärke oder Gips, die mit Klebstoff gebunden sind, realisierbar (Abb.7). Farbstoffe und Weichmacherverbindungen können der Bindungslösung zugesetzt werden, um die gewünschten Eigenschaften zu erreichen.



**Abbildung 7. Durch pulverbasierten 3D-Druck hergestellte schnelle Prototypen. Quelle: S Zillayali, CC BY-SA 3.0 <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>, via Wikimedia Commons**

Nachteile des PB-basierten 3D-Drucks beziehen sich zum einen auf die physikalischen Eigenschaften der mit dieser Art von Technologie erstellten Objekte und zum anderen auf die Notwendigkeit der Nachbearbeitung, um eine maximale Qualität zu erreichen. Objekte, die mit PB 3D gebaut werden, sind von Natur aus sehr porös und weisen daher eine schlechte mechanische Beständigkeit auf und können zerbrechlich sein.

PB-gedruckte Objekte benötigen immer Zeit für die Verdunstung der Lösungsmittel. Eine Nachbearbeitung ist in der Regel erforderlich, um überschüssiges Pulver zu entfernen (daher wird immer eine gewisse Menge an Material verschwendet) und um die Eigenschaften der hergestellten Objekte zu verbessern (Festigkeit, Farbe, Politur usw.). Die Emission von potenziell schädlichen kleinen Partikeln ist bei allen PB-basierten Technologien für den 3D-Druck ein ernstes Problem.

PB wird in der Forschung, Zahnmedizin und Medizin erfolgreich zur Herstellung von Implantaten und zur Herstellung von Arzneimitteln mit spezifischen pharmakokinetischen Eigenschaften wie schnell zerfallende Tabletten, Arzneimittel mit verzögerter, pulsierender oder

verlängerter Freisetzung eingesetzt. Die biologische Sicherheit dieser Darreichungsformen wird durch die Verwendung von Methacrylat oder Ethylcellulose als Träger der bioaktiven Substanz gewährleistet.

- ColorJet

ColorJet ist nicht wirklich eine Technologie, sondern eine Marke für pulverbasierte 3D-Drucker und Zubehör, die in Indien hergestellt wird. Sie bietet eine der einfachsten Lösungen im PB-3D-Druck. Das verwendete Material ist meist weißes Gipspulver, obwohl auch Kunststoff verwendet werden kann (z. B. das firmeneigene, patentierte Visijet C4 Spectrum Pulver). Das Material wird auf eine bewegliche Plattform geschichtet und mit Klebstoff gebunden. Das Bindemittel kann verschiedene Farbstoffe enthalten, die dem zu bauenden Modell unterschiedliche Farben verleihen.

ColorJet wird am häufigsten für das Rapid Prototyping verwendet. Die minimale Schichtdicke beträgt etwa 100 µm, kann aber bei verschiedenen Materialien variieren.

Colorjet bietet eine preisgünstige Lösung, bei der Haltbarkeit, Sprödigkeit und Porosität nicht von großer Bedeutung sind. Daher ist es eine akzeptable Lösung für die Herstellung von Modellen für Ausbildung, Forschung und kommerzielle Zwecke (z. B. Verkaufsmodelle) und in der Kunst. Ein ähnlicher Prozess unter Verwendung von essbarem Pulver und einer Bindemittellösung wird in der Lebensmittelindustrie üblicherweise zur Herstellung von kundenspezifischen Süßigkeiten und Gerichten verwendet.

Mit ColorJet gedruckte Objekte benötigen unter Umständen eine umfangreiche Nachbearbeitung. Gipsstrukturen müssen nach ihrer Fertigstellung aushärten und die Lösungsmittel müssen verdampfen. Anschließend wird das Objekt poliert und mit einer anderen Art von Bindemittel (in der Regel Acryl) imprägniert, um maximale Festigkeit zu erreichen und die Oberflächenporosität zu verringern. Lösungsmitteldämpfe können ein Umweltproblem darstellen, ebenso wie die Emission kleiner Partikel.

- Selektives Laser-Sintern (SLS)

SLS weist die oben aufgeführten gemeinsamen Merkmale für den PB-3D-Druck auf. Beim SLS wird das pulverförmige Material geschichtet und ein gerichteter Lichtstrahl, der vom Druckkopf erzeugt wird, verflüssigt die Schichten teilweise und verschmilzt sie miteinander, während die Struktur aufgebaut wird, was allgemein als Einschnürung bezeichnet wird (Abb. 8).

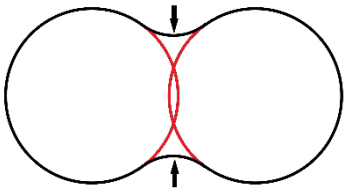


**Abbildung 8. Bildung eines "Halses" zwischen zwei verschmelzenden Schichten (Pfeile). Quelle: Mendoza.755 - Eigenes Werk, CC BY-SA 4.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=76830144**

Die minimale Schichtdicke beim SLS beträgt etwa 100 μm.

SLS funktioniert sehr gut mit Materialien mit hohem Schmelzpunkt und wird daher am häufigsten mit Tinten auf Metallbasis verwendet. Es können auch Kunststoffe (Polyamid, Polycarbonat, Polystyrol und andere), thermoplastische Harze, Glas- und Keramikpulver verwendet werden. SLS wird häufig für das Rapid Prototyping in der Forschung (insbesondere für Gewebegerüste) und in der Zahnmedizin eingesetzt. Bislang sind die Entwicklungsmöglichkeiten der SLS-basierten Technologie in der pharmazeutischen Industrie recht begrenzt, da die Strahlungsenergie und die Hitze, die bei der Schichtfusion entstehen, die Eigenschaften der bioaktiven Substanz ernsthaft beeinträchtigen können.

In der Lebensmittelindustrie können pulverförmige Lebensmittel (Kakao, Zucker, etc.) für den 3D-Druck verwendet werden.

- Selektives Laserschmelzen (SLM)

SLM wird oft als eine Ableitung von SLS angesehen, da es hauptsächlich zum Drucken mit Metall- und Metalllegierungspulvern verwendet wird. Doch während der SLS-Druckkopf-Laser gerade genug Energie erzeugt, um die Schichten miteinander zu verschmelzen, verwendet SLM einen Hochleistungslaser, der einen Metallblock komplett schmelzen kann und dann ähnlich wie beim Gießen in die gewünschte Form bringen lässt. SLM erzeugt Objekte, die deutlich weniger porös sind als SLS und aufgrund der homogenen inneren Struktur eine bessere mechanische Belastbarkeit aufweisen. Ein Nachteil von SLM ist, dass die Objekte nach ihrer Fertigstellung poliert werden müssen, da es Strukturen mit erhöhter Oberflächenkörnung erzeugt.

Das Elektronenstrahlschmelzen (EBM) ist eine Unterart des SLM, bei der in ähnlicher Weise ein elektronischer Strahl zum Schmelzen von Metallpulvern verwendet wird.

- Selektives Wärmesintern (SHS)

SHS basiert im Wesentlichen auf dem gleichen Prinzip wie SLS, aber die Tinte ist thermoplastisch bzw. die schichtweise Verschmelzung wird durch die von einem Thermodruckkopf erzeugte Wärme erreicht. Das am häufigsten verwendete Material bei SHS ist Kunststoff (speziell Polyamid, aber auch andere Polymere können verwendet werden).

Alle mit SLS oder SHS hergestellten Objekte sind anfällig für Verzug und Schrumpfung. Die mechanischen Eigenschaften der gedruckten Objekte können sowohl von Objekt zu Objekt als auch von Charge zu Charge inkonsistent sein. SLS- und SHS-gefertigte Objekte erfordern häufig eine Nachbearbeitung, wie z. B. das Entfernen von Trägern und die Beschichtung mit Versiegelungsmitteln, um die Oberflächenporosität zu verringern.

- Mehrstrahlfusion (MJF)

Der MJF-3D-Druck ist eine Mischform aus dem ColorJet-Verfahren (Verwendung von chemischen Bindemitteln) und dem SHS-Verfahren (Verwendung von Wärme), die hauptsächlich mit Polyamid (Nylon) arbeitet. Grundsätzlich wird feinkörniges Polyamid-Pulver auf ein Pulverbett geschichtet, mit Bindemittel besprüht oder gespritzt und dann selektiv nach Anweisung einer vorprogrammierten Software erhitzt. Die minimale Schichtdicke beträgt etwa 80 µm. Nach Fertigstellung des Objekts erfolgt die Nachbearbeitung (Entfernen von überschüssigem Pulver, Polieren, etc.). MJF produziert Objekte, die weniger porös und daher gleichmäßiger in ihren mechanischen Eigenschaften sind als SLS oder SHS und hat eine bessere Kapazität für die Reproduktion von feinen Details. Auch die Oberflächengüte ist mit MJF besser. Chemische Dämpfe und die Erzeugung kleiner Partikel sind ein Problem, wie bei allen PB-3D-Technologien.

## NACHBEARBEITUNGSANFORDERUNGEN FÜR VERSCHIEDENE 3D-DRUCKTECHNOLOGIEN

Nicht alle durch 3D-Druck hergestellten Objekte müssen nachbearbeitet werden. Dennoch müssen viele nach Fertigstellung der Struktur nachbearbeitet werden. Ob ein Objekt nachbearbeitet werden muss, hängt vom Material, der Technologie, den gewünschten ästhetischen oder mechanischen Eigenschaften und anderen Faktoren ab.

Generell gibt es mehrere Arten der Nachbearbeitung von 3D-gedruckten Objekten:

- Abbinden und/oder Aushärten

Fast alle 3D-gedruckten Strukturen benötigen nach ihrer Fertigstellung eine gewisse Zeit, um zu reifen und optimale mechanische Eigenschaften zu erreichen. Objekte, die durch extrusionsbasierte Verfahren (insbesondere solche, die halbfeste Mischungen aus Polymer und Lösungsmittel verwenden) und pulverbasierte Verfahren mit Materialien, die mit Binderlösungen imprägniert wurden, hergestellt wurden, sind unmittelbar nach der Fertigstellung besonders empfindlich gegenüber mechanischer Belastung. In diesem Fall umfasst die Nachbearbeitung die Zeit für die Verdunstung des Lösungsmittels und die Aushärtung. In einigen Fällen (aber nicht immer) kann dies durch eine Erhöhung der Belüftung in den Räumen, in denen die fertigen Objekte aufbewahrt werden, erleichtert werden.

- Abstützung von unfertigen Strukturen

Komplexe Strukturen, die Überhänge enthalten, sind während der Herstellung möglicherweise ohne Stützen, wenn auch nur vorübergehend, nicht stabil. Diese Stützen müssen nach Fertigstellung der Struktur entfernt werden, was die Zeit bis zur Fertigstellung und die Produktionskosten erhöht

(insbesondere, wenn dies mit manueller Arbeit verbunden ist). Beim SLA-basierten 3D-Druck werden Stützen für eine mit thermoplastischer Tinte gedruckte Struktur meist aus Polyvinylalkohol hergestellt. Da er löslich ist, können solche Stützen bei der Nachbearbeitung mit einem Wasserstrahl leicht entfernt werden. Letzteres erfordert jedoch Rohrleitungen, einen Zugang zu Wasser und ein Dekontaminationssystem für das Abwasser (was die Kosten ebenfalls erhöhen kann). Temporäre Stützstrukturen in SLS und SHS bestehen in der Regel aus ungesintertem Material, das abgesaugt oder weggeblasen werden kann.

- Entfernen von überschüssigem Material

Dies ist entscheidend für Objekte, die mit den meisten pulverbasierten Methoden hergestellt werden. Überschüssiges Pulver muss mit Hilfe von Vakuum, Druckluft oder einem Wasserstrahl entfernt werden (auch hier ergeben sich Bedenken hinsichtlich der Wasserversorgung und der Dekontaminierung des Abwassers).

- Polieren

Polieren ist ein Muss für die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von mechanischen Teilen (insbesondere solchen, die Bewegung und Reibung ausgesetzt sind) und Objekten mit erhöhter Körnigkeit der Oberfläche (wie solche, die durch selektives Laserschmelzen hergestellt werden). Objekte mit ästhetischen Eigenschaften müssen möglicherweise ebenfalls poliert werden.

- Versiegelung von Oberflächenporen

Dies ist ein wichtiger Nachbearbeitungsschritt für Technologien, die Objekte mit erhöhter Porosität ergeben, wie SLS oder SHS. Oberflächenporen können mit undurchlässigen Beschichtungen wie Cyanacrylatbeschichtungen oder durch heißisostatisches Pressen versiegelt werden.

- Malen

Dies ist in der Regel nicht erforderlich, da die meisten 3D-Druckverfahren andersfarbige Materialien oder andersfarbige Bindemittel verwenden.

## WELCHES VERFAHREN FÜR WAS? GRUNDLEGENDE ÜBERLEGUNGEN BEI DER AUSWAHL DER FÜR EINE BESTIMMTE ANWENDUNG GEEIGNETEN 3D-DRUCKTECHNOLOGIE

Obwohl alle 3D-Drucktechnologien sich überschneidende Anwendungen haben können (z. B. Rapid Prototyping), gibt es Faktoren, die bei der Auswahl einer 3D-Drucktechnologie für ein bestimmtes Projekt oder eine spezifische industrielle Lösung eine Rolle spielen können. Die wichtigsten Überlegungen sind:

- Art des Materials, das zum Drucken eines Objekts verwendet werden kann. Viele der auf dem Markt befindlichen 3D-Drucker können eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien verwenden. Architektur-, Verkaufs- und Ausstellungsmodelle sowie Modelle für Ausbildungszwecke können bequem mit ColorJet-, SLA- und FDM-Technologien erstellt werden, die Gips oder verschiedene Arten von Kunststoffen verwenden. Kleine Desktop-Maschinen, die Hobbyisten und Künstlern dienen,

basieren meist auf der FDM-Technologie. SLS/SLM und SHS werden in der Regel eingesetzt, wenn die Objekte aus Metall und metallischen Legierungen hergestellt werden müssen.

- Verfügbarkeit der 3D-Druckmaschine. Normalerweise werden Bestellungen für eine bestimmte Maschine in eine Warteschlange gestellt und arbeiten nach dem Prinzip "Wer zuerst kommt, mahlt zuerst". In Regionen, in denen 3D-Drucker kaum verfügbar sind, kann dieser Faktor von größter Bedeutung sein und Vorrang vor der Art des Materials haben.
- Verfügbarkeit des Materials. Kunststoff ist vielseitig einsetzbar, verfügbar und, mit Ausnahme von Hochleistungspolymeren, relativ günstig, während Metall unter Umständen teurer ist.
- Kosten für die Produktion pro Objekt. Diese hängen mit der für die Erstellung von Objekten verwendeten Technologie, dem verwendeten Material und den Anforderungen an die Nachbearbeitung zusammen. Es wurde bereits erwähnt, dass im Gegensatz zum Gießen eine Vergrößerung beim 3D-Druck nicht immer den Stückpreis senkt. Der Preis pro Objekt beinhaltet nicht nur die Kosten für die Herstellung, sondern auch die Kosten für die Nachbearbeitung (falls diese erforderlich ist) sowie die Kosten, die durch Maßnahmen zur Verringerung der Umweltbelastung entstehen. Unter den gängigen PB-Technologien ist SHS eine budgetorientiertere Lösung als SLS, da Anschaffung und Wartung eines Thermodruckkopfes in der Regel kostengünstiger sind als die eines Laserdruckkopfes. Objekte, die mit SHS hergestellt werden, sind daher in der Regel günstiger als solche, die mit SLS hergestellt werden, und der Prozess kann für kleine Aufträge leicht verkleinert werden.
- Schnelligkeit der Herstellung, einschließlich der Nachbearbeitung und der Zeit für die Warteschlangenbildung von Aufträgen. Kleine Objekte können in wenigen Minuten bis Stunden gedruckt werden. Die Zeit für den Druck steigt mit der Größe der Objekte bis zu einem ganzen Tag und schließlich bei sehr großen Objekten bis zu mehreren Tagen, obwohl letzteres selten ist. Auch die Nachbearbeitungszeiten können ein Problem darstellen. Bei Extrusionstechnologien ist in der Regel keine Nachbearbeitung erforderlich, aber das Objekt braucht möglicherweise Zeit zum Aushärten. Mit ColorJet hergestellte Objekte benötigen Zeit zum Trocknen und Aushärten. Pulverbasierte Technologien benötigen fast ausnahmslos Zeit für die Nachbearbeitung, was sowohl die Kosten als auch die Zeit für die Herstellung erhöht,
- Eigenschaften des Endprodukts (mechanische Eigenschaften, ästhetischer Wert)

Kunststoff-3D-Druckfarbe kann es in vielen verschiedenen Varianten mit unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften geben. Je nach Verwendungszweck des Objekts werden Kunststoff (leicht und gleichzeitig haltbar, leicht einfärbbar, leicht polierbar, thermo- und fotohärtbar) oder Metall (belastbar, UV- und hitzebeständig, Einfärben und Polieren erfordern möglicherweise spezielle Geräte und Verfahren) bevorzugt.

Unter der Fülle der Kunststoffsorten stehen verschiedene Polymere mit unterschiedlicher mechanischer Belastbarkeit zur Verfügung. Generell ermöglicht der SLA-Druck fein polierte Strukturen mit exquisiten Details, die jedoch recht spröde sind. Er ist daher ungeeignet für Anwendungen, bei denen es auf Haltbarkeit ankommt. Mit FDM lassen sich deutlich haltbarere Objekte herstellen als mit SLA, wobei es je nach verwendetem Material unterschiedliche Grade der mechanischen Belastbarkeit gibt. Im Allgemeinen sind PVA, ABS und PLA "Commodity"-Farben für FDM. Diese sind relativ günstig, aber die resultierenden Objekte sind anfällig für Verformungen. Mit PLA gedruckte Objekte sind außerdem recht spröde. ABS-gedruckte Objekte sind lichtempfindlich. Die Verwendung von Polyurethan ergibt

Teile mit einem erheblichen Maß an Flexibilität. Die nächste Stufe in der FDM-Qualität sind PC, PETG und PPE. Diese Materialien werden hauptsächlich als Konstruktionswerkstoffe für die Herstellung von mechanischen Teilen und Werkzeugen verwendet. PETG ist außerdem lebensmittelecht. Hochbeständige FDM-Tinten sind PEI und PEEK, die für Teile und Geräte verwendet werden, die eine sehr hohe Beständigkeit aufweisen müssen, wie z. B. bewegliche und/oder belastete Teile und wenn die thermische Stabilität entscheidend ist. Alle 3D-gedruckten Objekte können unter Belastung zur Delamination neigen, aber PEEK-gedruckte Objekte weisen eine hervorragende Schicht-zu-Schicht-Haftung auf und sind daher sehr haltbar. Es ist jedoch recht teuer, und da der Schmelzpunkt höher ist als bei den anderen FDM-Tinten, muss der Drucker über die Möglichkeit verfügen, die Düse auf hohe Temperaturen zu erhitzen.

3D-gedruckte Arzneimitteldarreichungsformen und Gewebegerüste haben spezifische Anforderungen, die im Allgemeinen durch Extrusionsverfahren (insbesondere halbfeste Extrusion wie EXT) und einige der pulverbasierten Technologien erfüllt werden (jedoch nicht durch solche, die große Mengen an Strahlungs- oder Infrarotenergie benötigen, wie SLS und SHS). Da die minimale Schichtdicke bei EXT fast 1 mm beträgt, sind die gedruckten Strukturen gröber und weniger detailliert.

Pulverbasierte Verfahren haben ein sehr hohes Auflösungsvermögen und ermöglichen daher eine bessere Wiedergabe von feinen Details. Dies gilt vor allem für SLS (das allerdings hauptsächlich mit metallischen Pulvern arbeitet), aber auch MJF (arbeitet gut mit Kunststoff) schneidet in puncto Auflösung gut ab.

Die mit den meisten PB-Technologien hergestellten Strukturen sind auch haltbar (mit Ausnahme von ColorJet-gedruckten Gipsobjekten), aber die Porosität kann ihre mechanischen Eigenschaften beeinträchtigen. Wenn Letzteres ein ernsthaftes Problem ist, kann SLM eine Lösung sein, vorausgesetzt, es wird eine angemessene Nachbearbeitung durchgeführt.

- Umweltbelange (im Zusammenhang mit der Herstellung oder Nachbearbeitung oder der biologischen Abbaubarkeit von ausrangierten Gegenständen).

Extrusionsbasierte und einige der PB-Technologien erzeugen Lösungsmitteldämpfe. Pulverbasierte Technologien erzeugen große Mengen an kleinen Partikeln. Alle diese haben erhebliche potenzielle schädliche Auswirkungen und müssen herausgefiltert und/oder dekontaminiert werden.

## HÄUFIG VERWENDETE SOFTWARE FÜR DEN 3D-DRUCK

Der 3D-Druck nutzt zuvor gesammelte Daten, die auf einem digitalen Informationsträger gespeichert wurden. Im Verlauf des 3D-Drucks eines komplexen Objekts werden die momentanen Änderungen im Muster der Ablagerung der laufenden Schicht durch die Informationen bestimmter Querschnitte in der digitalen Datei diktiert, die darstellen, wie genau die Struktur an diesem bestimmten Punkt aussehen muss. So können Strukturen mit einfachen Mustern durch weniger Querschnitte dargestellt werden, während digitale Dateien für Strukturen mit komplizierten Mustern mehr Querschnitte enthalten sollten, die angeben, wo und wie die Struktur verändert wird. Jeder Querschnitt stellt ein geschlossenes Polygon dar und entspricht einer anderen Position entlang der z-Achse.

Querschnitte dürfen sich nicht überschneiden oder überlagern und müssen bestenfalls ohne Zwischenräume sein. Kleine Unstimmigkeiten können von der Software ohne wesentliche Form- und Strukturänderungen ausgeglichen werden.

Für den 3D-Druck werden am häufigsten CAD-Bilder (Computer-Assisted Design) verwendet. Dabei kann es sich um die konventionellen 2D-DWG-Bilder handeln, die von AutoCAD generiert werden, obwohl diese mit entsprechender Software, z. B. Sketchup Pro, in 3D konvertiert werden müssen. Das Stereolithografie-Dateiformat (Standard Tessellation Language, STL) war das erste, das speziell für die additive Fertigung bestimmt war. Es wurde in den 1980er Jahren von 3D Systems, einem von Charles Hull, dem Erfinder von SLA, gegründeten Unternehmen, entwickelt und für die Verwendung angepasst. Abgesehen von AutoCAD sind gängige CAD-Software, die Daten in das STL-Format exportieren oder konvertieren kann, Alibre, Mechanical Desktop, I-DEAS, SolidDesigner, ProE und andere. Online-Konverter sind ebenfalls leicht verfügbar, wie z. B. AnyConv (https://anyconv.com/stl-converter/).

Bilder, die mit einem 3D-Scanner oder durch Photogrammetrie eines typischen 2D-Digitalbildes (aufgenommen mit einer Digitalkamera) erzeugt wurden, können ebenfalls für die additive Fertigung ausreichen. Je nachdem, woher die Daten für das Objekt stammen, kann das Endergebnis mehr oder weniger getreu dem Ausgangsbild sein. CAD-Bilder führen in der Regel zu Objekten mit deutlich weniger Fehlern als andere Arten von digitalen Daten. Diese Fehler können später korrigiert werden. Es gibt viele verschiedene Marken von Software für die Photogrammetrie, hauptsächlich Microsoft Windows-basiert (Zephyr3D, PhotoModeler, PhotoSynth und andere), aber es gibt auch einige, die andere Betriebssysteme wie Linux und MacOS verwenden (z. B. Pix4D Mapper, Metashape, OpenDroneMap und andere). Eine detaillierte Liste häufig verwendeter Photogrammetrie-Software mit ihren grundlegenden Eigenschaften kann hier eingesehen werden:

https://en.wikipedia.org/wiki/Comparison_of_photogrammetry_software

Es gibt auch Online-Tools für die Photogrammetrie, wie z.B. das oben erwähnte AnyConv (https://anyconv.com/stl-converter/).

# Gestaltungsrichtlinien für den 3D-Druck

Um ein Objekt zu drucken, muss es, wenn keine STL-Datei vorhanden ist, von einer Software wie AutoCAD oder anderen ausgegeben werden (siehe oben). Die meiste professionelle 3D-Modellierungssoftware ist proprietär, aber es gibt auch freie Software, hauptsächlich für Ausbildungszwecke für Anfänger auf dem Gebiet und für Hobbyisten (FreeCAD, 3D Slash, TinkerCAD, Vectary, SketchUp, Leopoly, Sculptris, Rhinoceros und andere). Dann wird die resultierende STL-Datei von einer anderen "Slicer"-Software wie Repetier, OctoPrint, Z-Suite, Tinkerine Suite, Cura, PrusaSlicer, Simplify3D und anderen verwendet, um eine Datei mit einer Reihe von dünnen Schichten zu erzeugen. Die resultierende Datei wird vom Host des 3D-Druckers verwendet, um ein 3D-Objekt zu

erzeugen. Manche Slicer-Software fungiert auch als Drucker-Host, wie z. B. Cura, 3DPrinterOS, OctoPrint, MatterControl und andere. Während die meiste professionelle 3D-Modellierungssoftware in der Regel eigenständig ist, kann freie Software als Plugin verfügbar sein und ist viel wahrscheinlicher für andere Betriebssysteme als Windows verfügbar.

STL-Dateien enthalten rohe Netzdaten, die auf Triangulationen der Oberfläche von CAD-Modellen basieren. So wird die Oberfläche jeder Facette des Objekts durch ein Polygonnetz dargestellt, das einer Reihe von Regeln entsprechen muss. Die grundlegenden Regeln sind vier, nämlich:

- Die Regel "Scheitelpunkt zu Scheitelpunkt" - jedes Dreieck muss 2 Scheitelpunkte mit seinen Nachbardreiecken teilen;
- Die "Rechtsregel" - die Eckpunkte müssen gegen den Uhrzeigersinn aufgelistet werden;
- Die Regel 'nach außen zeigend' - die Richtung des Normalenvektors sollte nach außen zeigen;
- Die "Alles-Positiv-Regel" - alle Koordinaten der Dreiecksecken müssen durch positive Zahlen dargestellt werden.

Ein Beispiel ist in Abb. 9 zu sehen.

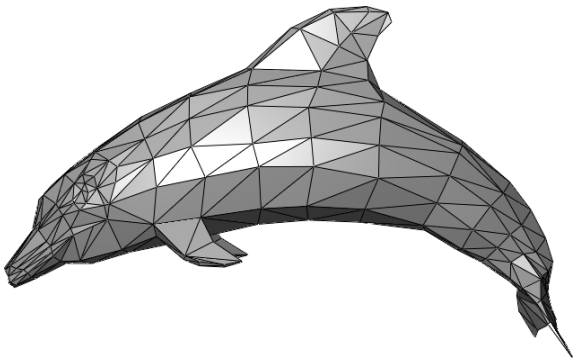


**Abbildung 9. Ein Polygonnetz, das ein 3D-Bild eines Delphins darstellt. Quelle: Chrschn, Public domain, via Wikimedia Commons**

STL-Dateien können Informationen in binärer Kodierung oder in ASCII-Kodierung speichern. Dateien im Binärformat sind in der Regel kleiner und können leicht weitergegeben werden, während ASCII-Dateien zum manuellen Lesen und Überprüfen der STL-Datei verwendet werden, z. B. beim Testen neuer CAD-Schnittstellen.

Komplexe Objekte können eine Herausforderung für STL-Dateien sein, da es zu viele Oberflächen gibt, die in den Berechnungen berücksichtigt werden müssen. Außerdem hatten die frühen STL-Dateien nur sehr begrenzte Eigenschaften zur Darstellung von Farbe, Textur, Material und interner Struktur (obwohl dies später behoben wurde). Einige Softwaretypen, wie z. B. das prototypische AutoCAD, können nur Konstruktionen von Volumenobjekten in STL exportieren. Nicht zusammenhängende Flächen (z. B. mit Lücken oder Überlappungen) sind in STL-Dateien nur schwer zu verarbeiten oder anzupassen und würden nicht gedruckt werden. Daher wurde 2006 eine verbesserte Version des STL-Formats veröffentlicht, die schließlich in ein anderes, vielseitigeres CAD-Dateiformat, das Additive Manufacturing File Format (AMF), überführt wurde. Nichtsdestotrotz verwenden viele 3D-

Drucker, die heute eingesetzt werden, insbesondere solche, die im kleinen Maßstab arbeiten, STL-Dateien.

AMF-Dateien können die interne Struktur leicht darstellen, indem sie ein Flächen/Vertex-Polygon-Layout und gekrümmte Dreiecke verwenden, um eine diskrete Volumeneinheit des Materials zu definieren. Für ein einzelnes Objekt können mehrere Volumina angegeben werden. AMF-Dateien enthalten auch Informationen über das Material, die Farbe und Textur des gedruckten Objekts oder seiner Teile sowie die Reihenfolge des Drucks.

Jonathan Hiller, einer der Erfinder des AMF-Dateiformats, betreibt eine detaillierte und benutzerfreundliche Website, die CAD-Software oder 3D-Modellierung und Anleitungen bietet: https://sites.google.com/site/jonhiller/software.

Kostenlose Architektur-CAD-Zeichnungen für AutoCAD und 3D-Modellierungssoftware sind im Internet leicht verfügbar, z. B. https://www.arcat.com/, https://www.tinkercad.com/, https://www.sketchup.com/ und andere. Ein kostenloses 3D-CAD-Bild ist in Abb. 10 dargestellt.

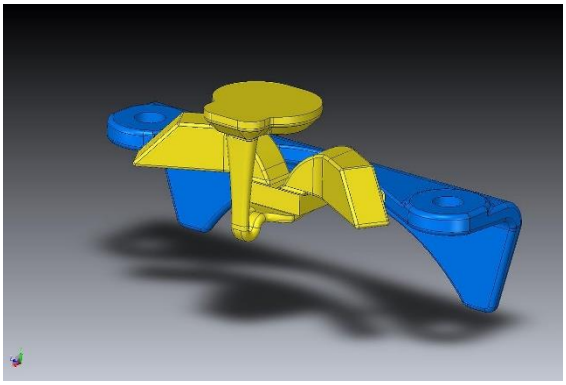


**Abbildung 10. Ein 3D-CAD-Modell zur Verwendung im 3D-Druck. Quelle: OKFoundryCompany aus Richmond, USA, CC BY 2.0 <https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>, via Wikimedia Commons**

Kostenlose STL-Dateien, 3D-Drucker-Dateien und 3D-Drucker-Entwürfe stehen unter anderem auf www.thingiverse.com, www.youmagine.com, www.myminifactory.com, https://library.zortrax.com/, https://www.cgtrader.com/, https://cults3d.com/en, https://www.youmagine.com/ https://www.turbosquid.com/Search/3D-Models/free/stl zur Verfügung.

STL-Editor-Software ist für mehrere Quellen wie https://www.meshlab.net/, https://www.blender.org/, https://www.freecadweb.org/, https://www.3dslash.net/index.php, https://www.sketchup.com/ und andere verfügbar.

# Verweise

Kodama H. 1981. Automatic method for fabricating a three-dimensional plastic model with photo-hardening polymer. Rev Sci Instrum, 52(11): 1770–73.

Melchels FP, Feijen J, Grijpma DW. 2009. A poly(D,L-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography. Biomaterials, 30(23-24):3801-9.

Shelby A. Skoog, Peter L. Goering, Roger J. Narayan. 2014. Stereolithography in tissue engineering. J Mater Sci Mater Med, 25: 845–56.

Alhnan A, Okwuosa M, Chijioke T, et al. 2016. Emergence of 3D Printed Dosage Forms: Opportunities and Challenges. Pharm Res, 33 (8): 1817-32.

Goyanes A, Buanz AB, Basit AW, et al. 2014. Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. Int J Pharm. 2014;476(1–2):88–92.

Wang J, Shaw LL, Cameron TB. 2006. Solid Freeform Fabrication of Permanent Dental Restorations via Slurry Micro-Extrusion. J Am Ceram Soc, 89 (1): 346–9.

Khaled SA, Burley JC, Alexander MR, et al. 2014. Desktop 3D printing of controlled release pharmaceutical bilayer tablets. Int J Pharm, 461(1–2):105–11.

Azad MA, Olawuni D, Kimbell G, et al. 2020. Polymers for Extrusion-Based 3D Printing of Pharmaceuticals: A Holistic Materials-Process Perspective. Pharmaceutics, 12(2):124.

Chua CK, Leong KF, An J. 2014. 1 - Introduction to rapid prototyping of biomaterials. Woodhead Publishing.

Sun Y, Soh S. 2015. Printing Tablets with Fully Customizable Release Profiles for Personalized Medicine. Adv Mater, 27(47):7847-53.

Edelmann A, Dubis M, Hellmann R. 2020. Selective Laser Melting of Patient Individualized Osteosynthesis Plates-Digital to Physical Process Chain. Materials (Basel), 13(24):5786.

Tan W, Gao C, Feng P, et al. 2021. Dual-functional scaffolds of poly(L-lactic acid)/nanohydroxyapatite encapsulated with metformin: Simultaneous enhancement of bone repair and bone tumor inhibition. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 120:111592.

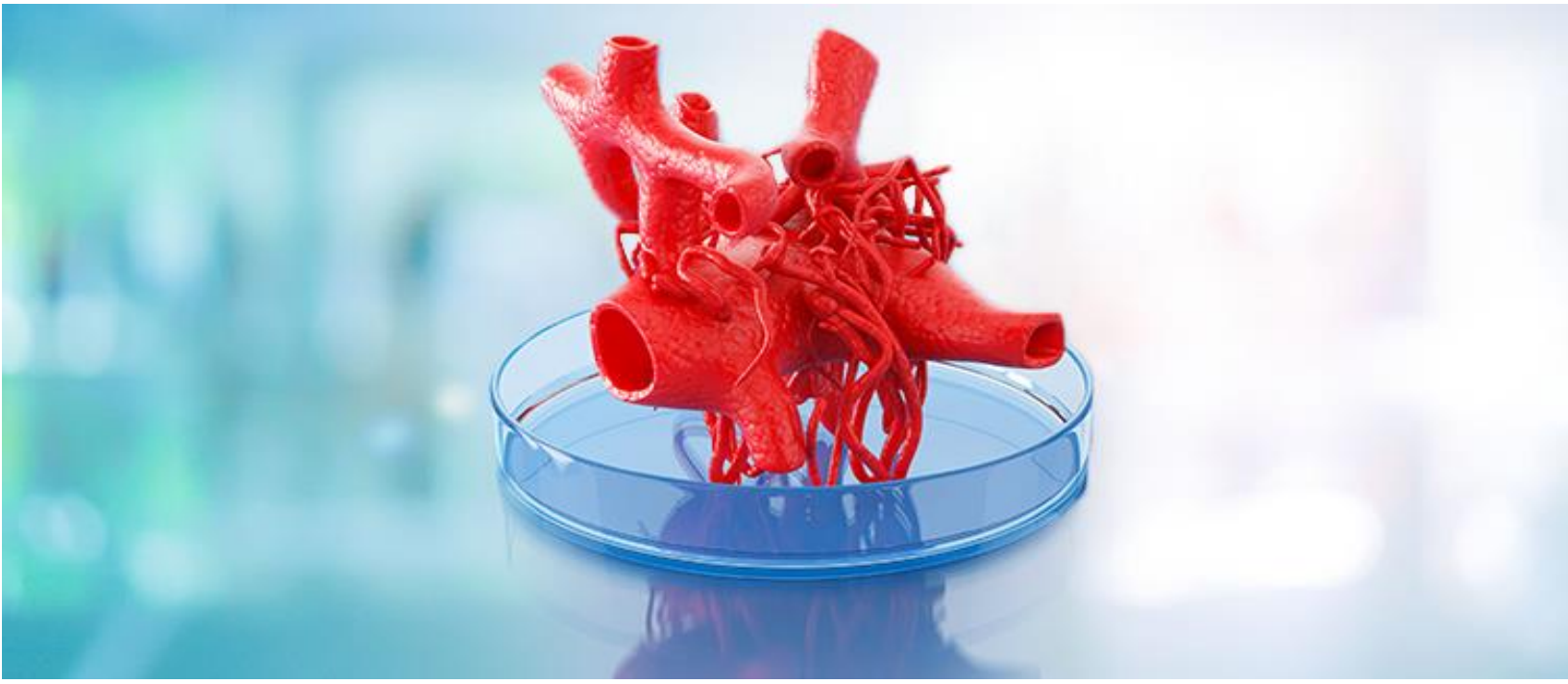
Schubert C, van Langeveld MC, Donoso LA. 2014. Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. Br J Ophthalmol, 98:159-161.

Hiller J, Lipson H. 2009. STL 2.0: A Proposal for a Universal Multi-Material Additive Manufacturing File Format". Solid Freeform Fabrication Symposium (SFF'09), Aug 3-5 2009, Austin, TX, USA.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***

DIGIT~Bio~TECH



# LO2 DIE ANWENDUNG VON 3D-DRUCK UND IKT FÜR GRÜNE PRODUKTE UND PROZESSE

***Fortgeschrittenes Niveau***

AUTOR:

**VENTSISLAVA PETROVA**

# Inhalt

Anwendungsbereiche des 3D-Bioprinting ..... 3
Tissue Engineering und regenerative Medizin ..... 4
1. Knochengewebe ..... 5
2. Knorpelgewebe ..... 6
3. Herzgewebe ..... 7
4. Tessuto epatico ..... 8
5. Lungengewebe ..... 8
6. Neurales Gewebe ..... 9
7. Pankreas-Gewebe ..... 10
8. Hautgewebe ..... 11
9. Vaskuläres Gewebe ..... 12
10. Andere Gewebetypen ..... 13
Transplantation und Kliniken ..... 13
Pharmazie und Hochdurchsatz-Screening ..... 15
Krebsforschung ..... 18
Schlussbemerkungen und Ausblick ..... 19
Verweise ..... 21

# Anwendungsbereiche des 3D-Bioprinting

3D-Bioprinting ist eine sich entwickelnde Technologie mit Anwendungen im gesamten Bereich der biomedizinischen Forschung. Die Methode, bei der ein biologisches Substrat oder eine "Biotinte" verwendet wird, die aus Strukturkomponenten, Wachstumsmedien und Zellen besteht, kann auf 3D-Druckgeräten biologische Strukturen erzeugen, die die Struktur von Zellen in lebenden Organismen genau imitieren. Unter Verwendung des gleichen Herstellungsmodells wie beim traditionellen 3D-Druck wird eine Anzahl von 2D-Scheiben von einem 3D-Modell durch einen Computer geteilt, um eine korrekte biologische Zusammensetzung Schicht für Schicht mit einer präzisen Anordnung von Geweben und Zellen zu drucken. Der 3D-Bioprinting-Ansatz bietet die Möglichkeit, Probleme in der Medikamentenentwicklung, regenerativen Medizin, Organspende und Krebsbehandlung zu lösen. Diese aufstrebende Technologie bietet große Genauigkeit bei der räumlichen Platzierung von Zellen, Proteinen, DNA, Medikamentenpartikeln, Wachstumsfaktoren und biologisch aktiven Substanzen, um eine bessere Gewebebildung zu ermöglichen. Diese leistungsstarke Technologie scheint vielversprechend für die Verbesserung der Gewebeherstellung in Richtung physiologisch relevanter Gewebekonstrukte, Gewebemodelle, Gewebe und Organe sowie Organ-on-a-Chip-Modelle für Medizin und Pharmazie zu sein.

Die Bioprinting-Technologie hat eine breite Anwendung in verschiedenen Bereichen wie Tissue Engineering und regenerative Medizin, Transplantation und Kliniken, Wirkstoffscreening und Hochdurchsatz-Assays sowie Krebsforschung (Abb. 1). Das Bioprinting für das Tissue Engineering und die regenerative Medizin wird seit mehr als einem Jahrzehnt erforscht, und es wurden anatomisch korrekte zellbesetzte Konstrukte und Gerüste für verschiedene Gewebetypen hergestellt: von Binde- und Epithelgewebe bis hin zu Muskel- und Nervengewebe. Mit seinem großen Vorteil bei der Modellierung und präzisen Platzierung mehrerer Zelltypen hat das Bioprinting einen der größten Mängel traditioneller Gerüstherstellungstechniken überwunden und die Konstruktion von nativ-ähnlichen Geweben mit einer heterozellulären Mikroumgebung erleichtert. Obwohl die meisten Anstrengungen auf die Grundlagenforschung hinter den wichtigsten Bioprinting-Techniken wie Laser-, Droplet- und Extrusions-basiertes Bioprinting gerichtet waren, wurde in letzter Zeit dem Bioprinting zur Herstellung von funktionellem Gewebe erhebliche Aufmerksamkeit geschenkt. Insbesondere wurde dem Bioprinting für die Transplantation viel Aufmerksamkeit gewidmet. Da weitere Fortschritte in den Bereichen Biomaterialien, Zell- und Transplantationstechnologien erzielt wurden, wird das Bioprinting in naher Zukunft, wenn es für den Einsatz am Menschen zugelassen wird, vom Labor zum Krankenbett übergehen und eine Vielzahl von Vorteilen im Operationssaal bieten. Vor dem Übergang in die klinische Praxis hat das Bioprinting bereits einen großen Sprung in der pharmazeutischen Anwendung gemacht, da es keine behördlichen Zulassungen benötigt und es derzeit einen aufstrebenden Bioprinting-Markt für die Herstellung von Gewebe für Medikamententests und Hochdurchsatz-Assays gibt. Biologisch gedruckte Gewebemodelle (z. B. Leber), die aus mehreren Zelltypen hergestellt werden und eine komplexe heterozelluläre physiologische Umgebung ermöglichen, wurden bereits für das Wirkstoffscreening eingesetzt. Darüber hinaus wird Bioprinting seit kurzem in der Krebsforschung eingesetzt, um die

Pathologie, das Wachstum und die Metastasierung von Krebs in einer physiologisch relevanten Mikroumgebung zu untersuchen. Hier wird ein umfassender Überblick über die Anwendungsbereiche der Bioprinting-Technologie gegeben und eine ausführliche Diskussion über die erfolgreich bioprintierten Gewebetypen für Tissue Engineering und regenerative Medizin, Transplantation und Kliniken, Wirkstoffscreening und Hochdurchsatz-Assays sowie Krebsforschung präsentiert. Für jeden Anwendungsbereich werden die Vorteile und Grenzen der bestehenden Technologien diskutiert.

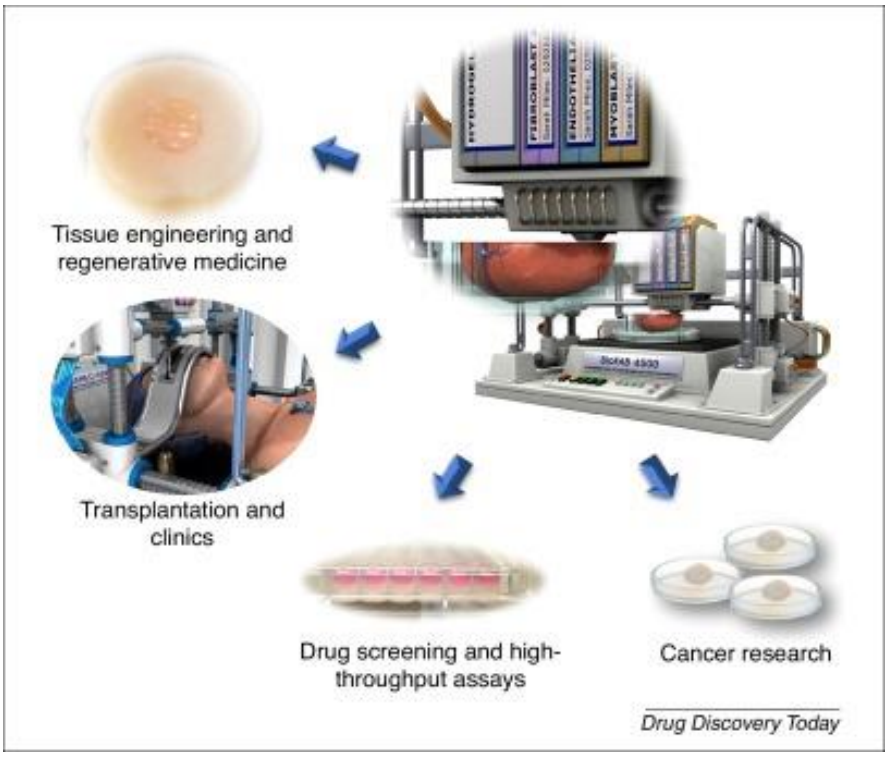



**Abbildung 1. Anwendungsbereiche der Bioprinting-Technologie**

## TISSUE ENGINEERING UND REGENERATIVE MEDIZIN

Das Bioprinting von funktionalen Organen auf klinischer Ebene ist nach wie vor schwer vorstellbar, da es mehrere Herausforderungen gibt, wie z. B. die Integration des vaskulären Netzwerks von Arterien und Venen bis hin zu Kapillaren, die Kombination verschiedener Zelltypen, um die komplexe Organbiologie zu rekapitulieren, sowie die begrenzte strukturelle und mechanische Integrität und langfristige Funktionalität. Trotz dieser Herausforderungen wurde eine Vielzahl von Geweben

erfolgreich bioprinted, wie z. B. dünne oder hohle Gewebe, z. B. Blutgefäße, oder Gewebe, die keine Vaskularisierung benötigen, wie Knorpel.

## 1. Knochengewebe

Der Knochen ist ein essentielles Gewebe des Körpers und eine Schlüsselkomponente des Bewegungsapparates. In der Regel überwindet er Verletzungen und Degenerationen durch seine hohe Regenerationsfähigkeit. In manchen Fällen kann der Knochen jedoch nicht richtig heilen und eine Behandlung ist erforderlich. Die bestehenden Standardtherapien haben erhebliche Schwächen. Innovationen in den Bereichen Bioprinting und Tissue Engineering versprechen eine Verbesserung der Qualität und Wirksamkeit von Therapien zur Knochenrekonstruktion. Bioprinting ist theoretisch noch nicht möglich, da derzeit keine maßgeschneiderten resorbierbaren Gerüste mit Wachstumsfaktoren oder autologen Zellen hergestellt werden. Jüngste Untersuchungen haben jedoch die 3D-Drucktechniken sowie 3D-druckbare Materialien mit fein abgestimmten Eigenschaften zur Rekonstruktion patientenspezifischer Defekte rasch verbessert. Diese Forschung scheint in Richtung einer Zukunft mit resorbierbaren Scaffolds zu führen, die geeignete Wachstumsfaktoren und Osteoprogenitorzellen enthalten. Die Zeit wird zeigen, ob diese Therapien weithin verfügbar und zum Standard der Behandlung werden.

In einer aktuellen Studie verwendeten einige Autoren einen thermischen Inkjet-Biodrucker zum Aufbau von Poly(ethylenglykol)dimethacrylat (PEGDMA)-Gerüsten. Nanopartikel aus bioaktivem Glas und Hydroxylapatit (HA) wurden für das Co-Printing von aus dem Knochenmark stammenden humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSCs) unter gleichzeitiger Polymerisation verwendet. Dieser Ansatz ermöglichte eine gleichmäßige Verteilung der hMSCs im Vergleich zu manuell pipettierten hMSCs, die sich aufgrund der Schwerkraft am Boden des Gerüsts ansammelten. Die bioprinted Strukturen, die hMSCs und HA einkapselten, zeigten die höchste Zellviabilität, Kollagenproduktion und alkalische Phosphataktivität mit erhöhtem Druckmodul nach 21-tägiger Kultur *in vitro*. Das Bioprinting von HA-Partikeln wurde auch für in-situ-Bioprinting-Zwecke durchgeführt, wobei ein laserbasiertes Bioprinting-System verwendet wurde, um HA-Nanopartikel in Defekte der Mauscalvaria abzuscheiden.

In einer weiteren Studie wurden heterozelluläre Gewebekonstrukte aus Matrigel™ und Alginathydrogelen bioprinted. Endotheliale Progenitor- und multipotente Stromazellen wurden räumlich kontrolliert bioprinted. Die erhaltenen Konstrukte wurden subkutan in immundefiziente Mäuse implantiert. Durch die Integration von osteoinduktiven biphasischen Calciumphosphat-Mikropartikeln wurden multipotente Stromazellen in eine osteogene Linie differenziert und die Knochenbildung in 6 Wochen beschleunigt. Neben osteoinduktiven Materialien ist auch die Zugabe von Wachstumsfaktoren entscheidend für die Stammzelldifferenzierung beim Tissue Engineering von Knochen. Es wurde gezeigt, dass die Zugabe von Knochenmorphogenetischem Protein (BMP)-2 eine wichtige Rolle für das Schicksal der Stammzellen spielt. Mittels Inkjet-Bioprinting von gemustertem BMP-2 auf Fibrin-beschichtete Deckgläser wurden primär-muskelabgeleitete Stammzellen bioprintet. Es wurde jedoch

gezeigt, dass sie auf dem Muster in Richtung der osteogenen Linie differenziert wurden, selbst wenn sie mit myogenen Differenzierungsbedingungen behandelt wurden.

## 2. Knorpelgewebe

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden nicht nur auf dem Gebiet des Knochen-Tissue-Engineering, sondern auch auf dem des Knorpel-Engineerings erhebliche Fortschritte erzielt. Folglich besteht ein echtes Potenzial, dass Techniken zur Regeneration statt zum Ersatz beschädigter oder erkrankter Knochen und Gelenke eines Tages das Krankenhaus erreichen werden. Bevor dies Realität wird, müssen jedoch noch einige zentrale Herausforderungen bewältigt werden. Dazu gehört vor allem die Vaskularisierung, wenn große Knochendefekte repariert werden müssen. Weitere wichtige Punkte sind die Notwendigkeit der Verwendung komplexer Gradienten für die Regeneration von Knochen-Weichgewebe-Grenzflächen und die Rekapitulation der geschichteten zonalen Architektur, die in vielen adulten Geweben wie dem Gelenkknorpel vorhanden ist. Bestehende Knorpel-Engineering-Ansätze haben jedoch ein großes Potenzial für die präzise Konstruktion von Zellen und Biomaterialien mit anspruchsvollen Mustern. Sie können natives Gewebe mit zonal differenzierten Zellen und der Struktur der extrazellulären Matrix (ECM) imitieren.

Auch das laserbasierte Bioprinting von stammzelldifferenzierten Chondrozyten wurde versucht. Diese Strategie basiert auf einer computergestützten Biofabrikationstechnik mit Hilfe von LIFT. Aus Knochenmark gewonnene mesenchymale Stammzellen (MSCs) mit hoher Lebensfähigkeit wurden erfolgreich bioprinted. Sie behielten ihre Funktionalität und Differenzierungsfähigkeit in osteogene und chondrogene Linien bei. Inkjet-basiertes Bioprinting wurde auch beim Knorpel-Tissue-Engineering sowie bei der Regeneration von Knorpeldefekten eingesetzt. HP-Desktop-Drucker wurde modifiziert und menschliche Chondrozyten, die in PEGDMA-Hydrogel geladen waren, wurden bioprinted. Das so hergestellte Knorpelkonstrukt hatte mechanische Eigenschaften und eine biochemische Zusammensetzung, die dem nativen Knorpel sehr ähnlich ist. Erst kürzlich wurde eine hybride Bioprinting-Methode zur Herstellung mechanisch verbesserter Knorpelgewebekonstrukte durch die Kombination von 3D-Bioprinting und Elektrospinning-Techniken entwickelt. In dieser Studie wurde das Elektrospinnen von Polycaprolacton (PCL)-Fasern zusammen mit dem Inkjet-Bioprinting von elastischen Chondrozyten von Kaninchen in Fibrin-Kollagen-Hydrogel gezeigt.

Trotz der großen Erfolge beim Bioprinting von Knorpelgewebe ist die Herstellung von zonal geschichteten Gelenkknorpelgeweben mit unterschiedlichen strukturellen, biomechanischen und biologischen Eigenschaften immer noch eine Herausforderung und es sind weitere Fortschritte erforderlich, um Gelenkknorpelgewebekonstrukte mit zonaler Differenzierung herzustellen, die mehr horizontale und dünnere Kollagenfasern mit hoher Zelldichte in der oberflächlichen Zone und relativ vertikale und dickere Kollagenfasern mit geringerer Zelldichte in den tieferen Zonen umfassen.

## 3. Herzgewebe

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die Haupttodesursache in der Welt. In dieser Hinsicht ist das Tissue Engineering von Herz und Herzklappen von größter Bedeutung. In den letzten zehn Jahren wurden erhebliche Fortschritte bei der Erforschung der nativen Eigenschaften des Herzens für die kardiale Regeneration und Reparatur gemacht, wobei verschiedene Strategien eingesetzt wurden, darunter Konzepte von Biomaterialien, Mikro- und Nanotechnologien und Dezellularisierung. Die Hauptschwierigkeit beim kardialen Tissue Engineering besteht jedoch darin, die komplexen, heterogenen mikro- und makrokardialen Gewebestrukturen so zu gestalten, dass sich verschiedene Zelltypen anlagern, vermehren und schließlich beschädigte Teile reparieren und umgestalten können. Das 3D-Bioprinting hat sich als eine Strategie zur Bewältigung dieser Herausforderung erwiesen, da es die Technologie zur Konstruktion hochauflösender Scaffolds mit heterogenen biochemischen und mechanischen Eigenschaften bietet. Allerdings wurden bisher nur begrenzte Versuche mit dem Bioprinting von kardialen Gewebemodellen unternommen. Es wurde das extrusionsbasierte Bioprinting von Gewebesphäroiden demonstriert, die aus humanen vaskulären Endothelzellen (HUVECs) und kardialen Zellen bestehen, die aus Myokardröhren von Hühnerembryonen gewonnen wurden. Ein anderer Ansatz basiert auf dem Bioprinting eines kardialen Gewebekonstrukts in Form eines halben Herzens mit verbundenen Ventrikeln mittels Inkjet-basiertem Bioprinting. Laser-induzierter Vorwärtstransfer (LIFT) wurde ebenfalls eingesetzt, um HUVECs und hMSCs in einem geometrisch definierten Muster auf Polyester-Urethan-Harnstoff zu strukturieren, und die hergestellten Proben wurden in die Infarktzone von Rattenherzen nach LAD-Ligatur transplantiert. Acht Wochen nach der Transplantation wurde eine verstärkte Gefäßbildung im Vergleich zu zufällig bioprintierten Zellen als Kontrollgruppe beobachtet und der resultierende Myokardpatch bot eine erhebliche funktionelle Verbesserung.

Eine andere wichtige Richtung ist das Engineering von Herzklappen, da diese keine Regenerationsfähigkeit besitzen und dysfunktionale Herzklappen, wenn die Schädigung oder Erkrankung nachteilig ist, durch mechanische oder biologische prothetische Äquivalente ersetzt werden müssen. Die Herstellung solcher Ersatzklappen ist jedoch durch Thrombogenität und Verkalkung eingeschränkt. Trotz ihrer wichtigen Rolle im kardiovaskulären System sind bisher nur wenige Arbeiten zum Bioprinting von Herzklappen durchgeführt worden. Das erstmalige Bioprinting einer Herzklappe wurde durch die Verwendung eines modifizierten Dual-Head-Bioprinters aus einem Fab@Home-Drucker erreicht. In einer anderen Studie wurde das Doppeldüsen-Bioprinting von Alginat-Gelatine-Hydrogel-Komposit für die Konstruktion von dünnen Hydrogelscheiben und das räumliche Bioprinting von glatten Muskelzellen (SMCs) des Aortenwurzelsinus und interstitiellen Zellen (VICs) der Aortenklappe verwendet. In einer neueren Studie führte dieselbe Gruppe das Bioprinting von Komposit-Hydrogelen unter Verwendung von methacrylierter Hyaluronsäure (Me-HA) und methacrylierter Gelatine (Me-Gel) durch, die mit humanen Aortenklappen-Interstitialzellen (HAVICs) beladen waren. Die erhaltenen Proben hatten die Form einer dreiflügeligen Klappe und die Zellen, die mit einer erhöhten Me-Gel-Konzentration bioprinted wurden, zeigten eine bessere Ausbreitung.

## 4. Tessuto epatico

Die Leber ist die größte Drüse im menschlichen Körper. Sie spielt eine Schlüsselrolle im Stoffwechsel, der Gallenproduktion, der Entgiftung und der Wasser- und Elektrolytregulierung. Die Giftstoffe oder Medikamente, die der Magen-Darm-Trakt aufnimmt, erreichen zuerst die Leber, bevor sie in den Blutkreislauf gelangen. Lebererkrankungen sind weltweit eine der führenden Todesursachen. Daher kann ein *in vitro* Lebergewebemodell, das die Hauptfunktionen der Leber simuliert, eine wichtige Plattform für die Erforschung von Lebererkrankungen und die Entwicklung neuer Medikamente sein. Gegenwärtig sind die neu entwickelten 3D-Bioprinting-Technologien in der Lage, In-vitro-Lebergewebemodelle sowohl in statischen Scaffolds als auch in dynamischer Leber-auf-Chip-Manier zusammenzusetzen.

Das erstmalige Bioprinting von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSCs) wurde durch Stimulation von hiPSCs und deren Differenzierung zu Hepatozyten für das Leber-Mikroorganismen-Engineering durchgeführt. Zusätzlich zum Bioprinting von Lebergewebestrukturen wurden Leberkarzinom HepG2 immortale Zellen in größeren Gewebemodellen bioprinted.

In der Tat kann das 3D-Bioprinting von Lebergewebe-Scaffolds und die Konstruktion von Leber-auf-Chips erheblich zur Entwicklung von In-vitro-Lebergewebemodellen beitragen. Durch den Einsatz der 3D-Bioprinting-Technologie bei der Leber-auf-Chip-Herstellung wird die Konstruktion von In-vitro-Lebergewebemodellen effizienter und kostengünstiger. So wird eine leistungsfähige Plattform für das Screening von Medikamenten und die Bestimmung des molekularen Mechanismus, der Lebererkrankungen zugrunde liegt, bereitgestellt.

## 5. Lungengewebe

3D-Bioprinting erhöht die Möglichkeit, komplexe makro- und mikroskalige Biostrukturen unter Verwendung mehrerer verschiedener Zelltypen reproduzierbar zu erzeugen. Dies ist eine vielversprechende Strategie für die Herstellung von mehrschichtigen Hohlorganen, was eine große Herausforderung für die traditionelleren Tissue-Engineering-Techniken darstellt. Derzeit sind die wichtigsten Fortschritte für das Lungensystem auf die Luftröhre beschränkt. Die verfügbaren Techniken zur Konstruktion von Trachealtransplantaten sind wertvolle Grundlagen für das Bioprinting der gesamten Lunge. Im Allgemeinen kombinieren die meisten 3D-Bioprinting-Ansätze zur Herstellung von Tracheen biologische Hydrogele, die mit Zellen besiedelt sind und eine robuste Polymerstruktur umgeben.

Im Allgemeinen wird die Lunge chirurgisch als ein festes Organ klassifiziert. Für die Zwecke des Tissue Engineering ist es jedoch sinnvoller, den gesamten Atmungsbaum als eine verzweigte Reihe von Röhren zu betrachten. Daher können die Fortschritte und Schwierigkeiten, die beim Bioprinting anderer röhrenförmiger Organe festgestellt wurden, beim Bioprinting der Lunge helfen. Die Versuche zum Bioprinting der Lunge sind neu und es gibt nur wenige Versuche, die sich mit der Synthese eines

Lungengewebemodells beschäftigen. Vor kurzem wurde das Bioprinting eines *in vitro* Luft-Blut-Barriere-Modells durch die Entwicklung eines zonal geschichteten Gewebekonstrukts in mehreren Schichten erreicht. Zunächst wurde eine dünne Schicht bioprinted. Sie dient als Basalmembran. Dann wurde eine einzelne Schicht von Endothelzellen bioprinted, die die Anheftung von Zellen auf der nächsten Schicht erleichtert. Später wurde eine neue Schicht auf dem zuvor aufgebauten Konstrukt hinzugefügt, gefolgt vom Bioprinting einer einzelnen Schicht Epithelzellen.

Auf dem Weg zu einer komplexeren Geometrie haben einige Autoren ein distales Lungenmodell mit Gefäß- und Atemwegsräumen entwickelt. Sie verwendeten Poly(ethylenglykol)diacrylat und einen stereolithografischen Drucker und schafften es, ein "Atemmodell" mit Tidalluftventilation und Blutfluss zu erstellen. Anhand dieses Modells untersuchten sie den Lungentransport, indem sie den Sauerstoffgehalt des Blutes maßen, das in das Konstrukt ein- und austrat. Obwohl die gedruckte Vaskulatur auf 300 µm begrenzt war, ist es dennoch ein großer Schritt in Richtung der Schaffung von klinisch relevantem Lungengewebe.

## 6. Neurales Gewebe

Das menschliche Nervensystem ist ein äußerst komplexes physiologisches Netzwerk, dessen Analyse aufgrund der Schwierigkeiten bei der Gewinnung von Primärproben eine echte Herausforderung darstellt. Eine der leistungsfähigen Alternativen, um die Entwicklung des Nervensystems, Krankheiten und regenerative Prozesse zu untersuchen, sind Tiermodelle. Sie sind jedoch nicht in der Lage, einige artspezifische Eigenschaften des menschlichen Nervensystems zu berücksichtigen. Es wurden immer ausgefeiltere In-vitro-Modelle des menschlichen Nervensystems entwickelt, die jedoch noch weitere Fortschritte erfordern, um die Mikroumgebung und die zellulären Eigenschaften besser zu simulieren. Auf dem Gebiet des neuronalen Tissue Engineering werden schnell neue Werkzeuge implementiert, die es den Forschern ermöglichen, die In-vitro-Kulturbedingungen genau zu überwachen und die Bildung, Funktion und Reparatur des Nervensystems besser zu modellieren.

Allerdings sind die Arbeiten, die im Rahmen des Bioprinting für den Aufbau von neuralem Gewebe durchgeführt wurden, recht spärlich. Einige von ihnen basieren auf dem Bioprinting von C17.2-Zellen auf einer Kollagenschicht neben einer mit VEGF beladenen Fibrinscheibe. Unter Verwendung dieses Modells wurde die Wirkung des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF) auf die Proliferation und Migration von murinen neuralen Stammzellen (C17.2) analysiert. Die Studie zeigte, dass neurale Zellen in Richtung des VEGF-freisetzenden Fibringels migrierten und erfolgreich proliferierten. Kürzlich wurde in anderen Untersuchungen das Bioprinting eines thermoresponsiven Polyurethan-Hydrogels mit einstellbarer Steifigkeit und Gelierfähigkeit bei 37°C ohne die Notwendigkeit eines Vernetzers vorgestellt. Die Wirksamkeit der Biotinte wurde durch Beladung mit neuralen Stammzellen und Injektion in ein Zebrafisch-Embryo-Neuralverletzungsmodell erreicht. Die

erzielten Ergebnisse zeigten, dass das injizierte Gel die Funktion des geschädigten Nervensystems innerhalb von 6 Tagen wiederherstellte.

Es wurde auch ein gerüstfreier Ansatz verwendet, bei dem ein Pellet aus Schwann-Zellen (SCs) und Knochenmark-Stammzellen (BMSCs) innerhalb einer 3D-gedruckten Agarose extrudiert wurde. Nach der Aggregation der Zellen in der Agarose wurde ein Nervengewebetransplantat mit jeweils drei Lumina gebildet. Die konstruierten Transplantate wurden dann in Mäuse implantiert, und ihre Histologie und Funktionalität wurden bewertet. Die Anzahl der Proben war begrenzt, um eine definitive Aussage über die Leistung der 3D-bioprinted Transplantate im Vergleich zu kommerziell erhältlichen Kollagen-Transplantaten zu treffen. Der vorgestellte Fall demonstrierte jedoch einen Proof-of-Concept für das Bioprinting von Nerventransplantaten.

## 7. Pankreas-Gewebe

Die Erforschung und Behandlung von Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse, wie z. B. Diabetes und Bauchspeicheldrüsenkrebs, wird durch den eingeschränkten Zugang zu Pankreasgewebe *in vivo* behindert. Dreidimensionale (3D) Gewebemodelle, die das native Organ genau imitieren, haben jedoch ein großes Potenzial für biomedizinische Anwendungen, indem sie sowohl effektive Plattformen für die Untersuchung der Gewebeentwicklung und Homöostase als auch für die Simulation von Krankheiten in pharmazeutischen Tests bieten. Leider überleben primäre β-Zellen der Bauchspeicheldrüse nicht ohne weiteres *in vitro* und es gibt nur wenige Versuche, β-Zellen aus menschlichen Stammzellen zu differenzieren. In dieser Hinsicht ist die Regeneration von Pankreasgewebe vor allem insofern beispielhaft, als β-Zellen aus Mauslinien oder Insulinomzellen zur Herstellung von Pankreasinseln verwendet wurden. Im Zusammenhang mit dem Bioprinting zur Herstellung von Pankreasgewebe sind nur wenige Arbeiten durchgeführt worden. Kürzlich wurden menschliche und Maus-Inseln sowie Ratten-Insulinom INS1E β-Zellen in Alginat- oder Alginat-Gelatine-Hydrogelen eingekapselt und in zweischichtigen Gerüsten bioprintet. Darüber hinaus wurde in einer neueren Arbeit die Mikrofabrikation von gerüstfreien Gewebesträngen (mit starker Expression von Insulin) für das extrusionsbasierte Bioprinting demonstriert, wobei Gewebestränge aus Rattenfibroblasten und Maus-Insulinom TC-3 β-Zellen im Kern bzw. in der Hülle hergestellt wurden. Es wurde ein innovativer Ansatz vorgeschlagen, der die Verwendung von Gewebesträngen für das Scale-up des Gewebe-Bioprinting-Prozesses umfasst.

Diese experimentellen Versuche auf dem fortschrittlichen technologischen Gebiet des Bioprinting werden den Weg zu neuen technologischen Möglichkeiten der Züchtung von funktionellen Geweben und Organen im Labor ebnen. Es wurde erwartet, dass das Wissen und die Modelle, die durch die Forschung auf dem Gebiet des Bioprinting generiert werden, nicht nur wichtige technologische Entwicklungen im Tissue-Engineering stimulieren, sondern auch radikal neue Möglichkeiten in der Medizin eröffnen werden, wie z. B. die Untersuchung von Bauchspeicheldrüsenerkrankungen *ex vivo* in fabriziertem Gewebe, die Entwicklung neuer Medikamente und möglicherweise die Erleichterung des Ersatzes von verletztem oder krankem Gewebe.

## 8. Hautgewebe

Die Haut ist die äußerste Schutzhülle des menschlichen Körpers und steht in direktem Kontakt mit der äußeren Umgebung. Das macht sie sehr anfällig für Verletzungen. Hautdefekte oder Wunden können durch Traumata, Hautkrankheiten, Verbrennungen oder die Entfernung der Haut bei Operationen entstehen. Solche Zustände erfordern dringende therapeutische Eingriffe, um die Struktur und Funktion der Haut zu reparieren und die normale Mobilität des Patienten zu ermöglichen. Außerdem können vorhandene Wunden zu einer bakteriellen Kontamination und damit verbundenen Komplikationen führen, wenn sie nicht sofort behandelt werden. Darüber hinaus können selbst geringfügige Deformierungen bei den betroffenen Personen, insbesondere bei Kindern, psychischen Stress verursachen. Die derzeit beste Alternative des Skin Tissue Engineering ist die Verwendung von Autotransplantaten. Es gibt jedoch Einschränkungen, wie die Menge und Größe der verfügbaren Transplantate, die Entstehung einer sekundären Wunde und andere Risiken. Die Verwendung anderer Arten von Hauttransplantaten wie Allotransplantate und möglicherweise Xenotransplantate sind mit dem Risiko von Immunreaktionen und der Übertragung von Krankheiten sowie einigen ethischen und kulturellen Problemen verbunden. Es besteht auch die Möglichkeit, Wundauflagenmaterialien wie solche auf Polymerbasis oder deren Kombinationen mit anderen Substanzen zu verwenden. Sie sind jedoch nicht lebendig und können kaum zellularisiert und durch natives Gewebe ersetzt werden. In dieser Hinsicht birgt das Tissue Engineering große Versprechen für die Verbesserung der Behandlung von Hautdefekten, aber es müssen Lösungen für die Herausforderungen wie die Entwicklung einer mehrschichtigen nativen Hautarchitektur und vaskulärer Netzwerke gefunden werden. Es wurden bereits einige Lösungen vorgeschlagen, bei denen neben Biomaterialien auch lebende Zellen, biologische oder chemische Signale verwendet werden, um eine funktionelle Haut zu bilden. Solche konventionellen Tissue-Engineering-Methoden leiden jedoch unter verschiedenen Problemen, wie z. B. der inhomogenen Verteilung der Zellen, der fehlenden Integration und Vaskularisierung des Konstrukts nach der Implantation und der späteren Abstoßung des implantierten Biomaterials zusammen mit der gebildeten Haut. Obwohl einige Tissue-Engineering-Hautprodukte auf dem Markt sind, gibt es viele einschränkende Faktoren, wobei ein wichtiger und kritischer Faktor für den klinischen Erfolg die Vaskularisierung durch den Hautersatz ist.

Eine Vielzahl von Tissue-Engineering-Ansätzen wurde für die Konstruktion von Hautgewebe verwendet, und es wurden verschiedene Gewebeersatzmaterialien geschaffen, darunter autologes Spalthauttransplantat (Goldstandard), Allotransplantate, azelluläre dermale Ersatzmaterialien und zellularisierte transplantatähnliche kommerzielle Produkte. Das Bioprinting von Hautgewebe wurde unter Verwendung eines achtkanaligen, ventilbasierten Bioprinters vorgestellt, bei dem ein 13-lagiges Gewebekonstrukt unter Verwendung von Kollagenhydrogel bioprintet wurde. Keratinozyten wurden auf abwechselnden Schichten von menschlichen Vorhautfibroblasten und azellulären Kollagenschichten bioprinted. Die resultierenden Konstrukte zeigten dicht gepackte Zellen in den Epidermis-Schichten im Gegensatz zur Dermis mit geringerer Zelldichte und weniger ECM-Ablagerung. Neben dem

tröpfchenbasierten Bioprinting wurde auch das laserbasierte Bioprinting für die Bioproduktion von Hautgewebeersatz eingesetzt. In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde der Effekt des Bioprinting von Endothelzellen innerhalb von Hautersatzmaterialien auf die Bildung von Makrovaskulatur während des Remodellings von neuem Gewebe untersucht. Der Ansatz beinhaltete die Verkapselung von neonatalen humanen dermalen Fibroblasten und epidermalen Keratinozyten (NHEKs) in Kollagen. Als nächstes wird die Dermisschicht aufgetragen, gefolgt von der Musterung humaner dermaler mikrovaskulärer Endothelzellen (HMVECs) auf der Dermisschicht des Konstrukts. Der Prozess wurde abgeschlossen, indem die Fibrinschicht mit kollagenbeladenen NHEKs umwickelt wurde. Anschließend wurden die hergestellten Hautersatzmaterialien auf die Dorsa von Mäusen implantiert und mit kommerziell erhältlichen Hautersatzmaterialien als Kontrolle verglichen. Die erhaltenen Ergebnisse zeigten, dass die bioprinted HMVECs Mikrogefäße bildeten und die implantierten Konstrukte im Vergleich zu den Kontrollgruppen eine Kontraktion erzeugten. Darüber hinaus wurde in anderen Studien das *in situ* Bioprinting von geschichtetem Hautersatz durch abwechselnde Schichten von Fibrinogen-Kollagen und Thrombin, beladen mit Amnionflüssigkeits-Stammzellen (AFS), gezeigt. Mit diesem Ansatz wurden Hautersatzmaterialien direkt auf Wunden voller Dicke bei Schweinen 3D-bioprinted und reparierten die native Haut besser als Kontrollgruppen. Trotz der Bemühungen beim Bioprinting von Hautgewebe ist die Biokonstruktion von Hautersatz, der die native Haut praktisch simuliert, immer noch eine Herausforderung, da die Integration von Schweißdrüsen und Haarfollikeln schwer zu erreichen ist.

## 9. Vaskuläres Gewebe

Die dreidimensionale (3D) Drucktechnologie hat sich schnell von einer futuristischen Technologie zu einer vielversprechenden Wissenschaft entwickelt, von der angenommen wird, dass sie die klinische Praxis revolutionieren wird, indem sie maßgeschneiderte Geräte, Organmodelle für chirurgische Praktiken, Organersatzteile und moderne Medikamente verfügbar macht. Obwohl diese Technologie ursprünglich dazu gedacht war, chirurgische Modelle und Prototypen bereitzustellen, haben Wissenschaftler die Technologie schnell weiterentwickelt, um Gewebekonstrukte für die regenerative Medizin herzustellen. Die Umsetzung im großen Maßstab ist jedoch aufgrund der anatomischen Komplexität, der Vielfalt der Zusammensetzung (zellulär und extrazellulär) und der Vaskularisierung von nativem Gewebe noch immer eingeschränkt.

Die Synthese von vaskulärem Gewebe wurde mit verschiedenen Bioprinting-Ansätzen durchgeführt, darunter Extrusion, Droplet und Laser-basiertes Bioprinting. Beim extrusionsbasierten Bioprinting wurde ein breites Spektrum an Extrusionstechniken eingesetzt. Einige Wissenschaftler verwenden die koaxiale Düsenextrusion, bei der Hydrogele wie Natriumalginat und Chitosan direkt in Röhrenform mit eingekapselten Zellen bioprintet wurden. Während der koaxialen (Kern-Schale) Strömung kommt der ausgestoßene Vernetzer (der durch den Kern strömt) in Kontakt mit der Vorläufer-Hydrogel-Lösung (die durch die Schale strömt) und beschleunigt die Gelierung und die Bildung der röhrenförmigen Konstrukte. Dieser Ansatz ermöglicht das direkte Bioprinting von Gefäßstrukturen auf praktische Weise. Es gibt auch andere Strategien für das direkte Bioprinting von vaskulärem Gewebe,

wie z. B. das schichtweise Bioprinting von Tröpfchen aus zellbeladenen Hydrogelen mit Hilfe von Inkjet-basiertem Bioprinting. Unter Verwendung der Bottom-up-Konstruktion ermöglichte das tintenstrahlbasierte Bioprinting den Aufbau von verzweigten Röhren in horizontaler und vertikaler Richtung. Ein ähnlicher Ansatz wurde auch mit dem laserbasierten Bioprinting durchgeführt. In allen oben erwähnten Studien werden gerüstbasierte Techniken verwendet. Einige Untersuchungen basieren jedoch auf einem gerüstfreien Ansatz beim Bioprinting vaskulärer Gewebe, bei dem Gewebesphäroide einzeln hergestellt wurden und sich selbst zu größeren Gewebeeinheiten zusammensetzten.

Obwohl der Bereich des 3D-Bioprinting enorme Fortschritte bei der Herstellung von Gefäßstrukturen mit solider struktureller und funktioneller Integrität gebracht hat, ist zu beobachten, dass die Konstruktion klinisch relevanter vaskulärer und vaskularisierter Gewebekonstrukte noch weit in der Zukunft liegt. Innovative Erfindungen, die die Auflösung verbessern und anatomisch genauere Konstrukte erhalten, während sie gleichzeitig eine Vergrößerung der bioprinted Gewebe ermöglichen, sind erforderlich, um mögliche Lösungen zu bieten. Es ist zu erwarten, dass die unabhängige Forschung an Materialien und zellulären Biotinten für die Vaskularisierung allmählich den Platz für integriertere und ganzheitlichere Ansätze zur Entwicklung von Bioprintern für die vaskularisierte Gewebesynthese einnehmen wird.

### 10. Andere Gewebetypen

Zusätzlich zu den beschriebenen Gewebetypen arbeiten einige Wissenschaftler auch am Bioprinting von Netzhaut- und Hirngewebe, obwohl sich diese Studien noch auf einem frühen, grundlegenden Niveau befinden. Es wurde ein piezoelektrisches Inkjet-Bioprinting mit retinalen Ganglienzellen (RGCs) und Glia angewandt und die Auswirkung der Bioprinting-Parameter auf die Lebensfähigkeit der Zellen und ihre wachstumsfördernden Eigenschaften untersucht. Kürzlich wurde auch die manuelle Ablagerung von mit primären kortikalen Neuronen beladenem Gellan-Gummi-RGD zur Herstellung von hirnähnlichem Gewebe vorgestellt. Obwohl kein computergesteuertes Bewegungssystem verwendet wurde, demonstrierte die vorgestellte Arbeit zum ersten Mal die Verwendung des Schicht-für-Schicht-Ansatzes für die Herstellung von Hirngewebe.

## TRANSPLANTATION UND KLINIKEN

Die regenerative Medizin ist wahrscheinlich eine der spannendsten zukünftigen Anwendungen des 3D-Bioprinting. Wissenschaftler hoffen, dass mit dem Bioprinting Gewebe wie Haut direkt gedruckt und Organe, Gewebe und Strukturen für die Transplantation hergestellt werden können. Es wird angenommen, dass das 3D-Bioprinting erfolgreich für die Transplantation und Herstellung von mehrschichtigen Gewebetypen wie Nerven, Herz, Blutgefäße, Knochen und Haut eingesetzt werden

kann (Abb. 2). Forscher gehen davon aus, dass in Zukunft Gewebe und schließlich ganze Organe, die aus eigenen Zellen hergestellt wurden, an Patienten transplantiert werden könnten. Mit Hilfe des 3D-Bioprinting könnten Transplantatabstoßungen und lange Spenderlisten der Vergangenheit angehören. Darüber hinaus wurden zahlreiche Gewebekonstrukte bioprinted und subkutan implantiert, um die in vivo-Differenzierung von Zellen und die Funktionalität von Implantaten zu evaluieren. Trotz dieser Experimente wurde bisher keines der bioprinted Gewebe klinisch am Menschen eingesetzt, da noch keine Zulassung erteilt wurde. Es gibt keine Vorschriften für Bioprinter oder bioprinted Produkte. Angesichts des weltweit wachsenden Interesses und der aufstrebenden Unternehmen auf dem Bioprinting-Markt wird der Erfolg der ersten Technologie, die eine Regulierung durchläuft, jedoch beispielhaft für vorangehende Technologien und Produkte sein.

Obwohl die Bioprinting-Technologie in Kliniken noch in den Kinderschuhen steckt, wurden 3D-gedruckte Kunststoff-, Keramik- oder Metallimplantate für den Ersatz von Knochengewebe bereits erfolgreich in Menschen transplantiert. Zusätzlich zu den permanenten Implantaten wurde in einer kürzlich im New England Journal of Medicine veröffentlichten Arbeit ein einzigartiger Fall der Transplantation einer 3D-gedruckten bioresorbierbaren Atemwegsschiene in einen Säugling vorgestellt. Es wurden keine unerwarteten Probleme mit der Schiene beobachtet und es wird erwartet, dass die vollständige Resorption des Geräts etwa 3 Jahre dauert. Dies war ein beispielhafter Fall für den klinischen Einsatz von 3D-gedruckten Scaffolds und wird optimistischerweise zu ähnlichen Erfolgen mit bioprinted Geweben und Organen führen. Trotz der Erfolge in der Bioprinting-Forschung erfordert das Bioprinting für die Transplantation im Krankenhaus weitere Verbesserungen und translationale Anstrengungen. Es wird erwartet, dass Organe und Gewebe, die keine signifikante Vaskularisierung benötigen (z. B. Haut und Knorpel), sehr bald klinisch umgesetzt werden können. Gewebe und Organe, die metabolisch sehr aktiv sind (z. B. Herz, Bauchspeicheldrüse und Leber), stellen jedoch eine große Herausforderung dar.

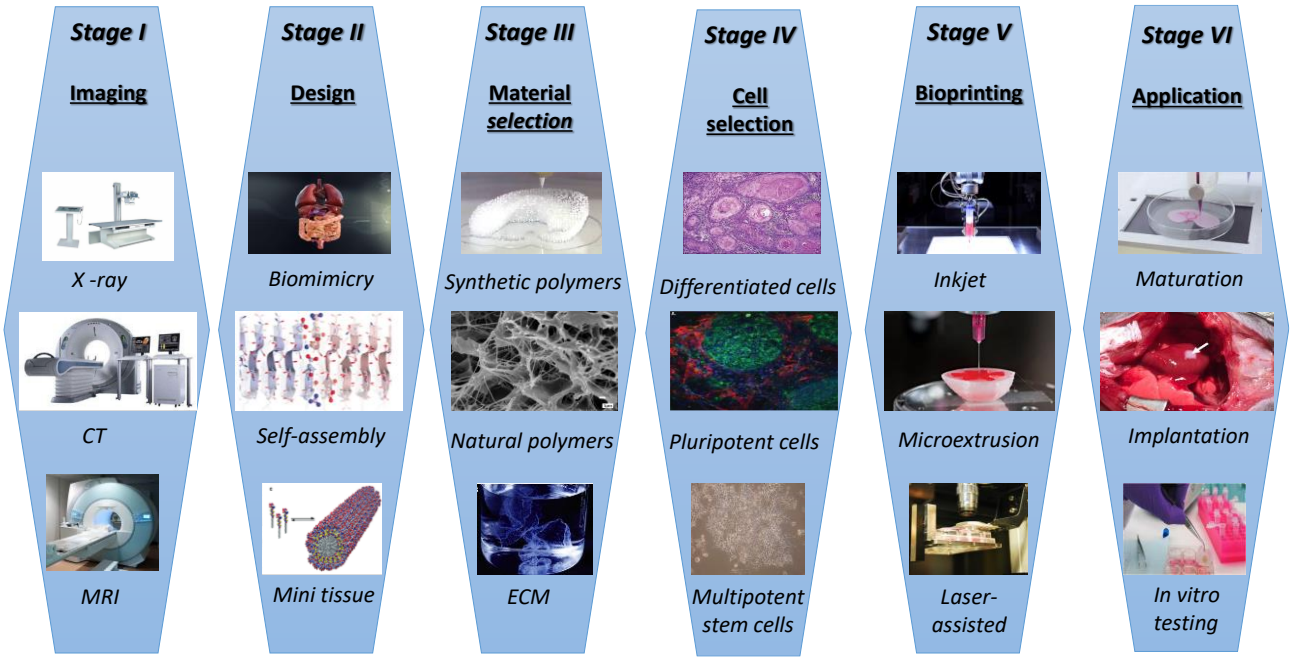



**Abbildung 2. 3D-Druck-Strategie**

Eines der Argumente für das klinische Translationspotenzial von bioprinted Geweben und Organen hat seinen Ursprung in der Bioprinting-Technologie selbst. Beim Bioprinting werden lebende Zellen in einer Biotinte eingesetzt, und die Verwendung von patientenspezifischen Zellen ist beim Bioprinting relativ neu. Stammzellen, wie z. B. embryonale Stammzellen und induzierte pluripotente Stammzellen, waren bisher eine perspektivisch unbegrenzte Quelle für patientenspezifische Zellen zur Herstellung von Geweben und Organen. Patientenspezifische Zellen können differenziert und dann bioprintet werden oder bioprintet und dann in mehrere Linien differenziert werden, um Gewebe und Organe zu konstruieren, die ein minimales Immunogenitätsrisiko verursachen.

## PHARMAZIE UND HOCHDURCHSATZ-SCREENING

Ein weiterer wichtiger Bereich, in dem das 3D-Bioprinting erfolgreich sein soll, ist die Medikamentenentwicklung. Die meisten Medikamententests werden derzeit mit Hilfe von 2D-Zellkulturen durchgeführt. Wie in der Krebsforschung simulieren diese Kulturen nicht das natürliche Zellverhalten. Xenografting (Transplantation von menschlichen Zellen) auf Tiere wird nun eingesetzt, um dieses Problem zu lösen. Dieser Ansatz ist jedoch aufgrund der biochemischen, metabolischen und

genetischen Unterschiede zwischen den Spezies eine Herausforderung. Es wird vermutet, dass diese Probleme der Hauptgrund für die hohe Misserfolgsrate bei der Bewertung der neuen Medikamentenkandidaten sind. Trotz ständiger Bemühungen, den Prozess der Medikamentenentwicklung zu verbessern, erreicht nur einer von 10.000 neuen chemischen Substanzen und einer von zehn Medikamentenkandidaten die klinischen Studien, die endgültige Zulassungsphase und kommt auf den Markt. Andererseits ist für die Verwendung von 3D-Bioprinting für pharmazeutische Tests anstelle von In-vivo-Studien keine behördliche Genehmigung erforderlich. Dadurch wird der Durchsatz der Medikamentenentwicklung möglicherweise um ein Vielfaches gesteigert. Unter den verschiedenen Methoden für das Engineering von 3D-In-vitro-Systemen hat das Bioprinting gravierende Vorteile, wie z.B. die Kontrollierbarkeit von Größe und Mikroarchitektur, die hohe Durchsatzkapazität, die Möglichkeit der Co-Kultur und das geringe Risiko einer Kreuzkontamination. Aus diesem Grund werden bioprinted Gewebe und Organe zunehmend als potenzielle Modelle für die Toxikologie und das Hochdurchsatz-Screening von Medikamenten in Betracht gezogen.

Leber- und Tumorgewebe sind ein Schwerpunkt bei der Konstruktion von Gewebemodellen für die Pharmazie gewesen. In diesem Zusammenhang wurde die Herstellung eines bioprinted Leber-Mikroorganmodells für den Arzneimittelstoffwechsel untersucht (Abb. 3). Das bioprinted 3D-Leber-Mikroorgan wurde für die Simulation der physiologischen Leberreaktion auf Medikamentenverabreichung und toxische Chemikalienexposition verwendet. Der Arzneimittelmetabolismus wurde durch die Umwandlung des nicht fluoreszierenden Pro-Drugs 7-Ethoxy-4-Trifluormethylcumarin (EFC) in den fluoreszierenden Metaboliten 7-Hydroxy-4-Trifluormethylcumarin (HFC) demonstriert. Epithelzellen und Hepatozyten, die in Matrigel™ eingekapselt sind, wurden verwendet, um den Weg des Wirkstoffs zu zeigen, der aus dem Blutkreislauf in das Gewebe diffundiert. Epithelzellen sind die Zellen, die das Lumen abdecken, durch das die Medikamente vom Blutstrom zum Ziel gelangen, wobei Hepatozyten als Zielzelltyp verwendet wurden. Basierend auf dem vorgestellten Gewebemodell wurde ein computergestütztes Makromodell unter Verwendung eines numerischen Rahmens für Konvektions-Diffusions-Zellkinetik entwickelt. Das neueste Modell erweist sich als sehr hilfreich für die zukünftige Forschung im Bereich der 3D-Mikroorganismen-Pharmakokinetik und Toxizität.

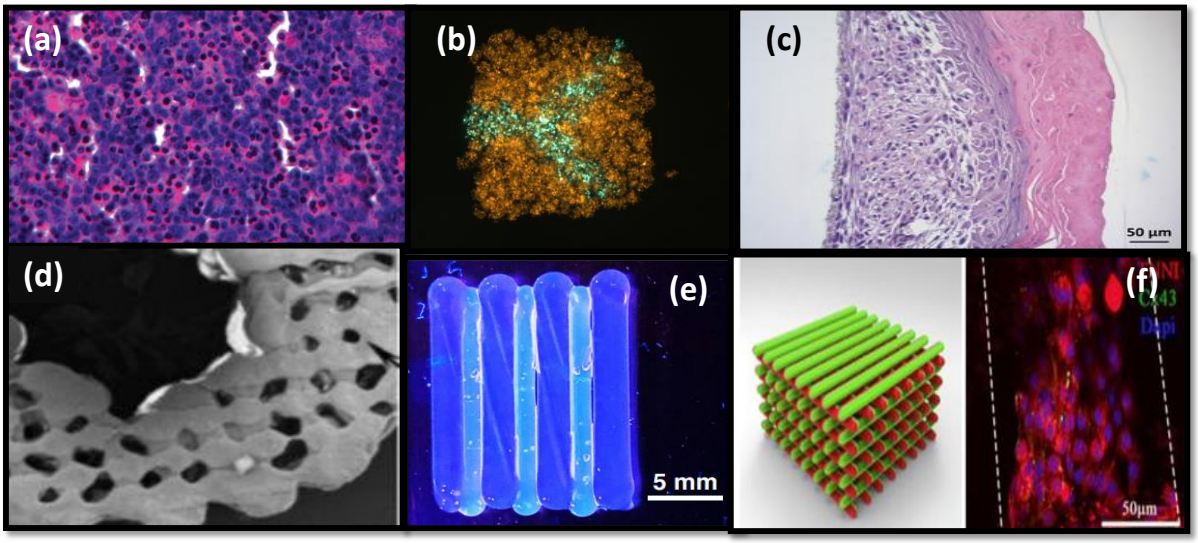



**Abbildung 3. Bioprinted Gewebemodelle für Medikamententests und Hochdurchsatz-Screening. (a) Bioprinted Lebergewebe. (b) Bioprinted-Nierengewebe (c) Bioprinted-Hautgewebe (d) 3D-Bioprinted-Knochenreparaturmaterial (e) gedrucktes zellhaltiges Hydrogel (f) multizelluläre 3D-Bioprinted-Herzgewebekonstrukte**

Sich entwickelnde mikrotechnische Technologien ermöglichen eine anpassungsfähige Produktion von zellbasierten 3D-Mikroarrays, einschließlich weicher Lithographie, Oberflächenstrukturierung, mikrofluidischer Manipulation und Bioprinting. Unter ihnen hat die Bioprinting-Technologie den Vorteil, Co-Kulturen und Einzelzell-Arrays mit präziser Kontrolle der Zelldichte herzustellen. In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde eine neuartige tintenstrahlbasierte Bioprinting-Methode für die Herstellung einer Miniaturplattform für das Screening von Medikamenten mit hohem Durchsatz verwendet. Die Autoren haben mit *Escherichia coli* beladenes Alginat bioprinted, um einen Chip auf Deckgläsern anzuordnen. Mittels Layer-by-Layer-Ansatz wurden Tröpfchen von drei Antibiotika auf die Zellflecken gedruckt. Die Ergebnisse zeigten eine ähnliche Zellviabilität, Funktionalität und antibakterielle Wirkung der Antibiotika in inkjet-bioprinted und mikropipettierten Proben. Damit erweisen sich die Inkjet-bioprinted High-Throughput Arrays als effektive Methode, um die Dauer typischer Wirkstoff-Screening-Tests zu minimieren. Weiterhin wurden zellbasierte Biosensoren (CBBs) vorgestellt, bei denen mittels akustischem Bioprinting ein Microarray aus glatten Muskelzelltröpfchen in Kollagen erzeugt wurde. Das bioprinted Microarray wurde dann verschiedenen Umgebungsbedingungen (z.B. Temperatur) ausgesetzt und der Effekt der applizierten Stimuli sowie der Bioprinting-Prozessparameter auf die Zellviabilität wurde bewertet. Neben dem 3D-Bioprinting von Zell-Microarrays mit hohem Durchsatz ist auch die kontrollierte Abgabe von Wirkstoffkandidaten in Zell-Microarrays ein wichtiger Faktor für ein effektives Wirkstoffscreening. Es wurden verschiedene

Methoden für die kontrollierte Wirkstoffabgabe auf Zell-Mikroarrays vorgeschlagen, einschließlich Wirkstoffmusterung, Wirkstoffstempeln, Aerosolsprays und mikrofluidische Wirkstoffbeladung.

## KREBSFORSCHUNG

Die immensen zukünftigen Möglichkeiten der 3D-Bioprinting-Technologie im biomedizinischen Bereich sind bereits gut dokumentiert. Einer der Bereiche, in dem sich Wissenschaftler vom 3D-Bioprinting einen Nutzen erhoffen, ist die Krebsforschung. Die Mikroumgebung des Tumors sowie die biologischen Strukturen und Substanzen, die den Tumor umgeben, sind ein wesentlicher Bestandteil des Krebsverhaltens und noch nicht vollständig verstanden. Bisher wurden für diese Untersuchungen Tiermodelle und 2D-Zellkulturen eingesetzt. Sie bilden jedoch das Verhalten menschlicher Krebszellen *in vivo*, das eine komplizierte Interaktion der Tumorzellen mit der zellulären Umgebung und anderen Zellen beinhaltet, nicht präzise ab. Neueste Forschungen legen nahe, dass 3D-Modelle das Verhalten von Tumorzellen genauer widerspiegeln, und das Bioprinting ist eine vielversprechende Technik, die bei solchen Studien zum Einsatz kommen könnte. Ein Vorteil, den das 3D-Bioprinting besitzt, ist, dass Zellen explizit in ein 3D-Modell mit seinen extrazellulären und strukturellen Elementen gestaltet werden können. Alternative Ansätze unterscheiden sich dadurch, dass sie eine Selbstmontage erfordern, die wesentlich zeitaufwändiger ist, oder ein Scaffolding, bei dem die Stützmatrix unabhängig von der Zellkultur entwickelt wird. Darüber hinaus bietet das 3D-Bioprinting sowohl die Möglichkeit, bestimmte Gewebe- und Zellstrukturen zu drucken als auch patientenspezifisch zu sein. Die Zellen eines Patienten können biopsiert, gezüchtet und bioprintet werden, entsprechende Strukturen hergestellt und das Ansprechen auf ein Medikament oder die effektive Dosis untersucht werden.

Der Einsatz des Bioprinting-Ansatzes in der Krebsforschung ist jedoch neu und es wurden nur wenige Studien in diesem aufstrebenden Anwendungsbereich durchgeführt. Zum ersten Mal wurde das Bioprinting von Tumorgewebe mit menschlichen Ovarialkarzinomzellen (OVCAR-5) und MRC-5-Fibroblasten demonstriert. In dieser Studie wurde eine Inkjet-basierte Bioprinting-Plattform mit Dual-Ejektoren verwendet. Der vorgeschlagene Ansatz stellte nicht nur ein Werkzeug für die Krebsforschung dar, sondern bot auch eine großartige Plattform für das Hochdurchsatz-Screening. Dieselben Forscher führten Bioprinting von HeLa-Zellen durch, um Gebärmutterhalstumormodelle zu bilden. Obwohl diese beiden Studien die Bioproduktion von Tumor-Sphäroiden mit Hilfe der Bioprinting-Technologie vorstellten, ist die Konstruktion größerer Gewebemodelle zur Untersuchung der Migration und Metastasierung von Krebszellen ebenfalls entscheidend. Ein anderer Ansatz konzentrierte sich auf die Verwendung eines laserbasierten 3D-Projektionsdrucksystems zum Bioprint von HeLa-Zellen und nicht krebsartigen 10 T1/2-Fibroblasten in PEGDA zusammen mit einem mikrovaskulären Netzwerk mit Kanalbreiten von 25, 45 und 120 μm, um Blutgefäßdurchmesser zu simulieren. Zusätzlich zu den gerüstbasierten Ansätzen wurde auch ein gerüstfreies Bioprinting eines Brustkrebsmodells mit der NovoGen Bioprinting™-Plattform durchgeführt. Bei diesem Versuch wurden Krebszellen von einem

physiologisch relevanten Stromamedium umgeben, das aus MSC-differenzierten Fettzellen, Brustfibroblasten und Endothelzellen besteht.

## SCHLUSSBEMERKUNGEN UND AUSBLICK

Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, dass das 3D-Bioprinting ein aufstrebender Ansatz ist, der eine breite Anwendung in verschiedenen Bereichen findet, einschließlich der Grundlagenforschung im Tissue Engineering, der regenerativen Medizin und der Krebspathogenese, dem Gewebe-Bioprinting für Transplantationen und Kliniken, und erfolgreich in der Pharmazie für Medikamententests und Hochdurchsatz-Screening eingesetzt werden könnte. Derzeit gibt es etwa 15 verschiedene Gewebetypen, die in unterschiedlichen experimentellen Studien verwendet werden. Es gibt jedoch noch einige andere menschliche Gewebe, die noch nicht angefasst wurden. In dieser Hinsicht müssen zukünftige Versuche im Bioprinting anderer Gewebe- und Organmodelle unternommen werden, die eine Herausforderung darstellen, aber die Medizin revolutionieren können. Dies hängt auch von den Innovationen auf dem Gebiet des Tissue Engineering ab, da die Bioprinting-Forschung entscheidend von unserem Verständnis unerforschter Gewebetypen abhängt. Darüber hinaus sollte sich eine der neuen Richtungen im Bioprinting auf die Biofabrikation neuer Arten von Organen konzentrieren, wie z. B. bionische Organe oder Organe, die in der Natur nicht existieren.

Der Großteil der 3D-Bioprinting-Forschung hat sich um homozelluläre Gewebemodelle mit einem einzigen Zelltyp entwickelt. Natives Gewebe hat jedoch eine heterozelluläre Natur mit mehreren Zelltypen, die in einer hochkomplexen Anatomie organisiert sind. Obwohl einfache Bioprinting-Gewebsmodelle in der Grundlagenforschung relativ akzeptabel sind, erfordert die Herstellung von funktionellem Gewebe für klinische oder pharmazeutische Studien die Einbeziehung mehrerer Zelltypen. So kann ein Teil der Funktionalität von Zellen durch Zell-Zell-Interaktionen ermöglicht oder weiter verstärkt werden. Daher erfordert das Bioprinting mehrerer Zelltypen weitere Untersuchungen zu den optimalen Kulturbedingungen einschließlich des richtigen Mediums und der Reagenzien, um ihr Wachstum und Verhalten zu unterstützen.

Heutige Versuche der Translation von Bioprinting in die Transplantation beschränken sich hauptsächlich auf Mausmodelle. Allerdings sind die Mausmodelle klein und die physiologischen Bedingungen unterscheiden sich deutlich von denen des Menschen. Zum Beispiel kann ein kleines Pankreasgewebe mit 3D-bioprinted Inseln in ein diabetisches Mausmodell implantiert werden und die Insulinsekretion regulieren. Andererseits ist das durchschnittliche Volumen der Inselchen in einer Mauspankreas etwa 100.000 Mal kleiner als in einer menschlichen Bauchspeicheldrüse. Daher ist das Bioprinting von Geweben und Organen im Maßstab 1:1 extrem wichtig, um sie in klinisch relevanten Dimensionen zu konstruieren. Größere Tiere wie ein Schweinemodell können ein Übergangsschritt zu Versuchen am Menschen sein, da diese Tiere der menschlichen Physiologie näher entsprechen als kleine Tiere. Um bioprinted Organe für den klinischen Einsatz zu skalieren, ist neben der mechanischen Festigkeit, Elastizität und strukturellen Langzeitstabilität auch die Herstellung von hierarchischen

Gefäßnetzwerken entscheidend. Zusätzlich ist die Integration von Nervengewebe und die Bildung von Innervation ein kritischer Schritt zur Herstellung von funktionellem Gewebe und Organen, da Gewebe wie Herz, Muskel und Haut Innervation benötigen, was derzeit eine Herausforderung beim Bioprinting darstellt. Der Großteil der Bioprinting-Forschung verwendet Hydrogel-basierte Biotinten, da sie eine günstige Umgebung für das 3D-Wachstum von Zellen darstellen. Allerdings haben Hydrogele schwache mechanische Eigenschaften, wenn sie in niedrigen Konzentrationen verwendet werden, um die Zellproliferation zu unterstützen. Darüber hinaus können biologisch abbaubare Materialien wie Thermoplaste als Hintergrundgerüst für das Scale-up von Geweben und Organen verwendet werden. Verfügbare Biomaterialien, wie z. B. synthetische Polymere, sind zwar stabil, aber ihr Abbau ist schwierig, zeitaufwendig und passt nicht genau zum Prozess der Geweberegeneration. Daher ist die Entwicklung neuer Biomaterialien entscheidend für den Fortschritt beim Bioprinting von Geweben und Organen für den klinischen Einsatz. Neben den Biomaterialien ist auch die Auswahl der richtigen Zellquelle ein kritischer Faktor für den erfolgreichen klinischen und pharmazeutischen Einsatz. Für die personalisierte Medizin ist es eine Herausforderung, verschiedene primäre Zelltypen zu erhalten. Stammzellen stellen eine vielversprechende Zellquelle dar. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um Standardprotokolle für die Differenzierung von Stammzellen in verschiedene stabile und funktionale Zelllinien zu etablieren.

Eine weitere prominente Art der Gewebeherstellung für das Hochdurchsatz-Screening sind die Miniatur-3D-Array-Plattformen wie Tissue-on-a-Chip- oder Organ-on-a-Chip-Modelle. Die Kombination der Bioprinting-Technologie mit anderen Technologien, wie z. B. der Mikrofluidik, ist für die Herstellung von physiologisch simulierten, komplexen und langfristig lebensfähigen Ziel-Mikroorganismen-Arrays unerlässlich. Die Anwendung von Technologien, die Pikoliter-Tropfen mit geringem Grad an Zellschädigung erzeugen und über Einzelzellsortierfähigkeiten verfügen, sollte beim Bioprinting von Zell-Mikroarrays gefördert werden. Die kontrollierte Abgabe von Medikamenten auf Zell-Mikroarrays sollte ebenfalls in Betracht gezogen und umgesetzt werden.

Obwohl bereits mehrere Versuche unternommen wurden, die Mikroumgebung von Krebszellen mit Hilfe der Bioprinting-Technologie nachzubilden, sind weitere Fortschritte erforderlich, um eine physiologisch relevante, vollständige Mikroumgebung zu konstruieren, die den Tumorbereich, den gesunden Bereich und das dazwischen liegende mikrovaskuläre Netzwerk umfasst, um Krebsmetastasenforschung zu betreiben. Tumorgewebe-Modelle sollten präzise in bioprinted vaskularisierten parenchymalen Geweben platziert werden, um ihr Wachstum, die Intravasation und Extravasation von Tumorzellen zu untersuchen.

# Verweise

AZoMaterials. 3D bioprinting and its applications (2018). https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=17370

Bhise NS et al. 2014. Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. Journal of Controlled Release. doi:10.1016/j.jconrel.2014.05.004

Harris M. 2018. Print me an organ. https://physicsworld.com/a/print-me-an-organ/

Liang M, Yutong W, Li Y, et al. 2020. Current Advances on 3D-Bioprinted Liver Tissue Models. Adv. Healthcare Mat., doi: 10.1002/adhm.202001517

Murphy SV, Atala A. 2014. 3D bioprinting of tissues and organs. Nat. Biotechnol., 32: 773–785.

Varotto A. 2015. Global Market for 3D Printing., BCC Research, ISBN: 1-62296 -006-8

Ozbolat IT, Peng W, Ozbolat V. 2016. Application areas of 3D bioprinting. Drug Discovery Today. doi:10.1016/j.drudis.2016.04.006

Park JY, Jang J, Kang HW. 2018. 3D Bioprinting and its application to organ-on-a-chip. Microelectron. Eng.. doi:10.1016/j.mee.2018.08.004

Wang C, et al. 2014. Three-dimensional *in vitro* cancer models: a short review. Biofabrication, doi: 10.1088/1758-5082/6/2/022001.

Yao R, et al. 2016. Three-dimensional printing: review of application in medicine and hepatic surgery. Cancer Biol Med

Grigoryan B, Paulsen S, Corbett D, et al. 2019. Functional intravascular topologies and multivascular networks within biocompatible hydrogels. Science, 464: 458-464.

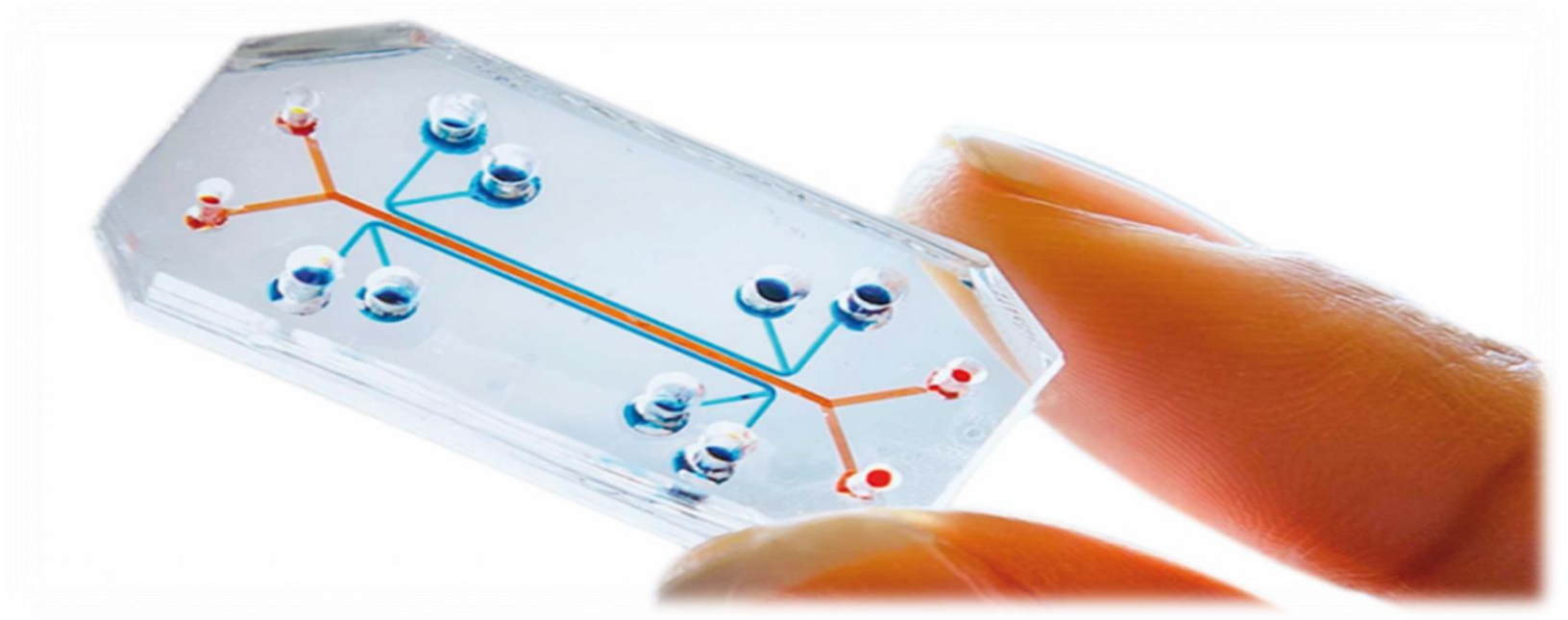
Augustine R. 2018. Skin bioprinting: a novel approach for creating artificial skin from synthetic and natural building blocks. Prog Biomater., 7: 77–92.

Datta P, Ayanb B, Ozbolat IT. 2017. Bioprinting for vascular and vascularized tissue biofabrication. Acta Biomaterialia, 51: 1-20.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***

DIGIT~Bio~TECH



# LO3 BIOSENSOREN & BIOCHIPS FÜR EINE NACHHALTIGE ZUKUNFT

***Fortgeschrittenes Niveau***

AUTOR:

**TSVETINA MIHAILOVA & KLIMENT PETROV**

# Inhalt

Biosensoren & Biochips-Technologien: Beitrag zum nachhaltigen Leben der Zukunft ..... 3
Biosensoren & Biochips: Fortschritte in der medizinischen Diagnostik ..... 4
1. Glukose-Biosensoren im Diabetesmanagement ..... 6
2. Erkennung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen mit Biosensoren ..... 7
3. Biosensor zur Erkennung von Krebs ..... 8
4. Biochip in der Diagnostik ..... 9
5. Biochip bei Tuberkulose-Epidemie ..... 10
6. Biochip bei Krebs ..... 10
Biosensoren & Biochips für Lebensmittel und Landwirtschaft ..... 11
1. Nanomaterialien in der Biosensorik ..... 13
2. Nährstoff- und Qualitätsnachweis ..... 14
3. Nachweis von Krankheitserregern ..... 14
4. Nachweis von Toxinen ..... 16
Biosensoren & Biochips für die Umweltüberwachung ..... 18
1. Pestizide ..... 19
2. Krankheitserreger ..... 20
3. Potenziell giftige Elemente ..... 20
4. Giftstoffe ..... 21
5. Endokrin wirksame Chemikalien ..... 22
6. Andere Umweltverbindungen ..... 23
Verweise ..... 23

# Biosensoren & Biochips-Technologien: Beitrag zum nachhaltigen Leben der Zukunft

Das Gebiet der synthetischen Biologie ist in den letzten zehn Jahren explodiert und hat einen großen Einfluss auf Bereiche wie Metabolic Engineering, Protein Engineering, Digital Biology und Whole Genome Engineering. Im Rahmen von iterativen „Design-Build-Test"-Entwicklungszyklen hat ein bedeutender Teil der Innovationen der synthetischen Biologie stattgefunden. Im Bereich der Synthetischen Biologie kann Fortschritt mit Innovationen in jedem der Prozesse „Design", „Build" und „Test" verbunden werden. So gab es beispielsweise einen großen Vorstoß zur Standardisierung von Elementen innerhalb der synthetischen Biologie, wobei der Modularität und „Plug-and-Play"-Komponenten große Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Diese Modularisierung hat zusammen mit dem beschleunigten Fortschritt in der Systembiologie ermöglicht, dass die „Design"-Phase weniger zeitaufwändig und weniger abhängig von fortgeschrittenem Wissen ist. In den vergangenen Jahren sind die Kosten für die DNA-Sequenzierung und -Synthese ebenfalls dramatisch gesunken, was die kostengünstige Synthese großer Konstrukte ermöglicht. In der Bauphase hat dies eine schnelle Verbesserung ermöglicht und den Forschern geholfen, einen größeren Anteil des Raums der biologischen Lösung zu untersuchen. Schließlich ist innerhalb der „Test"-Phase der synthetischen Biologie auch das Hochdurchsatz-Screening in den Fokus gerückt. Das gestiegene „Design"- und „Build"-Potenzial hat zu einem erhöhten Erfolgsanspruch bei der Bewertung der Fülle neuer Designs beigetragen. Dies wiederum geschah durch die Einbindung von Robotern und Hochdurchsatzanalytik in das Laborumfeld, in dem neue Modelle auf einem Niveau evaluiert werden können, das für menschliche Forscher nicht erreichbar ist. Dadurch können große Konstrukte kostengünstig synthetisiert werden. In der Bauphase hat dies eine schnelle Verbesserung ermöglicht und den Forschern geholfen, einen größeren Anteil des Raums der biologischen Lösung zu untersuchen. Schließlich ist innerhalb der „Test"-Phase der synthetischen Biologie auch das Hochdurchsatz-Screening in den Fokus gerückt.

Biosensoren stellen eine bahnbrechende neue Technologie für das Hochdurchsatz-Screening dar, die implementiert werden kann. Genauer gesagt werden sie als analytisches Werkzeug klassifiziert, das aus biologischen Komponenten besteht, die zum Nachweis und zur Erzeugung eines Signals für die Anwesenheit eines Zielliganden verwendet werden. Die Synthetische Biologie steht an der Spitze der Biosensorik, sowohl als Werkzeug für das Hochdurchsatz-Screening, als auch als direktes Ergebnis von Entwicklungen auf dem Gebiet der Synthetischen Biologie selbst. Darüber hinaus haben Biosensoren aufgrund der beispiellosen Spezifität und Sensitivität, die biologische Teile im Vergleich zu herkömmlichen analytischen Methoden bieten, zunehmendes Interesse als Alternativen zur traditionellen Analytik gewonnen.

Das Design und der Bau von Biosensoren ist ein multidisziplinäres Unterfangen und kann Expertise in Bereichen wie Proteinengineering, Molekularbiologie, Affinitätschemie, Molekulardynamik von Nukleinsäuren, Materialwissenschaften und Nanotechnologie umfassen. Biosensoren verbinden sich in ihrem einfachsten Stadium mit einem Zielliganden, erfahren irgendeine Art von Modifikation und geben ein Signal aus. In allen Teilen dieses Prozesses gibt es eine große Vielfalt an möglichen Konfigurationen. Zielliganden reichen von einzelnen Atomen wie Calcium bis hin zu ganzen Proteinen wie Thrombin. So unterschiedliche Prozesse wie enzymatische Aktivität, Fluoreszenz, Erzeugung von elektrischem Strom und transkriptionelle Aktivität umfassen Ausgangssignale. Ebenso vielfältig sind die Mechanismen, die die Ligandenerkennung in funktionelle Signale umwandeln.

Im Bereich der Analytik stellen Biosensoren einen bedeutenden Fortschritt dar. Um die Analytik weg von rein physik- oder chemiebasierten Frameworks zu bewegen, hat die Integration biologischer Komponenten in die sensorische Diagnostik begonnen. Dies hat analytische Funktionen ermöglicht, die nicht gut an konventionelle Verfahren angepasst sind, um eine große Vielfalt und Spezifität biologischer Komponenten durchzuführen. Die theoretischen und demonstrierten Biosensoranwendungen decken einen bedeutenden Bereich der menschlichen Gesellschaft und Aktivität ab. Biosensoranwendungen werden je nach Messbereich in drei große Kategorien eingeteilt.

- Gruppendiagnostik: Umwelt-, Landwirtschafts- und Industrieanwendungen
- Point-of-Use-Diagnostik: Medizin- und Sicherheitsanwendungen
- Einzelzelldiagnostik: Metabolic Engineering und Anwendungen der synthetischen Biologie

## BIOSENSOREN & BIOCHIPS: FORTSCHRITTE IN DER MEDIZINISCHEN DIAGNOSTIK

Biosensoren bestehen aus einem Biokatalysator, der ein biologisches Element erkennen kann, und einem Transducer, der das Auftreten der Biokatalysator- und der biologischen Elementkombination in einen messbaren Parameter umwandeln kann.

Der Biokatalysator kann über Biomoleküle wie Enzyme, DNA, RNA, Metabolite, Zellen, Oligonukleotide usw. und elektrochemische, kalorimetrische, optische, akustische, piezoelektrische usw. der Wandler sein. Biosensoren, die immobilisierte Zellen, Enzyme und Nukleinsäuren verwenden, sind in den letzten Jahren in der Krankheitsdiagnostik auf den Markt gekommen. Für die Entwicklung krankheitsdiagnostischer Biosensoren wurden auch Nanobiosensoren verwendet, die die ultrakleine Größe und die einzigartigen Eigenschaften nutzen. Der Einsatz von Biosensoren kann schnell den Gesundheitszustand, den Ausbruch und das Fortschreiten der Erkrankung bestimmen und mit Hilfe einer multidisziplinären Kombination aus Chemie, Medizin und Nanotechnologie helfen, die Behandlung

vieler Krankheiten vorzubereiten. Die Geräte sind kostengünstig, reaktionsschnell, schnell, benutzerfreundlich und können in großen Mengen für den menschlichen Gebrauch hergestellt werden.

Solche von Cammann geprägten Biosensoren sind analytische Instrumente, die ein elektrisches Signal in eine biologische Reaktion umwandeln. Biosensoren können in der Regel hochpräzise sein und sollten recycelbar und unabhängig von physikalischen Grenzen wie pH, Temperatur sein. Ein praktischer Ansatz zum Design eines Biosensors erfordert Herstellungs-, Immobilisierungs- und Transduktionsgeräte, die multidisziplinäre Forschungstechniken sowohl in der Chemie als auch in der Biologie bieten.

Aufgrund ihres Wirkmechanismus werden die diagnostischen Biosensoren in vier große Gruppen eingeteilt:

1. Enzymbasierte biokatalytische Biosensoren
2. Bioaffinitätsgruppe, dh Anwesenheit von Antikörper, Antigen und Nukleinsäure
3. Mikroben, dh Mikroorganismen enthaltende Biosensoren
4. Nanosensoren, dh aktive Nanopartikelsensoren, die typischerweise die Sensitivität und Spezifität für die Früherkennung von Krankheiten erhöhen.

Diese verschiedenen Arten von Biosensoren helfen dabei, Hormonspiegel, Medikamente, Toxine, Schadstoffe, Schwermetalle, Pestizide usw. mit signifikanter Spezifität zu identifizieren.

Biosensoren sind Werkzeuge, die üblicherweise biologische Markerniveaus oder jede chemische Reaktion schätzen, indem sie Signale erzeugen, die hauptsächlich mit der Konzentration eines Analyten in der chemischen Reaktion in Verbindung stehen. Typischerweise helfen solche Biosensoren bei der Überwachung von Krankheiten, der Entdeckung von Medikamenten, der Erkennung von Schadstoffen, der Erkennung von Bakterien, die Krankheiten verursachen, und Markern, die normalerweise auf Krankheitszustände wie Körperflüssigkeiten (Speichel, Blut, Urin, Schweiß usw.) hinweisen. Ein typischer Biosensor ist in Abbildung 1 Gezeigt.

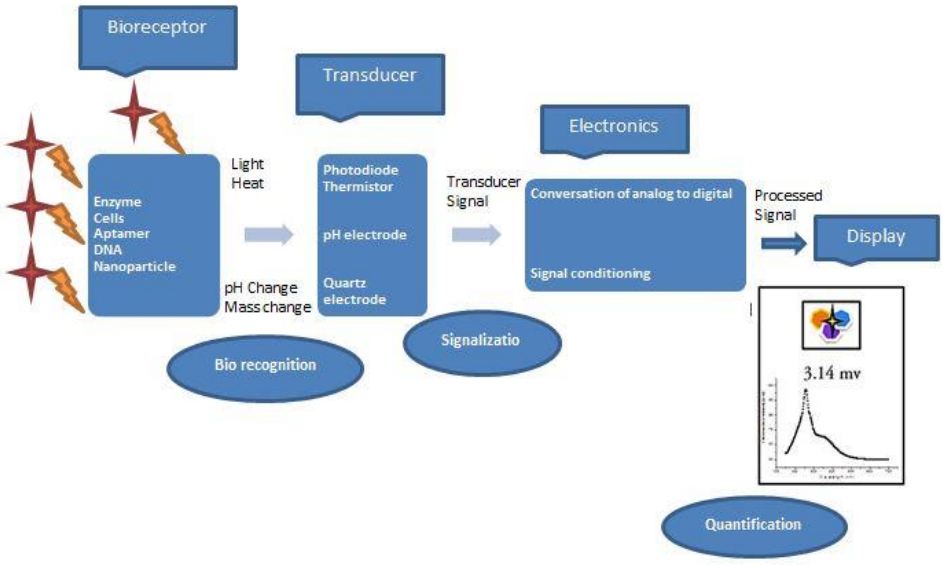



**Abbildung 1. Schematische Darstellung des Biosensors**

Ein typischer Biosensor besteht aus:

1. Analyt: Eine Substanz von Interesse, wie Glukose für Diabetes, die bestimmt werden muss.
2. Biorezeptor: Ein Biorezeptor für Enzyme kann ein Molekül sein, das den Analyten erkennt.
3. Transducer: Normalerweise wird ein Bioerkennungsereignis in ein nachweisbares Signal umgewandelt, das als Signalisierung bezeichnet wird.
4. Elektronik: In Anzeigeform verarbeitet sie typischerweise das umgewandelte Signal.
5. Anzeige: Typischerweise ergibt sich die Flüssigkristallanzeige in Kombination mit Hard- und Software zur Biosensorgenerierung benutzerfreundlich.

Es gibt mehrere Biosensoranwendungen, die in verschiedenen Bereichen eingeführt wurden, z. B. in der Medizin, im Meeressektor, in der Lebensmittelindustrie usw., und diese Biosensoren sind oft auf eine verbesserte Empfindlichkeit und Linearität im Vergleich zu herkömmlichen Methoden programmiert. Die Anwendung von Biosensoren nimmt jedoch im Bereich der Medizin immer mehr zu.

## 1. Glukose-Biosensoren im Diabetesmanagement

Die Blutzuckerüberwachung ist zu einem wertvollen Instrument bei der Behandlung von Diabetes geworden, und die täglichen Blutzuckerspiegel werden typischerweise von konsultierten Klinikern aufrechterhalten, die eine Reihe von Blutzuckersensoren entwickelt haben. Diabetes mellitus

ist die größte vorherrschende endokrine Störung des Kohlenhydratstoffwechsels mit einer höheren Morbidität und Mortalität in Entwicklungsländern. Bei Diabetikern sind Mehrfachtests zur Untersuchung und Überwachung von Diabetesmarkern üblich. Die wichtigsten Diagnosekriterien für Diabetes sind der Blutzuckerspiegel, zu dem auch die Selbstkontrolle des Blutzuckerspiegels durch Diabetiker gehört. Studien haben gezeigt, dass mikrovaskuläre (Nephropathie, Neuropathie und Retinopathie) und makrovaskuläre (koronare Herzkrankheit und Schlaganfall) Komplikationen durch Kontrolle des Blutzuckerspiegels im normalen Bereich verbessert werden können. Die Blutglukose wird bei gesunden Personen typischerweise im Bereich von 4,9-6,9 mM beobachtet und kann bei Diabetikern nach der Glukoseaufnahme auf bis zu 40 mM ansteigen. Obwohl verschiedene Arten von Glukosesensoren im Handel erhältlich sind, wird die dritte Generation von Glukose-Biosensoren gezeigt in Figur 2 als Beispiel.

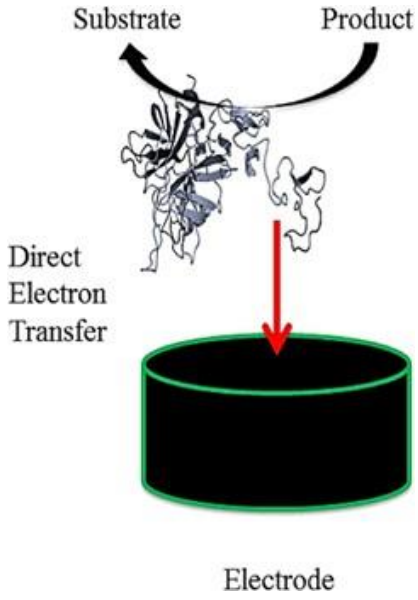



**Abbildung 2. Glukose-Biosensor der dritten Generation**

## 2. Erkennung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen mit Biosensoren

Die Zahl der weltweit durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen (CVD) verursachten Todesfälle ist beträchtlich und mehr Menschen sterben an CVD als an jeder anderen Krankheit. Bis 2015 starben etwa 17,7 Millionen Menschen an Herz-Kreislauf-Erkrankungen, was insgesamt 31 % aller weltweiten Todesfälle entspricht. 7,4 Millionen davon waren auf eine koronare Herzkrankheit und 6,7 Millionen auf einen Schlaganfall zurückzuführen. Durch Medikamente und Therapie muss eine Person mit CVD früher erkannt und behandelt werden. Die aktuelle Strategie zur Erkennung von CVD basiert auf der traditionellen Methode, die normalerweise auf Tests basiert, die viele Stunden oder sogar Tage dauern

können. Die WHO legt diese diagnostischen Kriterien fest, unter denen Patienten mindestens eine der Bedingungen wie Veränderungen im diagnostischen Elektrokardiogramm (EKG), Erhöhung biochemischer Marker in ihren Blutproben und charakteristische Brustschmerzen verfolgen sollten. Das EKG ist ein wichtiger Parameter für das Therapiemanagement, jedoch ist das EKG bei CVD ein schlechter diagnostischer Test, da die Hälfte der CVD-Patienten ein normales Kardiogramm aufweist, was die Diagnose dieser Erkrankung erschwert. Biosensoren helfen bei der schnellen Diagnose, bieten eine hervorragende Gesundheitsversorgung und reduzieren die Verzögerungszeit für die Verteilung der Ergebnisse, die für die Patienten eine immense Belastung darstellen kann.

## 3. Biosensor zur Erkennung von Krebs

Krebs ist eine der tödlichsten Krankheiten, und mehrere Forscher haben kürzlich Biosensoren zur Krebsfrüherkennung entwickelt. Die meisten Krebsarten werden typischerweise durch MRT-, Ultraschall- oder Biopsiemethoden diagnostiziert, die auf den physikalischen Eigenschaften und dem Vorhandensein des Tumors beruhen und entweder fortschrittliche oder invasive Instrumente identifizieren. Die Variationen der Gensequenzen, also Mutationen, verursachen in erster Linie Krebs und erfordern daher eine frühzeitige Diagnose, bevor die Krankheit fortschreitet. Die Krebsfrüherkennung macht die Behandlung schneller und erfolgreicher und eröffnet eine Biosensor-Plattform zur Erkennung von Krebsfrühstadien. Viele Experten gehen davon aus, dass bei Krebs eine Früherkennung möglich sein könnte, da Auffälligkeiten in der chemischen und genetischen Zusammensetzung lange vor Ausbruch der Krankheit erkannt werden können. Unkontrolliertes und unregelmäßiges Zellwachstum, das allgemein für Krebs gehalten wird, tritt aufgrund der Anhäufung einzigartiger genetischer Mutationen und epigenetischer Defekte auf. Die Tumorzellen sind resistent gegen Apoptose und die körpereigenen Abwehrmechanismen gegen Wachstum. Wenn es fortschreitet und beginnt, sich auf andere Körperorgane und -systeme auszudehnen, dh im Stadium der Metastasierung, wird der Krebs unheilbar. Die onkogene Stimulation und die Einschränkung der Funktion von Tumorsuppressorgenen (TSGs) sind die beiden wichtigsten Tumorentstehungsmechanismen. Aufgrund der Mutation oder Replikation eines normalen Gens (Proto-Onkogen) findet eine Aktivierung des Onkogens statt, das Schlüsselrollen einschließlich der Kontrolle des Zellwachstums, der Proliferation und/oder der Differenzierung spielt. Eine solche genetische Mutation führt das Gen dazu, eine überschüssige Menge seines Genprodukts zu produzieren, was zu einer Fehlregulation der Zellteilung, des Zellwachstums und der Tumorbildung führt. Viele Onkogene gelten als vielversprechende Krebsbiomarker für Wachstumsfaktorrezeptoren. Bei ~ 33 % aller Brustkrebserkrankungen ist der humane epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor Her-2 verstärkt, und Krebserkrankungen mit verstärktem Her-2 scheinen sich schneller zu entwickeln und zuzunehmen. Die Kenntnis des Her-2-Status ist daher für den Abschluss eines möglichen Medikationsverlaufs unerlässlich. Trastuzumab ist heute eine typische adjuvante Therapie für Patienten mit dieser Art von verstärkter Genexpression, ein rekombinanter humanisierter monoklonaler Antikörper, der auf Her-2 als unkomplizierte Behandlung von Brustkrebs abzielt. TSGs stehen im Zusammenhang mit der Kontrolle

von unzureichendem Zellwachstum und -proliferation durch Minimieren oder Verhindern der Zellteilung. Retinoblastomprotein (Rb), BRCA1/2 und p53 sind drei der gut untersuchten TSGs bei Krebs. Rb ist ein Hauptregulator der Zellteilung, und Rb-Mutation spielt bei verschiedenen Krebsarten eine bedeutende Rolle. Die häufigsten Ursachen für die Inaktivierung des Rb1-Gens sind Punktmutationen und Deletionen. BRCA1 ist ein DNA-Reparaturenzym, das mit dem „Korrekturlesen" von neu replizierter DNA auf Genauigkeit und Mutationensuche in Verbindung gebracht wird. Bis sich die Zelle teilt, arbeiten DNA-Reparaturenzyme normalerweise daran, Replikationsfehler auszuschneiden. BRCA1-Genmutationen sind für 50 % der erblichen Brustkrebserkrankungen und 80-90 % der erblichen Brust- und Eierstockkrebsarten verantwortlich. Schließlich ist das p53-Protein ein Hauptregulator der Apoptose oder des programmierten Zelltods. In Gehirn, Brust, Dickdarm, Lunge, hepatozellulären Karzinomen und Leukämie werden p53-Mutationen gefunden. Eine weitere signifikante Beteiligung am p53-Verlust besteht darin, dass er zum Resistenzmechanismus von Chemotherapeutika führt.

## 4. Biochip in der Diagnostik

Der DNA-Biochip eröffnet ein neues genetisch basiertes Feld der Diagnostik. Die Art und Weise, wie die Mediziner Bluttests durchführen, könnte durch einen neu entwickelten DNA-Biochip revolutioniert werden. Mit dem streichholzschachtelgroßen Biochip sind sie praktisch sofort da, ohne dass ein Patient mehrere Tage auf Ergebnisse aus einem Labor warten muss. Und ohne Einbußen bei der Genauigkeit erfordert es weniger Blut. Der DNA-Biochip reduziert den Bedarf an radioaktiven Markierungen für den Nachweis und spart zusätzlich Zeit. Für Techniker und Labormitarbeiter, die Proben handhaben und Tests durchführen, reduziert dies die Kosten und zukünftige Auswirkungen auf die Gesundheit erheblich. Es senkt auch die Entsorgungskosten, das nach strengen Vorschriften mit chemisch gekennzeichnetem Blut gehandhabt werden muss.

Ein Biosensor muss hochempfindlich und in der Lage sein, beispielsweise zwischen Bakterien, Viren oder anderen chemischen oder biologischen Spezies zu unterscheiden, um zum Nachweis von Verbindungen in einer Probe aus dem wirklichen Leben nützlich zu sein. Laut Vo-Dinh, der klarstellte, dass der Biochip die ausgeklügelten Erkennungsfähigkeiten eines lebenden Systems nachahmt, tun dies DNA-Biochips. Der DNA-Biochip ist ein auf Gensonden basierender Biosensor, im Gegensatz zu anderen Biosensoren, die auf Enzym- und Antikörpersonden basieren. Biosensoren auf Gensondenbasis bieten eine außergewöhnliche Selektivität und Sensitivität, was sie zu wertvollen Werkzeugen für die Diagnose genetischer Krankheiten und infektiöser Arten macht.

## 5. Biochip bei Tuberkulose-Epidemie

Die Entwicklung neuer Biochip-Technologien durch russische und amerikanische Wissenschaftler könnte Hoffnung machen, das weltweite Wiederaufleben der Tuberkulose zu stoppen. Die Technologie wurde vom Argonne National Laboratory des US-Energieministeriums und dem WA Englehardt Institute of Molecular Biology (Moskau) der Russischen Akademie der Wissenschaften entwickelt und soll helfen, die derzeitige Vielfalt arzneimittelresistenter Stämme der Krankheit zu bekämpfen.

Die Weltgesundheitsorganisation berichtet, dass an Tuberkulose mehr junge Menschen und Erwachsene sterben, einschließlich AIDS und Malaria zusammen, als an jeder anderen Infektionskrankheit. Die größte Herausforderung der anhaltenden Tuberkulose-Epidemie besteht darin, dass die Krankheit durch mehrere verschiedene Bakterienarten verursacht werden kann und jede einzelne gegen verschiedene Medikamente resistent ist. Das entscheidende Element bei der Kontrolle der Krankheit besteht darin, den Stamm zu bestimmen, der einen bestimmten Patienten betrifft, und das beste Antibiotikum zur Bekämpfung dieses Stamms zu bestimmen. Um zwischen zahlreichen Tuberkulose-Stämmen zu unterscheiden, will Argonne die Biochip-Technologie in der Forschung einsetzen. Zunächst würden Tests an Segmenten von genetischem Material durchgeführt, die Tuberkulosebakterien entnommen wurden. Biochips sind so konzipiert, dass sie gleichzeitig eine Reihe biochemischer Reaktionen durchführen und haben sich in Labortests als zufriedenstellend erwiesen. Da der Nachweis bestimmter Tuberkulosestämme Wochen oder Monate dauert, werden Patienten häufig mehrere Antibiotika gleichzeitig verschrieben.

## 6. Biochip bei Krebs

Die Biosensor-Chip-Technologie bietet auch schnellen und einfachen Zugang zu wichtigen Informationen über krebserregende DNA-Schäden, die die Forscher im Kampf gegen Krebs einen Schritt näher bringen. Im Gegensatz zu herkömmlichen Methoden der Biosensorik bietet eine laserbasierte, hochauflösende und Niedertemperatur-Fluoreszenzmethode einen präzisen Fingerabdruck des Moleküls. Möglicherweise fördert die einfache Handhabung den Ersatz invasiver endoskopischer Verfahren und hilft, Dickdarmkrebs frühzeitig zu erkennen.

# BIOSENSOREN & BIOCHIPS FÜR LEBENSMITTEL UND LANDWIRTSCHAFT

Die heutige Nahrungsmittelproduktion steht vor immensen Herausforderungen durch die wachsende Bevölkerung, die Erhaltung sauberer Ressourcen und Nahrungsmittelqualität sowie den Schutz von Umwelt und Klima. Lebensmittelnachhaltigkeit ist hauptsächlich eine gemeinsame Anstrengung, die zur Entwicklung von Technologien führt, die sowohl von Regierungen als auch von Unternehmen finanziert werden. Mehrere Versuche wurden unterstützt, um Herausforderungen zu überwinden und die Triebkräfte in der Lebensmittelproduktion zu verbessern. Biosensoren und Biosensor-Technologien werden über ihre Anwendungen weit verbreitet eingesetzt, um die großen Herausforderungen der Lebensmittelproduktion und deren Nachhaltigkeit zu lösen. Dadurch steigt der Bedarf an Biosensorik im Bereich der Lebensmittelnachhaltigkeit. Die Mikrofluidik definiert ein technologisches System, das mehrere Technologien kombiniert. Nanomaterialien mit ihrer Biosensor-Technologie, ist bekannt als das innovativste Instrument, das mit der Weltbevölkerung im Umgang mit Gesundheits-, Energie- und Umweltfragen eng verbunden ist. Der Bedarf an Point-of-Care-Technologie (POC) in diesem Bereich konzentriert sich auf Analysewerkzeuge, die schnell, einfach, präzise, kompakt und kostengünstig sind.

Für unsere Existenz und unser Leben ist Nahrung mit ihrer Produktionsindustrie unerlässlich; und ihre Nachhaltigkeit ist für das kontinuierliche menschliche Wachstum auf dem Planeten von wesentlicher Bedeutung. Die gegenwärtige Nahrungsmittelproduktion steht vor immensen Schwierigkeiten durch die Zunahme der menschlichen Bevölkerung, die Erhaltung sauberer Ressourcen und Nahrungsmittelqualität sowie den Schutz von Umwelt und Klima. Einige dieser Probleme stammen aus der Lebensmittelproduktion selbst; andere stammen aus anderen mit der Lebensmittelproduktion verbundenen Industrien. Lebensmittelrückrufe zum Beispiel verursachen mit schätzungsweise 15 Millionen US-Dollar pro Vorfall in den letzten Jahren großen Schäden für die Glaubwürdigkeit und das Prestige von Lebensmittelmarken. 48 Millionen Krankheitsfälle sind jährlich für 3000 Todesfälle durch lebensmittelbedingte Krankheiten verantwortlich.

Lebensmittelsicherheit ist weitgehend eine gemeinsame Anstrengung von Regierungen und Unternehmen in der Technologieentwicklung. Um neue Herausforderungen in Fragen der Lebensmittelsicherheit zu stellen, können Informationstechnologien wie die Blockchain-Technologie die Kommunikation zwischen Lebensmittelqualität, Medien und Verbrauchern beschleunigen. Fünf Herausforderungen können als die Hauptherausforderungen bei der Nachhaltigkeit der Lebensmittelproduktion zusammengefasst werden: die Herausforderung der Lebensmittelsicherheit bei der Produktion; die Qualitätsherausforderung der Lebensmittelvielfalt und -qualität; die wirtschaftliche Herausforderung im führenden Lebensmittelsystem, einschließlich seiner Verpackung und Lieferkette; die Umweltherausforderung, einschließlich der Verarbeitung von Lebensmittelabfällen; und die technische Herausforderung bei der Schaffung und Erzeugung neuartiger Lebensmittel.

Grundsätzlich ist ein Biosensor ein analytisches Instrument, das verwendet wird, um das interessierende Molekül (Ziel) einer Probe zu messen. Im Allgemeinen wird ein für das Ziel einzigartiger Bioerkennungsfaktor (Aptamer, Antikörper, Enzym usw.) verwendet. Durch molekulare Erkennungsereignisse zwischen dem Erkennungselement und der Zielverbindung wird ein physikalisch-chemisches oder biologisches Signal ausgelöst, das durch den Transducer in eine messbare Größe umgewandelt wird. Die Signale werden entweder optisch (kolorimetrisch, Fluoreszenz, Chemilumineszenz und Plasmonenoberflächenresonanz) oder elektrisch (Voltammetrie, Impedanz und Kapazität) oder in jedem anderen gewählten Format angezeigt (Abbildung 3).

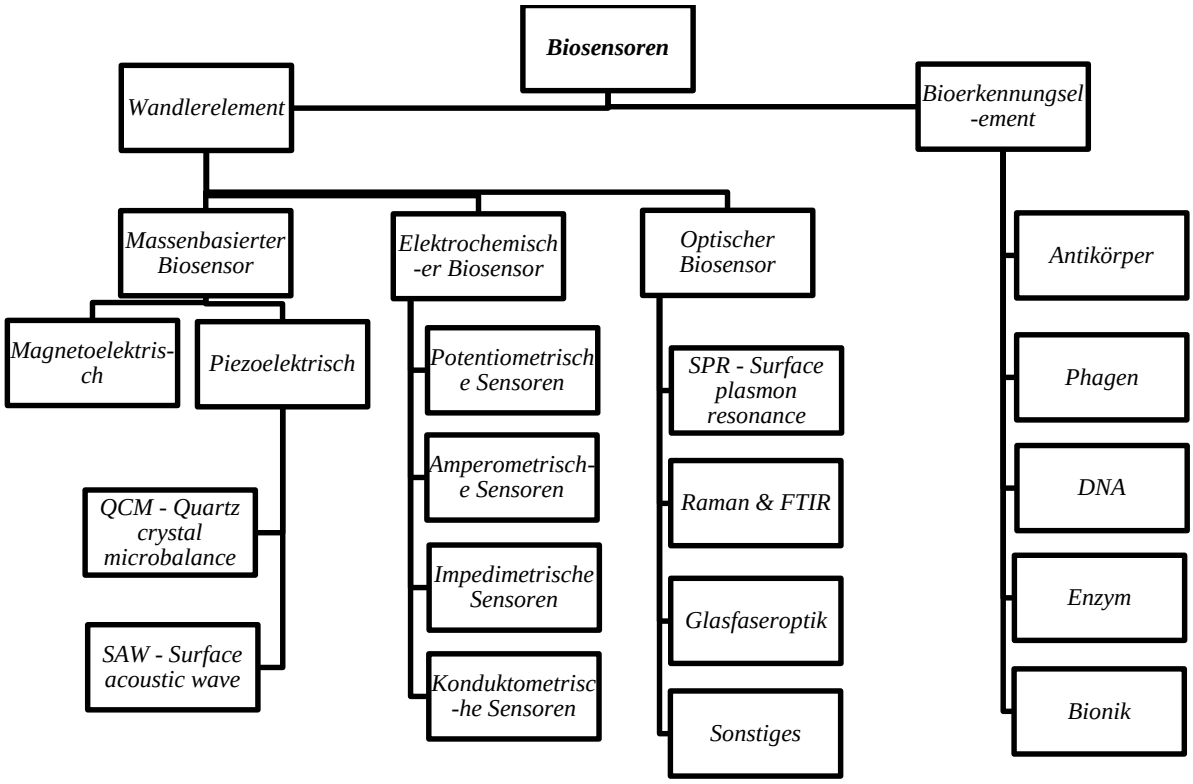



**Abbildung 3. Klassifizierung von Biosensoren basierend auf Transducer- und Bioerkennungselementen, die in der Lebensmittelanalyse verwendet werden**

Als eines der Hauptziele der Lebensmittelanalyse ist die Lebensmittelsicherheit ein wichtiges Gesundheitsproblem sowohl für das Leben von Tieren als auch für den Menschen. Der Fortschritt der Analysetechnologie für die Lebensmittelsicherheit bedeutet, dass sie im Einklang mit dem steigenden Interesse an und dem Schwerpunkt auf Fragen der Lebensmittelversorgungssicherheit gedeiht. In der Lebensmittelsicherheitsanalyse sind traditionelle Ansätze arbeitsintensiv, zeitaufwändig und erfordern geschulte Techniker. Die Anwendung der Mikrofluidik in der Lebensmittelsicherheitsanalyse bietet neue Erkenntnisse darüber, wie durch Lebensmittel übertragene Toxine, Allergene, Krankheitserreger, Gefahrstoffe, Schwermetalle und andere Kontaminanten effektiv und schnell nachgewiesen werden können. Die Eigenschaften der Mikrofluidik, wie Miniaturisierungsfähigkeit, kompakte und reduzierbare Proben- und Reagenzienmengen, machen sie zu einer perfekten Technologie für die Entwicklung der Nachhaltigkeit von Lebensmitteln. Die komplexe Zubereitung der Lebensmittelmatrix und schwierige Herstellungsschritte sind die aktuellen Herausforderungen bei der Anwendung der Mikrofluidik auf die Nachhaltigkeit von Lebensmitteln. Diesen Herausforderungen kann begegnet werden, indem physikalische Eigenschaften in Abhängigkeit von spezifischen Testzielen genutzt, komplexe mikrofluidische Plattformen für die reale Lebensmittelanalyse entwickelt und Biomoleküle wie Lebensmittelproteine und DNA in mikrofluidische Systeme integriert werden.

## 1. Nanomaterialien in der Biosensorik

Mit ihrer Biosensor-Technologie sind Nanomaterialien das meistversprechendste Werkzeug im Umgang mit Gesundheits-, Energie- und Umweltproblemen der Bevölkerung in der Welt. Als Nanomaterialien werden Partikel bezeichnet, die in mindestens einer Größendimension kleiner als 100 nm sind. Bei diesen Nanomaterialien handelt es sich um Biokompositpolymere auf Basis von Metall, Metalloxid und Kohlenstoff, und es wurden verschiedene Arten von Nanopartikeln etabliert, wie magnetische Eisen-, Aluminium-, Gold-, Silber-, Kupfer-, Siliziumdioxid-, Zink-, Zinkoxid-, Ceroxid- und Titandioxid-Nanopartikel. und ein-/mehrwandige Kohlenstoffnanoröhren (CNTs). Die Nanotechnologie und ihre landwirtschaftliche Entwicklung wurden in verschiedenen Bereichen stark ausgeweitet. Zu diesen Bereichen gehören die Lebensmittelproduktion, der Pflanzenschutz, der Nachweis von Krankheitserregern und Toxinen, die Wasserreinigung, die Lebensmittelverpackung, die Abwasserentsorgung, und Umweltsanierung. Die Verbesserung der Produktivität und Leistung der Anwendungen ist die Priorität dieser landwirtschaftlichen Bereiche.

Im Bereich Lebensmittelsicherheit und -schutz wurden Biosensor-Technologien für den Nährstoff- und Qualitätsnachweis, den Nachweis von Krankheitserregern und den Nachweis von Toxinen entwickelt, wie unten aufgeführt.

## 2. Nährstoff- und Qualitätsnachweis

Lebensmittelschutzmaßnahmen können in zwei Kategorien unterteilt werden: Verlust nach der Ernte und Biosicherheit der Lebensmittel. Biosicherheit von Nahrungsmitteln bedeutet Kontamination und Degradation von Nahrungsmitteln, die in den späteren Abschnitten angesprochen werden, durch ökologische, politische, unfaire wirtschaftliche Gewinne, Krieg oder Rache. Andererseits deutet der Verlust nach der Ernte auf die Nährstoffe und essbaren Bedingungen in Lebensmitteln hin, die zwischen der Erntezeit und dem Moment des Verzehrs durch Technologien aufrechterhalten werden müssen. Da die Zeit von Minuten bis Jahren unterschiedlich ist, sind bei der Aufrechterhaltung und Reduzierung von Verlusten Technologien wichtig, die sich auf die Reduzierung von Nachernteverlusten konzentrieren.

Um die Lebensmittelqualität zu erhalten und Nachernteverluste zu vermeiden, können neue Technologien wie Biosensorik eingesetzt werden. Biosensoren wurden beispielsweise entwickelt, um Süßstoffmengen in Lebensmitteln zu erkennen und zu analysieren, mit denen sowohl natürliche als auch künstliche Süßstoffe nachgewiesen werden können. Süßstoffe werden häufig in der Lebensmittelproduktion und -verarbeitung verwendet, aber vor kurzem wurde festgestellt, dass sie beim Menschen gesundheitliche Probleme verursachen. Ein Mehrkanal-Biosensor wurde entwickelt, um die elektrophysiologische Erfassung von Geschmacksepithelien zu nutzen, um sowohl natürliche als auch künstliche Süßstoffe zu erkennen und zu analysieren. Um Langzeitsignale von Saccharose, Glucose, Cyclamat bzw. Saccharin zu erkennen, werden die Signale durch raumzeitliche Techniken untersucht. Der Biosensor kann zwischen verschiedenen Konzentrationen mit dosisabhängig erhöhten Reaktionen des Geschmacksepithels von verschiedenen Süßungsmitteln unterscheiden. Es kann auch zwischen zwei natürlichen Süßstoffen unterscheiden: Saccharose und Glukose, mit zwei Signalmustern. Für Glukose beträgt der Nachweisbereich 50-150 mM und für Saccharin 5-15 mM.

## 3. Nachweis von Krankheitserregern

Aufgrund ihres reduzierten Formats können Biosensoren zum Nachweis von Krankheitserregern wie Bakterien (Tabelle 1) und Pilzen (Tabelle 2) eingesetzt werden. Das begann vor mehr als zwei Jahrzehnten: ein Gerät, um mehrere Probleme zu beheben, und eine Multi-Panel-Signalerkennung. Das Ligandenmotiv ist ein entscheidendes Element im Biosensordesign für den Pathogennachweis, da es die Empfindlichkeit und Effizienz des Geräts bestimmt. Ziel ist es, eine schnelle, spezifische und sensitive Plattform zu etablieren, um in Lebensmittelproben das Vorhandensein oder Fehlen von Krankheitserregern nachzuweisen. Es wurde entdeckt, dass es keinen idealen Liganden gibt und verschiedene Liganden unterschiedliche Vorteile haben. Die Kombination von Biorezeptoren zum Nachweis einer großen Vielfalt von Mikroben in verschiedenen Proben stellt aktuelle Herausforderungen beim Nachweis von Pathogen-Biosensoren dar; neue synthetische Ligandendesigns wie Aptamere, kleine Moleküle und Peptide; und der Einbau verschiedener Liganden in ein tragbares Gerät, um einen schnellen, effektiven und kostengünstigen Nachweis zu erreichen.

**Tabelle 1. Bedingungen für die Anzahl der in Milch gewachsenen Bakterien**

| *Temperatur °C* | *24 Stunden* | *48 Stunden* | *96 Stunden* | *168 Stunden* |
|---|---|---|---|---|
| *0* | 2400 | 2100 | 1850 | 1400 |
| *4* | 2500 | 3600 | 218,000 | 4,200,000 |
| *8* | 3100 | 12,000 | 1,480,000 | |
| *10* | 11,600 | 540,000 | | |
| *15* | 180,000 | 28,000,000 | | |
| *30* | 1,400,000,000 | | | |

**Tabelle 2. Temperatur- und Wasseraktivitätsanforderungen für das Pilzwachstum**

| *Spezies* | *Minimum* | *Optimum* | *Maximal* | *Minimum* | *Optimum* |
|---|---|---|---|---|---|
| *Aspergillus ruber* | 5 | 24 | 38 | 0.72 | 0.93 |
| *A. amstelodami* | 10 | 30 | 42 | 0.70 | 0.94 |
| *A. flavus* | 12 | 35 | 45 | 0.80 | 0.99 |
| *A. fuminatus* | 12 | 40 | 52 | 0.83 | 0.99 |
| *A. niger* | 10 | 35 | 45 | 0.77 | 0.99 |
| *Penicillium martensii* | 5 | 24 | 32 | 0.90 | 0.99 |

## 4. Nachweis von Toxinen

Der Hauptstrom der Entwicklung in der Lebensmittelsicherheit sind elektrochemische Biosensoren zum schnellen Nachweis und zur Bewertung von Lebensmittelgiften. Es wurden zahlreiche Plattformen entwickelt, um kundenspezifische und individualisierte Geräte zu ermöglichen, um besondere Umwelt- und Organisationsanforderungen zu erfüllen und die Nachweisgrenzen von nM bis fM zu erreichen. Um beispielsweise einzigartige Bindungsprofile zu fördern, adressieren Biorezeptor-Arrays einzelne Elektroden, die mit verschiedenen Biorezeptoren mit Bindungszielen funktionalisiert sind. Neben der elektrochemischen Biosensorik wurden Toxin- und chemische Detektion in der Lebensmittelproduktion auch auf andere Biosensoren wie optische und piezoelektrische Sensoren angewendet (Figur 4). Um Giftstoffe zu erkennen, wurden fluoreszierende Nanopartikel in Lebensmitteln und Körpern hergestellt, einschließlich oberflächlicher, inter- und intrazellulärer Lebensmittel.

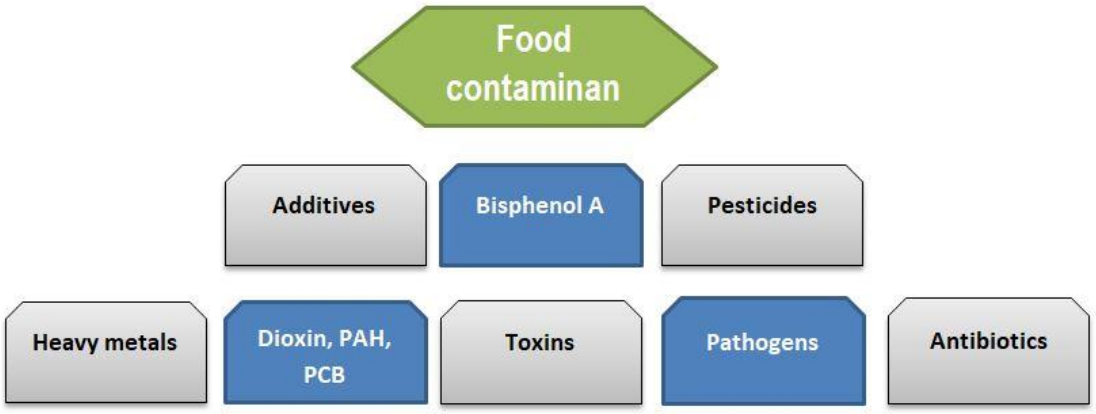



**Abbildung 4. Vorherrschende Lebensmittelkontaminanten und die Zielanalyten in der Lebensmittelindustrie**

Die Toxinextraktion aus komplizierten Lebensmittelproben ist eines der Haupthindernisse bei der Entwicklung eines vollautomatischen Toxindetektors. Um ihre schädlichen Konzentrationen aus Lebensmittel- und Wasserproben automatisch zu bestimmen, wird erwartet, dass potenzielle Systeme Toxine extrahieren, verarbeiten und messen. Bei der Identifizierung, Unterscheidung und Quantifizierung chemischer Toxine in Lebensmittelmatrices wurden ausgeklügelte Trennstrategien mit

SERS gekoppelt. Darüber hinaus können chemische Verunreinigungen aus der Lebensmittelverarbeitung eine Herausforderung darstellen, auch wenn sie normalerweise in geringeren Mengen vorliegen. Geringere Stabilität, Selektivität und Sensitivität sind eine weitere Herausforderung beim Nachweis von Lebensmitteltoxinen, bei denen MIPs eine Lösung sein können, um stabile und kostengünstige Alternativen bereitzustellen.

Schwermetalle wie $Ag^{+}$, $As^{3+}$, $Cd^{2+}$, $Hg^{2+}$, $Pb^{2+}$ und $Zn^{2+}$ sind als chemische Schadstoffe bekannt, die stabile Oxidationszustände bilden und Stoffwechselwege stören, was zu Gesundheitsproblemen führt. Aptamer- und DNA-basierte Biosensoren können Schwermetalle sowohl im Nanobereich als auch im sehr großen Maßstab nachweisen, was für das Screening und die Überwachung der Lebensmittelsicherheit geeignet ist. Um Arsenat in Lebensmitteln nachzuweisen, basiert ein schwermetalldetektierender Biosensor auf gentechnisch veränderten Bakterienzellen und einem grün fluoreszierenden Signalverstärker. Mit einem Detektionsbereich von 5-140 µg/L Arsen dauert die Arsen-Detektion nur eine Stunde und kann in die optische Ausgangsleistung für seine zukünftige Biosensor-Lichtleitfaser integriert werden. Andere Biosensortechnologien sind zum Beipiel Aptamere.

Die Nanotechnologie wurde auf zwei getrennte Bereiche von Pestiziden für die Landwirtschaft und Ernährung angepasst: als Träger von Pestiziden für das Pestizidmanagement und als Spurenmengendetektor für Pestizide. Im ersten Bereich sind Nanopartikel in der Lage, Pestizide langsam zu modifizieren, um Insektenschädlinge zu bekämpfen, was dazu beiträgt, die Verschmutzung des Grundwassers und des Oberbodens zu verhindern, den Pestizidgehalt zu senken und die Effizienz zu verbessern. Im zweiten Feld verbessert bio- oder biomimetisch basierte Nanotechnologie wie Antikörper, Enzyme, Aptamere und MIP-ähnliche Makromoleküle die Stabilität, Selektivität, Sensitivität und Nachweisgeschwindigkeit. Darüber hinaus sind Bakterien-, Pilz-, Algen- und Säugerzellen zellbasierte Biosensoren, die beim Nachweis von Pestiziden und Herbiziden verwendet werden und helfen, schnelle, zuverlässige, Echtzeit- und kostengünstige Werkzeuge für Dekontaminationsverfahren und präventive Unfallschäden zu entwickeln.

Karzinogene, Geruchsstoffe und Meeresschadstoffe sind weitere Giftstoffe, die bei der Lebensmittelproduktion von Bedeutung sind. Karzinogene sind eine komplexe Gruppe von Spuren von Toxinen, wie Pestizide, Schwermetalle, Mykotoxine und Acrylamid, bei denen die Schwierigkeit der Identifizierung von Spurenmengen eine Herausforderung darstellt; und geprägte Aptamere, Nanotechnologie und Biosensorik sind optimistisch für eine vielversprechende zukünftige Verwendung. Empfindliche und lösliche Moleküle, die bei der Geruchserkennung für olfaktorische Tiersysteme wirksam sind, sind geruchsbindende Proteine. Es wurde ein Nanosensor entwickelt, der lokalisierte SPR und kleine geruchsstoffbindende Proteine von Honigbienen kombiniert, wobei der Nachweisbereich 10 nM - 1 mM unter Verwendung einer quantitativen Anordnung von Nanobechern beträgt. Um eine stabile Umgebung für marine Nahrungssysteme zu überwachen und zu erhalten, wird die Erkennung von Meereskontaminanten verwendet.

Ein weiteres Entwicklungskit für Biosensoren für die Lebensmittelsicherheit konzentriert sich auf den Nachweis von genetisch veränderten Organismen (GVO) in Lebensmitteln. Seit den 1990er Jahren gelten GVO in allen Bereichen landwirtschaftlicher Produkte als biotechnologische Revolution. Derzeit sind mehr als 45 Prozent der weltweit angebauten Sojabohnen, 40 Prozent des Maises und 50 Prozent der Baumwolle gentechnisch veränderte Produkte; und GM wird auch in der Viehzucht

verwendet. Neuere Forschungen zeigen jedoch, dass GVO-Produkte den menschlichen und tierischen Körper durch Magen-Darm-Probleme, Antibiotikaresistenz, Allergenität, Diversität des Abbaus von landwirtschaftlichen Produkten und unerwünschten Genfluss auf andere Arten beeinträchtigen können. Biosensoren wurden entwickelt, um GVO in Lebens- und Futtermitteln mit isothermer DNA-Amplifikation und schneller Erkennung von Signalen zu messen, um gv-Gene zu identifizieren.

## BIOSENSOREN & BIOCHIPS FÜR DIE UMWELTÜBERWACHUNG

Aufgrund des starken Zusammenhangs zwischen Umweltverschmutzung und menschlicher Gesundheit/sozioökonomischem Fortschritt ist die Umweltüberwachung zu einer Priorität auf europäischer und globaler Ebene geworden. Biosensoren werden auf diesem Gebiet häufig als kostengünstige, schnelle In-situ- und Echtzeit-Analysetechniken verwendet. Die jüngste Entwicklung von Biosensoren mit neuen Transduktionsmaterialien aus der Nanotechnologie und für den Multiplex-Schadstoffnachweis unter Einbeziehung multidisziplinärer Experten erklärt den Bedarf an kompakten, schnellen und intelligenten Biosensorgeräten. Bei der Überwachung von Luft-, Wasser- und Bodenverunreinigungen durch Biosensoren unter realen Bedingungen gibt es mehrere neuere Entwicklungen, wie Pestizide, hochgiftige Komponenten und kleine organische Moleküle, einschließlich Toxinen und endokrin wirksamen Chemikalien.

Biosensoren, die in der Umweltüberwachung verwendet werden, können aufgrund ihrer Transduktion in optische (einschließlich Glasfaser- und Oberflächenplasmonenresonanz-Biosensoren), elektrochemische (einschließlich amperometrische und Impedanz-Biosensoren) und piezoelektrische (einschließlich Quarzkristall-Mikrowaagen-Biosensoren) oder als Immunsensoren, Aptasensoren, Genosensoren kategorisiert werden. Hinzukommen enzymatische Biosensoren, die sich auf ihren Erkennungselementen bzw. bei Verwendung von Antikörpern, Aptameren, Nukleinsäuren und Enzymen basieren lassen. Die meisten Biosensoren in der Umweltüberwachung werden als Immunsensoren und enzymatische Biosensoren anerkannt, aber die Entwicklung von Aptasensoren hat in letzter Zeit aufgrund der vorteilhaften Eigenschaften von Aptameren, wie einfache Modifizierung, thermische Stabilität, In-vitro-Synthese und die Fähigkeit, ihre Struktur zu entwerfen, zugenommen.

Die Studie zum Design von Biosensoren zur Überwachung von organischen Schadstoffen, potenziell toxischen Elementen und Krankheitserregern in der Umwelt hat aufgrund der Umweltverschmutzungsprobleme, mit denen die menschliche Gesundheit konfrontiert ist, zu einer nachhaltigen Entwicklung der Zivilisation geführt. Verschiedene chromatographische Techniken (wie Gaschromatographie und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie in Kombination mit Kapillarelektrophorese oder Massenspektrometrie) sind konventionelle Analysemethoden zur Umweltüberwachung von Schadstoffen, die jedoch teure Reagenzien, zeitaufwändige Probenvorbehandlung und teure Geräte erfordern. Also, zur Überwachung von Schadstoffen, die für schädliche Auswirkungen auf Lebensräume und die menschliche Gesundheit verantwortlich sind, für sensible, kostengünstige, schnellere, einfacher und kompaktere Biosensor-Geräte werden dringend

benötigt, um die Vergrößerung von Umweltproblemen zu überwinden. Im Falle einer versehentlichen Freisetzung von Pestiziden oder einer akuten Vergiftung sind beispielsweise übliche Methoden nicht für In-situ-Messungen geeignet, bei denen schnelle, miniaturisierte und tragbare Geräte wie Biosensoren zur Umweltüberwachung erforderlich sind. In dieser Hinsicht ist die Rolle der Nanotechnologie bei der Entwicklung schneller und intelligenter Biosensorik-Geräte entscheidend für den Erfolg des Nachweises von Umweltschadstoffen. Die neuesten Biosensoren umfassen Nanomaterialien und neuartige Nanokomposite in ihren Systemen, die für die Verbesserung der analytischen Leistung, wie Empfindlichkeit und Nachweisgrenzen, von Vorteil sind. Gängige Methoden sind nicht für In-situ-Messungen geeignet, bei denen schnelle, miniaturisierte und tragbare Geräte wie Biosensoren zur Umweltüberwachung erforderlich sind. In dieser Hinsicht ist die Rolle der Nanotechnologie bei der Entwicklung schneller und intelligenter Biosensorik-Geräte entscheidend für den Erfolg des Nachweises von Umweltschadstoffen.

Für den Nachweis und die Überwachung verschiedener Umweltschadstoffe wurden Biosensoren, einschließlich Immunsensoren, Aptasensoren, Genosensoren und enzymatische Biosensoren, unter Verwendung von Antikörpern, Aptameren, Nukleinsäuren und Enzymen als Erkennungselemente dokumentiert.

## 1. Pestizide

Pestizide gehören aufgrund ihrer großen Präsenz in der Umwelt zu den bedeutendsten Umweltschadstoffen. In der Landwirtschaft werden beispielsweise phosphororganische Insektizide häufig verwendet und stellen eine Gruppe von Pestiziden dar, die aufgrund ihrer hohen Toxizität von immenser Umweltbelastung sind. Daher haben sich einfache, reaktionsschnelle und miniaturisierte In-situ-Methoden wie Biosensoren als analytische Strategien für deren Nachweis und Überwachung etabliert, ohne dass eine umfassende Probenvorbehandlung erforderlich ist.

Amperometrische enzymatische Einweg-Biosensoren (Acetylcholinesterase) wurden für den Nachweis von Organophosphor-Insektiziden unter Verwendung von Paraoxon als Modellanalyt vorgeschlagen, der eine selbstorganisierte Cysteamin-Monoschicht auf Gold-Siebdruckelektroden aufbringt. Die Einweg-Biosensoren zeigten ein lineares Spektrum von bis zu 40 ppb mit einer Nachweisgrenze von 2 ppb und einer Empfindlichkeit von 113 µA mM cm-2. Bei Verwendung der selbstorganisierten Monoschicht könnte ein gutes analytisches Ergebnis auf die stark orientierte Enzymimmobilisierung zurückzuführen sein. Nach Tests in Flusswasserproben, die mit 10 ppb Paraoxon versetzt waren, wurden Wiederfindungen von 97 ± 5 Prozent (n = 3) berichtet, was auf die Wirksamkeit solcher enzymatischer Biosensoren hinweist. Darüber hinaus entfallen durch den Einsatz von Einweg-Siebdruckelektroden zeitaufwändige Verfahren wie die Reaktivierung immobilisierter Enzyme unter Verwendung von z.B.

Nanopartikel auf Basis von Iridiumoxid wurden in dem enzymatischen Einweg-Biosensor mit Tyrosinase basierend auf kostengünstigen siebgedruckten Kohlenstoffelektroden zum Nachweis von

Chlorpyrifos in Flusswasserproben verwendet. Es wurde über eine lineare Biosensorantwort (0,01–0,1 µM) und eine niedrige Nachweisgrenze (3 nM) berichtet, was auf die hohe Leitfähigkeit der Nanopartikel von Iridiumoxid und die Tyrosinase-Effizienz zurückzuführen sein könnte. Wiederfindungstests wurden in Flusswasserproben unter Zugabe von 0,1 µM Chlorpyrifos durchgeführt und es wurden Wiederfindungen von 90 ± 9,6 Prozent mit einer Reststandardabweichung (RSD) von weniger als 10 Prozent (n = 3) erzielt, um die Anwendbarkeit des Biosensors zu demonstrieren.

Acetamiprid wurde durch kolorimetrische Aptasensoren und Wasserproben durch impedimetrische Aptasensoren in realen Umweltproben, wie frischen Oberflächenbodenproben, nachgewiesen. Beim kolorimetrischen Aptasensor wurde ein linearer Bereich von 75 nM bis 7,5 µM und eine Nachweisgrenze von 5 nM beobachtet, während beim impedimetrischen Aptasensor ein breiterer linearer Bereich (50 fM bis 10 µM) und eine untere Nachweisgrenze (17 fM) beobachtet wurden. Goldnanopartikel, mehrwandige Kohlenstoffnanoröhren (MWCNT) und reduzierte Graphenoxid-Nanobänder wurden in diesem Biosensor als Verbundwerkstoff verwendet, um das Acetamiprid-Aptamer der Elektrodenoberfläche zu erhalten, das für einen höheren Elektronentransfer und eine verbesserte analytische Leistung des Biosensors verantwortlich sein könnte.

## 2. Krankheitserreger

Das Vorhandensein von Krankheitserregern in Umweltmatrizen und insbesondere in Wasserkompartimenten könnte ein ernsthaftes Risiko für die menschliche Gesundheit darstellen, und kürzlich wurden einige Biosensoren für die Überwachung der Umwelt vorgeschlagen. Beispielsweise wurden für den Nachweis von metabolisch aktiver *Legionella pneumophila* in komplexen Umweltwasserproben schnelle und präzise optische Biosensoren basierend auf Oberflächenplasmonenresonanz vorgeschlagen. In einer Studie beruhte das Nachweisprinzip auf der Identifizierung bakterieller RNA durch die immobilisierte RNA-Detektorsonde auf der Goldoberfläche des Biochips. Zur Signalverstärkung wurden Streptavidin-konjugierte Quantenpunkte verwendet, und die Nachweiszeit betrug ungefähr drei Stunden, was die Lebensfähigkeit der Biosensorvorrichtung für einen erfolgreichen Bakteriennachweis im Bereich von $10^4$-$10^8$ KBE $ml^{-1}$ anzeigt.

## 3. Potenziell giftige Elemente

Die Belastung der natürlichen Gewässer mit Schwermetallen und entsprechenden Ionen kann erhebliche Risiken für die menschliche Gesundheit darstellen und kompakte, kostengünstige und schnelle Schwermetallanalysen haben weltweit Priorität. Als Modelltarget zum Testen eines optischen DNA-Biosensors zum Nachweis extrem giftiger und in der Umwelt häufig vorkommender Schwermetallionen wurden Quecksilberionen ($Hg^{2+}$) verwendet. Der Biosensor war kompakt, kostengünstig und schnell mit einem In-situ-Screening von $Hg^{2+}$ in natürlichen Gewässern in weniger als 10 Minuten. Das Detektionsprinzip konzentriert sich auf die Fähigkeit bestimmter Metallionen,

selektiv an bestimmte Basen zu binden, um stabile metallvermittelte DNA-Duplexe zu bilden; im Fall von $Hg^{2+}$ können Thyminbasen selektiv koordiniert werden, um stabile Thymin-$Hg^{2+}$-Thymin-Komplexe zu bilden. Im Nachweisbereich zwischen 0 und 1000 nM gilt eine Nachweisgrenze von 1.

Für den Nachweis von $Pb^{2+}$ in Wasserproben (Teich- und Seewasserproben) unter Verwendung von DNAzymen/carboxylierten magnetischen Beads und DNA-Aptameren wurden kürzlich zwei fluoreszenzbasierte optische Biosensoren vorgeschlagen. Die Nachweisgrenzen von 5 nM bzw. 61 nM wurden von Biosensoren auf Basis von DNAzymen und DNA-Aptameren mit einem jeweiligen linearen Nachweisbereich von 0 bis 50 nM bzw. 100 bis 1000 nM eingehalten. Die Verwendung eines markierungsfreien einzigartigen Farbstoffs (SYBER Green I), der mit doppelsträngiger DNA interkaliert wurde und starke Fluoreszenzintensitäten zeigt, wie in Abbildung 5. Darüber hinaus wird das Fehlen der Biosensor-Fluoreszenzintensität nur mit dem Farbstoff beobachtet (Kurve a). Beim DNAzym + $Pb^{2+}$ (Kurve b) nimmt die Fluoreszenzintensität mit der Zugabe von Farbstoff + DNAzym + $Pb^{2+}$ zu, was die Sensitivität des Biosensors gegenüber $Pb^{2+}$ verdeutlicht.

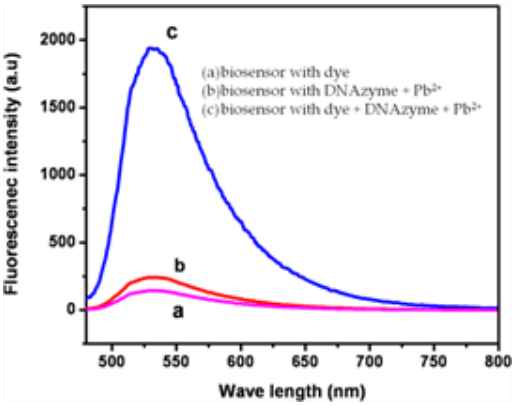



**Abbildung 5. Fluoreszenzemissionsspektren zum Nachweis von $Pb^{2+}$**

## 4. Giftstoffe

Schädliche Toxine wie Brevetoxine und Microcystine werden durch die Eutrophierung aquatischer Systeme durch die Algenblüte von Cyanobakterien erzeugt, und daher werden genaue und kostengünstige Systeme zur Früherkennung solcher Toxine benötigt. Für den empfindlichen Nachweis von Brevetoxin-2, einem marinen Neurotoxin, wurde ein elektrochemischer Aptasensor verwendet, der aus Goldelektroden besteht, die mit selbstorganisierten Cysteamin-Monoschichten funktionalisiert sind.

Es wurde eine Nachweisgrenze von 106 pg $mL^{-1}$ erreicht und für Brevetoxin-2 wurde eine starke Selektivität gegenüber anderen Toxinen verschiedener Gruppen, wie Okadainsäure und Microcystin, beobachtet. Die Machbarkeit des Aptasensors zum Nachweis von Brevetoxin-2 in echten Proben wurde durch die Analyse von Schalentieren erreicht, und es wurden starke Wiederfindungen (102-110 Prozent) berichtet, was darauf hindeutet, dass keine Interaktion mit der Aptasensor-Antwort von der Schalentiermatrix vorliegt.

## 5. Endokrin wirksame Chemikalien

In Wasserproben wurde Bisphenol A als endokrin wirksame Chemikalie durch Aptasensoren nachgewiesen, die auf dem Fluoreszenzprinzip mit funktionalisierten Aptameren (Fluoresceinamidit) und Goldnanopartikeln basieren und auf evaneszenten Lichtwellenleitern basieren. Der optische Faseraptasensor für evaneszente Wellen war kompakt und erwies sich als schnell, kostengünstig, empfindlich und selektiv für den Nachweis von Bisphenol A in Wasserproben, wobei keine Vorkonzentrations- oder Behandlungsschritte erforderlich waren. Darüber hinaus kann der Aptasensor durch Regenerieren mit einer 0,5%igen Natriumdodecylsulfat (SDS)-Lösung und weiteres Waschen mit einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung (PBS) (pH 7,2) für über hundert Testzyklen ohne merklichen Verlust an 90s wiederverwendet werden (Effizienz). Ähnliche Nachweisgrenzen (0,1 und 0,45 ng $mL^{-1}$) wurden in beiden optischen Biosensoren beobachtet, bei denen die DNA-Molekülsonde, die die komplementäre Sequenz einer kleinen Fraktion des Bisphenol-A-Aptamers ist, durch elektrostatische Wechselwirkung an der Oberfläche von Goldnanopartikeln adsorbiert und auf der Oberfläche kovalent immobilisiert wurde der Faser. Für den Nachweis von Bisphenol A in Flusswasserproben mit Molybdäncarbid-Nanoröhren wurde kürzlich ein weiterer fluoreszenzbasierter Aptasensor vorgeschlagen. Mit einem solchen markierungsfreien, kostengünstigen und einfach zu verwendenden Aptasensor wurde eine niedrige Nachweisgrenze von 0.23 ng $mL^{-1}$ erreicht. Die Spezifität des Aptasensors wurde durch die Analyse anderer Moleküle mit ähnlichen Strukturen wie Bisphenol A (z. B. 4,4J-Biphenol, Bisphenol AF und 4.

Ein wegwerfbarer und markierungsfreier elektrochemischer Immunsensor auf der Basis eines Feldeffekttransistors mit SWCNT wurde kürzlich in Meerwasserproben verwendet, um eine andere endokrinschädigende Chemikalie zu untersuchen - 4-Nonylphenol. Der Immunsensor hat eine hohe Reproduzierbarkeit (0,56 ± 0,08%), eine durchschnittliche Wiederfindung von 97,8% bis 104,6% und eine niedrige Nachweisgrenze (5 µg $L^{-1}$), die unter der empfohlenen maximalen Konzentration von 7 µg $L^{-1}$ liegt durch die entsprechenden Vorschriften. In Meerwasserproben wie 4-Nonylphenol könnte der Biosensor verwendet werden, um gefährliche prioritäre Stoffe selbst in niedrigen Konzentrationen und mit einer einfachen und kostengünstigen Methodik zu erkennen.

## 6. Andere Umweltverbindungen

Für die Früherkennung und Überwachung verschiedener anderer gefährlicher Verbindungen, die während der Algenblüte freigesetzt werden, wurden neue, schnelle und genaue Analysemethoden benötigt. Aufgrund der hervorragenden Sensitivität und Spezifität von Nukleinsäuresonden gegenüber ihren komplementären Bindungspartnern wurden Biosensoren zum Nachweis von Algen-RNA entwickelt. Für den verbesserten selektiven und sensitiven Nachweis von RNA aus 13 schädlichen Algenorganismen wurde kürzlich ein elektrochemischer Genosensor auf der Grundlage einer siebgedruckten Goldelektrode beschrieben; der Genosensor konnte RNA-Ziele von Umweltproben (Meerwasserproben mit Spikes) unterscheiden, die $10^5$ Zellen enthielten, was als Nachweisgrenze gilt.

# Verweise

Adami A; Mortari A; Morganti E; Lorenzelli L. 2018. Microfluidic Sample Preparation Methods for the Analysis of Milk Contaminants. Available online: https://www.hindawi.com/journals/js/2016/2385267/

Al-Mawali A. 2015. Non-communicable diseases: shining a light on cardiovascular dis- ease, Oman's biggest killer. Oman Med. J., 30 (4): 227.

Arduini F, Guidone S, Amine A, Palleschi G, Moscone D. 2013. Acetylcholinesterase biosensor based on self-assembled monolayer-modified gold-screen printed electrodes for organophosphorus insecticide detection. Sens. Actuators B Chem., 179: 201–208.

Arduini F, Cinti S, Scognamiglio V, Moscone D. 2016. Nanomaterials in electrochemical biosensors for pesticide detection: advances and challenges in food analysis. Microchim. Acta, 183: 2063–2083.

Arugula MA, Simonian AL. 2016. Biosensors for Detection of Genetically Modified Organisms in Food and Feed. In Genetically Modified Organisms in Food, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 97–110, ISBN 978-0-12-802259-7.

Ayari-Jeridi H. et al. 2015. Mutation spectrum of RB1 gene in unilateral retinoblastoma cases from Tunisia and correlations with clinical features. PLoS One, 10 (1): e0116615.

Bahadır EB, Sezgintürk MK. 2017. Biosensor technologies for analyses of food contaminants. In Nanobiosensors, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 289–337, ISBN 978-0-12-804301-1.

Baldwin CJ. 2015. Introduction to the Principles. In The 10 Principles of Food Industry Sustainability, John Wiley & Sons, Ltd.: Hoboken, NJ, USA, pp. 1–14, ISBN 978-1-118-44769-7.

Beck MB, Walker VR. 2013. On water security, sustainability, and the water-food-energy-climate nexus. Front. Environ. Sci. Eng., 7: 626–639.

Belkhamssa N, da Costa JP, Justino CIL, Santos PSM, Cardoso S, Duarte AC, Rocha-Santos T, Ksibi M. 2016. Development of an electrochemical biosensor for alkylphenol detection. Talanta, 158: 30–34.

Bhalla N. et al. 2016. Introduction to biosensors. Essays Biochem., 60 (1): 1–8.

Bohunicky B, Mousa SA. 2011. Biosensors: the new wave in cancer diagnosis. Nanotechnol. Sci. Appl., 4: 1.

Bourne MC. 2014. Food Security: Postharvest Losses. In Encyclopedia of Agriculture and Food Systems, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 338–351, ISBN 978-0-08-093139-5.

Bruen D et al. 2017. Glucose sensing for diabetes monitoring: recent developments. Sensors, 1866.

Burris KP, Stewart CN. 2012. Fluorescent nanoparticles: Sensing pathogens and toxins in foods and crops. Trends Food Sci. Technol., 28: 143–152.

Byrne B et al. 2009. Antibody-based sensors: principles, problems and potential for detection of pathogens and associated toxins. Sensors, 9 (6): 4407–4445.

Cash KJ, Clark HA. 2010. Nanosensors and nanomaterials for monitoring glucose in diabetes. Trends Mol. Med., 16 (12): 584–593.

Chao R, Mishra S, Si T, Zhao H. 2017. Engineering biological systems using automated biofoundries. Metab. Eng., 42: 98–108.

Chen Y, Li H, Gao T, Zhang T, Xu L, Wang B, Wang J, Pei R. 2018. Selection of DNA aptamers for the development of light-up biosensor to detect Pb(II). Sens. Actuators B Chem., 254: 214–221.

Eissa S, Siaj M, Zourob M. 2015. Aptamer-based competitive electrochemical biosensor for brevetoxin-2. Biosens. Bioelectron., 69: 148–154.

Elmore S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol. Pathol., 35 (4): 495–516.

Enrico DL, Manera MG, Montagna G, Cimaglia F, Chesa M, Poltronieri P, Santino A, Rella R. 2013. PR based immunosensor for detection of Legionella pneumophila in water samples. Opt. Commun., 294: 420–426.

EPA. National Recommended Water Quality Criteria-Aquatic Life Criteria Table. Available online: http://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table

Fei A, Liu Q, Huan J, Qian J, Dong X, Qiu B, Mao H, Wang K. 2015. Label-free impedimetric aptasensor for detection of femtomole level acetamiprid using gold nanoparticles decorated multiwalled carbon nanotube-reduced graphene oxide nanoribbon composites. Biosens. Bioelectron., 70: 122–129.

Foudeh AM, Trigui H, Mendis N, Faucher SP, Veres T, Tabrizian M. 2015. Rapid and specific SPRi detection of L. pneumophila in complex environmental water samples. Anal. Bioanal. Chem., 407: 5541–5545.

Garnet TF. 2013. Food sustainability: Problems, perspectives and solutions. Proc. Nutr. Soc., 72: 29–39.

Gheorghe I, Czobor I, Lazar V, Chifiriuc MC 2017. Present and perspectives in pesticides biosensors development and contribution of nanotechnology. In New Pesticides and Soil Sensors, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 337–372, ISBN 978-0-12-804299-1.

Ghorashi M. 2018. Technology's Role in Eradicating Foodborne Illness. Available online: https://www.foodsafetymagazine.com/signature-series/technologye28099s-role-in-eradicating-foodborne-illness/

Giacinti C, Giordano A. 2006. RB and cell cycle progression. Oncogene, 25 (38): 5220–5227.

Guo L, Li Z, Chen H, et al. 2017. Colorimetric biosensor for the assay of paraoxon in environmental water samples based on the iodine-starch color reaction. Anal. Chim. Acta, 967: 59–63.

Hameed I, et al. 2015. Type 2 diabetes mellitus: from a metabolic disorder to an inflammatory condition. World J. Diabetes, 6 (4): 598.

Hassani S, Momtaz S, Vakhshiteh F, et al. 2017. Biosensors and their applications in detection of organophosphorus pesticides in the environment. Arch. Toxicol., 91: 109–130.

He MQ, Wang K, Wang J, Yu YL, He RH. 2017. A sensitive aptasensor based on molybdenum carbide nanotubes and label-free aptamer for detection of bisphenol A. Anal. Bioanal. Chem., 409: 1797–1803.

Holford TR et al. 2012. Recent trends in antibody based sensors. Biosens. Bioelectron., 34 (1): 12–24.

Hughes RA, Ellington AD. 2017. Synthetic DNA synthesis and assembly: Putting the synthetic in synthetic biology. Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 9.

Husu I, Rodio G, Touloupakis E, et al. 2013. Insights into photo-electrochemical sensing of herbicides driven by Chlamydomonas reinhardtii cells. Sens. Actuators B Chem., 185: 321–330.

Jain KK. 2004. "Applications of biochips: from diagnostics to personalized medicine." Curr Opin Drug Discov Devel, 7(3): 285-289.

Jiang D, Du X, Liu Q, Zhou L, Dai L, Qian J, Wang K. 2015. Silver nanoparticles anchored on nitrogen-doped graphene as a novel electrochemical biosensing platform with enhanced sensitivity for aptamer-based pesticide assay. Analyst, 140: 6404–6411.

Justino CIL, Freitas AC, Duarte AC, Santos TAPR. 2015. Sensors and biosensors for monitoring marine contaminants. Trends Environ. Anal. Chem., 6–7: 21–30.

Justino CIL, Freitas AC, Pereira R, Duarte AC, Rocha-Santos TAP. 2015. Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. Trends Anal. Chem., 68: 2–17.

Kazemi-Darsanaki R et al. 2012. Biosensors: functions and applications. J. Biol. Today's World, 2 (1): 20–23.

Khot LR, Sankaran S, Maja JM, Ehsani R, Schuster EW. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. Crop Prot., 35: 64–70.

Kost GJ, Tran NK., 2005. Point-of-care testing and cardiac biomarkers: the standard of care and vision for chest pain centers. Cardiol. Clin., 23 (4): 467–490.

Lang Q, Han L, Hou C, Wang F, Liu A. 2016. A sensitive acetylcholinesterase biosensor based on gold nanorods modified electrode for detection of organophosphate pesticide. Talanta, 156: 34–41.

Lee EY, Muller WJ. 2010. Oncogenes and tumor suppressor genes. Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 2 (10): a003236.

Li Z, Yu Y, Li Z, Wu T. 2015. A review of biosensing techniques for detection of trace carcinogen contamination in food products. Anal. Bioanal. Chem., 407: 2711–2726.

Liao W, Lu X. 2016. Determination of chemical hazards in foods using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with advanced separation techniques. Trends Food Sci. Technol., 54: 103–113.

Long F, Zhu A, Shi H, Wang H, Liu J. 2013. Rapid on-site/in-situ detection of heavy metal ions in environmental water using a structure-switching DNA optical biosensor. Sci. Rep., 3: 2308.

Loo C, et al. 2005. Immunotargetednanoshells for integrated cancer imaging and therapy. Nano Lett., 5 (4): 709–711.

Maduraiveeran G, Jin W. 2017. Nanomaterilas based electrochemical sensor and biosensor platforms for environmental applications. Trends Environ. Anal. Chem., 13: 10–23.

Marcellin E, Nielsen LK 2018. Advances in analytical tools for high throughput strain engineering. Curr. Opin. Biotechnol., 54: 33–40.

Martín-Timón I et al. 2014. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: have all risk factors the same strength? World J. Diabetes, 5 (4): 444.

Mayorga-Martinez C, Pino F, Kurbanoglua S, et al. 2014. Iridium oxide nanoparticles induced dual catalytic/inhibition based detection of phenol and pesticide compounds. J. Mater. Chem. B, 2: 2233–2239.

McPartlin DA, Loftus JH, Crawley AS, et al. 2017. Biosensors for the monitoring of harmful algal blooms. Curr. Opin. Biotechnol., 45: 164–169.

Mehrotra P. 2016. Biosensors and their applications - a review. J. Oral. Biol. Craniofac Res., 6 (2): 153–159.

Meriç S, Çakır Ö, Turgut-Kara N, Arı S. 2014. Detection of genetically modified maize and soybean in feed samples. Genet. Mol. Res., 13: 1160–1168.

Moran KLM, Fitzgerald J, McPartlin DA, Loftus JH, O'Kennedy R. 2016. Biosensor-Based Technologies for the Detection of Pathogens and Toxins. In Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 93–120, ISBN 978-0-444-63579-2.

Mungroo NA, Neethirajan S. 2014. Biosensors for the Detection of Antibiotics in Poultry Industry—A Review. Biosensors, 4: 472–493.

Ngoepe M et al. 2013. Integration of biosensors and drug delivery technologies for early detection and chronic management of illness. Sensors, 13 (6): 7680–7713.

Omidfar K. et al. 2013. New analytical applications of gold nanoparticles as label in antibody based sensors. Biosens. Bioelectron., 43: 336–347.

Orozco J, Villa E, Manes C, Medlin LK, Guillebault D. 2016. Electrochemical RNA genosensors for toxic algal species: Enhancing selectivity and sensitivity. Talanta, 161: 560–566.

Patra S, Roy E, Madhuri R, Sharma PK. 2017. A technique comes to life for security of life: The food contaminant sensors. In Nanobiosensors, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 713–772, ISBN 978-0-12-804301-1.

Pola-López LA, Camas-Anzueto JL, Martínez-Antonio A, et al. 2018. Novel arsenic biosensor "POLA" obtained by a genetically modified E. coli bioreporter cell. Sens. Actuators B Chem., 254: 1061–1068.

Ragavan KV, Selvakumar LS, Thakur MS. 2013. Functionalized aptamers as nano-bioprobes for ultrasensitive detection of bisphenol-A. Chem. Commun., 49: 5960–5962.

Rapini R, Marrazza G. 2016. Biosensor Potential in Pesticide Monitoring. In Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 3–31, ISBN 978-0-444-63579-2.

Ravikumar A, Panneerselvam P, Radhakrishnan K, et al. 2017. DNAzyme based amplified biosensor on ultrasensitive fluorescence detection of Pb(II) ions from aqueous system. J. Fluoresc., 27: 2101–2109.

Rocchitta G, et al. 2016. Enzyme biosensors for biomedical applications: strategies for safeguarding analytical performances in biological fluids. Sensors, 16 (6).

Rotariu L, Lagarde F, Jaffrezic-Renault N, Bala C. 2016. Electrochemical biosensors for fast detection of food contaminants—Trends and perspective. TrAC Trends Anal. Chem., 79: 80–87.

Saucedo NM, Mulchandan A. 2016. Sensing of Biological Contaminants. In Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 73–91, ISBN 978-0-444-63579-2.

Shi H, Zhao G, Liu M, Fan L, Cao T. 2013. Aptamer-based colorimetric sensing of acetamiprid in soil samples: Sensitivity, selectivity and mechanism. J. Hazard. Mater., 260: 754–761.

Singh M, del Valle M. 2015. Arsenic Biosensors. In Handbook of Arsenic Toxicology, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 575–588, ISBN 978-0-12-418688-0.

Sinha K, Ghosh J, Sil PC. 2017. New pesticides: A cutting-edge view of contributions from nanotechnology for the development of sustainable agricultural pest control. In New Pesticides and Soil Sensors, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 47–79, ISBN 978-0-12-804299-1.

Sodano V, Gorgitano MT, Quaglietta M, Verneau F. 2016. Regulating food nanotechnologies in the European Union: Open issues and political challenges. Trends Food Sci. Technol., 54: 216–226.

Specht K, Siebert R, Hartmann I, et al. 2014. Urban agriculture of the future: An overview of sustainability aspects of food production in and on buildings. Agric. Hum. Values, 31: 33–51.

Stadler RH. 2016. Foreword for Food Processing—Derived Contaminants in Food Analysis. In Reference Module in Food Science, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, ISBN 978-0-08-100596-5.

Tabish SA. 2007. Is diabetes becoming the biggest epidemic of the twenty-first century? Int J. Health Sci. 1 (2), V–VIII.

Templier V, Roux A, Roupioz Y, Livache T. 2016. Ligands for label-free detection of whole bacteria on biosensors: A review. TrAC Trends Anal. Chem., 79: 71–79.

Thomas S, et al. 2015. The expression of retinoblastoma tumor suppressor protein in oral cancers and precancers: a clinicopathological study. Dent. Res. J., 12 (4): 307.

Tian L, Hires SA, Mao T, et al. 2009. Imaging neural activity in worms, flies and mice with improved GAaMP calcium indicators. Nat. Methods, 6: 875–881.

Turner AP. 2013. Biosensors: Sense and sensibility. Chem. Soc. Rev., 42: 3184–3196.

USEPA. Mercury Update: Impact of Fish Advisories, EPA Fact Sheet EPA-823-F-01-011, EPA, Office of Water: Washington, DC, USA, 2001.

Valastyan S, Weinberg RA. 2011. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. Cell, 147 (2): 275–292.

Verma N, Kaur G. 2016. Trends on Biosensing Systems for Heavy Metal Detection. In Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, Volume 74, pp. 33–71, ISBN 978-0-444-63579-2.

Vu T, Claret FX. 2012. Trastuzumab: updated mechanisms of action and resistance in breast cancer. Front. Oncol., 2: 62.

Way JC, Collins JJ, Keasling JD, Silver PA. 2014. Integrating biological redesign: Where synthetic biology came from and where it needs to go. Cell, 157: 151–161.

Weng X, Neethirajan S. 2017. Ensuring food safety: Quality monitoring using microfluidics. Trends Food Sci. Technol., 65: 10–22.

Xiao Y, Lubin AA, Heeger AJ, Plaxco KW. 2005. Label-free electronic detection of thrombin in blood serum by using an aptamer-based sensor. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 44: 5456–5459.

Yildirim N, Long F, He M, Shi HC, Gu AZ. 2014. A portable optic fiber aptasensor for sensitive, specific and rapid detection of bisphenol-A in water samples. Environ. Sci. Process Impacts, 16: 1379–1386.

Yoshida K, Miki Y. 2004. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. Cancer Sci., 95 (11): 866–871.

Zhang D, Lu Y, Zhang Q, et al. 2015. Nanoplasmonic monitoring of odorants binding to olfactory proteins from honeybee as biosensor for chemical detection. Sens. Actuators B Chem., 221: 341–349.

Zhang F, Zhang Q, Zhang D, Lu Y, Liu Q, Wang P. 2014. Biosensor analysis of natural and artificial sweeteners in intact taste epithelium. Biosens. Bioelectron., 54: 385–392.

Zhang W, Asiri AM, Liu D, Du D, Lin Y. 2015. Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents. Trends Anal. Chem., 54: 1–10.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***

DIGIT~Bio~TECH



# LO6 GESELLSCHAFTLICHE UND POLITISCHE AKZEPTANZ MODERNER BIOTECHNOLOGISCHER INSTRUMENTE

***Basisniveau***

AUTOR:

**TRAYANA NEDEVA & ANNA KUJUMDZIEVA**

# Inhalt

Moderne Biotechnologie auf einen Blick ... 3
Praktische Anwendungen der modernen Biotechnologie ... 4
Gesellschaftliche Einstellung zur modernen Biotechnologie ... 5
Gesellschaftlicher Einfluss ... 7
Aufbau und Verbreitung von Wissen ... 7
Auswirkungen von Wissenschaft und Technologie (W&T) auf die Gesellschaft ... 8
Wahrnehmung moderner biotechnologischer Anwendungen ... 8
Vorteile und Risiken von biotechnologischen Anwendungen ... 13
Nutzen vs. Risiken gesellschaftlicher Streit ... 13
Risikoakzeptanz ... 14
Risikomanagement ... 16
Sozialer Nutzen der modernen Biotechnologie ... 16
Akzeptanz und Verbreitung der modernen Biotechnologie ... 17
Mögliche negative Auswirkungen der modernen Biotechnologie ... 20
Sozioökonomische Auswirkungen ... 20
Auswirkungen auf Biodiversität und nachhaltige Landwirtschaft ... 21
Auswirkungen auf das Gemeinwohl ... 22
Biosicherheitsfragen der modernen Biotechnologie ... 22
Schlussfolgerungen ... 23
Verweise ... 24

# Moderne Biotechnologie auf einen Blick

Biotechnologie ist eine moderne Spitzentechnologie, die auf wissenschaftlichen Disziplinen wie Molekularbiologie, Biochemie und Zellbiologie basiert. Es akzeptiert viele neue Techniken wie Zell- und Gewebekultivierung, Zellfusion, Generekombination, mikrobielle Fermentation sowie Duplikation und Rekombination von Organismen auf zellulärer, chromosomaler und Genebene. Auf diese Weise können Organismen hergestellt werden, die den menschlichen Bedürfnissen entsprechen, neue Produkte herstellen und neue Pflanzen mit neuartigen Eigenschaften von hoher Leistung und Stressresistenz züchten. Die moderne Biotechnologie besteht aus vier technologischen Systemen. Sie sind Gen-, Zell-, Enzym- und Fermentationstechnik, von denen Gentechnik und Zelltechnik die fortschrittlichsten sind.

Neben den großen sozialen und wirtschaftlichen Vorteilen der modernen Biotechnologie besteht die Möglichkeit, die menschliche Gesundheit und die Umwelt zu schädigen. Dies kann zu vielen sozioökonomischen Problemen führen, z. B. zur Zerstörung ursprünglicher sozialer und wirtschaftlicher Muster, zur Bedrohung der biologischen Vielfalt und traditioneller Kulturpflanzensorten, zur Schädigung des sozioökonomischen Wohlergehens von Ländern oder Gemeinschaften, zur Verletzung traditioneller ethischer, moralischer und religiöser Werte.

*Die biotechnologische Praxis bei der Herstellung von Fasern, Pharmazeutika und Lebensmitteln hat Ende des 20. und Anfang des 21. Jahrhunderts eine starke Entwicklung erfahren. Diese aufkommende Technologie wird oft als die nächste technologische Revolution akzeptiert, die das Potenzial besitzt, die Art und Weise der gesellschaftlichen Anordnung in Bezug auf die Produktion und Verteilung von Gütern grundlegend zu verändern. Es wurden bereits erhebliche Investitionen in die biotechnologische Forschung zur Entwicklung neuer Produkte getätigt. Derzeit wird erwartet, dass Wissenschaft und Technologie den Verbrauchern eine große Vielfalt an gentechnisch veränderten (GV) Produkten bietet. Außerdem sind viele gentechnisch veränderte Produkte bereits in die Lebensmittelvertriebsketten gelangt. Trotz ihres Versprechens, der Gesellschaft erhebliche Vorteile zu bringen, ist die öffentliche Akzeptanz der modernen Biotechnologie weltweit sehr unterschiedlich*. Damit die Biotechnologie einen großen Nutzen für den Menschen erbringen kann, hat die internationale Gesellschaft der Biosicherheit der gesamten biotechnologischen Produktion große Aufmerksamkeit geschenkt, um deren Akzeptanz zu fördern.

# Praktische Anwendungen der modernen Biotechnologie

Heutzutage wird die Biotechnologie aufgrund ihrer Anwendungen in wenige Kategorien eingeteilt. Sie sind in Abb. 1 dargestellt.

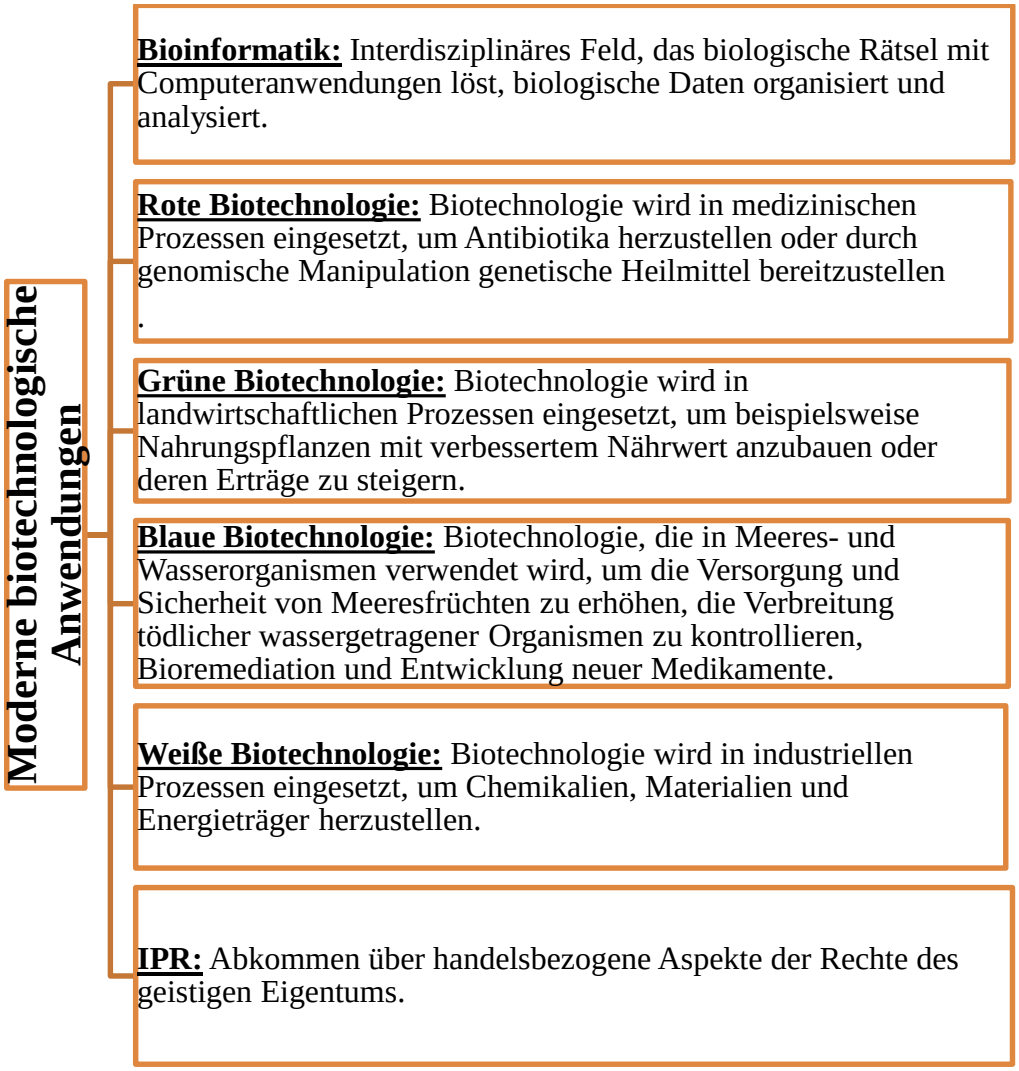



**Abbildung 1. Praktische Anwendungen der modernen Biotechnologie**

# Gesellschaftliche Einstellung zur modernen Biotechnologie

Im Allgemeinen beabsichtigt die Biotechnologie, den potenziellen Nutzen für die Gesellschaft durch die Verringerung von Hunger und Unterernährung, die Aussetzung und Heilung von Krankheiten sowie die Steigerung der Gesundheit und des allgemeinen Wohlbefindens hervorzuheben. Andererseits besteht die Meinung, dass gentechnisch veränderte Produkte als unnötiger Eingriff in die Natur verwendet werden und unbekannte und möglicherweise katastrophale Folgen haben können. Gleichzeitig gelangten in den USA gentechnisch veränderte Pflanzen in die Getreidelieferketten, ohne dass die Öffentlichkeit größere Besorgnis erregte. Außerdem wird die landwirtschaftliche Biotechnologie in Europa und vielen anderen entwickelten Ländern auf erheblichen Widerstand stoßen. Angesichts der offensichtlichen öffentlichen Besorgnis über die wahrgenommenen Risiken für Mensch und Umwelt akzeptierte die Europäische Union (EU) ziemlich begrenzte Vorschriften für alle transgenen Pflanzen in jedem Teil des EU-Lebensmittelsystems. Auf globaler Ebene ist die Situation noch vielfältiger: In Großbritannien werden Einspruchsbewegungen zu verschiedenen Anlässen auf gentechnisch veränderte Pflanzen negativ. Bis vor kurzem weigerten sich Brasilien und Indien, gentechnisch veränderte Pflanzen zuzulassen. Aufgrund ähnlicher Verbraucherbedenken haben einige Fast-Food-Lieferketten beschlossen, keine gv-Kartoffeln in ihren Produkten zu verwenden.

Der Grund gegen den Einsatz von Gentechnologien in der landwirtschaftlichen Produktion liegt darin, dass manche Menschen und Institutionen Risiken für Mensch und Umwelt sehen, andere dagegen aus moralischen, ethischen und sozialen Belangen. Die Biotechnologie geht häufig wegen der Anwendung ihrer Werkzeuge bei Pflanzen und Tieren, insbesondere des Gentransfers zwischen Arten, basierend auf dem Verständnis von "Reichen Gottes" und gegen "Naturgesetze" ab. Da Gene natürlich vorkommende Teile sind, die ein Gegenstand der Entdeckung (nicht der Erfindung) sind, besteht auch die Meinung, dass das Patenteigentum an genetischen Erkenntnissen und Verfahren moralisch und ethisch insolvent ist.

Die öffentliche Diskussion über die landwirtschaftliche Biotechnologie wirft auch einige gesellschaftliche und politische Debatten auf. Es wird über die Anwendung moderner Gentechnologien bei der Produktion von Rohstoffen in Industrieländern gesprochen, die derzeit in Entwicklungsländer importiert werden. Es wird behauptet, dass solche Entwicklungen erhebliche negative Auswirkungen auf die Armutssituation in der Dritten Welt haben und zu globaler Instabilität führen werden. Gleichzeitig sind andere Forscher der gegenteiligen Meinung. Ein weiterer Grund für die Sorge ist die Möglichkeit, dass Landwirte hinsichtlich ihrer "Produktionsmittel" ständig von multinationalen Konzernen abhängig werden, was schädliche wirtschaftliche, soziale und politische Auswirkungen mit sich bringt.

Die Bedeutung dieses Themas definiert die Notwendigkeit eines umfassenden Verständnisses der öffentlichen Interessen und Bedenken hinsichtlich einer Vereinbarung zwischen privaten und öffentlichen Entscheidungen zur Lebensmittelbiotechnologie. Die Verbraucherakzeptanz der Biotechnologie hängt nicht nur stark von den erwarteten Risiken und Vorteilen im Zusammenhang mit GV-Produkten ab, sondern auch von ihrer moralischen und ethischen Dimension. Darüber hinaus zeigen die öffentlichen Ansichten über multinationale Unternehmen, das Vertrauen in die Regierung, die Wissenschaft und die technologische Entwicklung auch ihre Einstellung zur Biotechnologie. Es zeigt sich, dass kognitive Faktoren der Verbraucher (z. B. Risikoaversion, Meinungen zu GV-Lebensmitteln) die Akzeptanz von GV-Lebensmitteln beeinflussten, während die sozioökonomischen Faktoren keine signifikanten Auswirkungen hatten. Daher, hat die öffentliche Wahrnehmung der Biotechnologie viele Dimensionen und wird möglicherweise von vielfältigen Kräften, Präferenzen und Ereignissen beeinflusst. Beispielsweise können positive Vorteile (z. B. Ernährungsvorteile durch verbesserte/neue Produkte, Umweltvorteile durch reduzierten Einsatz von Pestiziden usw.) die Verbraucherakzeptanz der Lebensmittelbiotechnologie fördern. Andererseits wird erwartet, dass die Sensibilität für Risiken für Mensch und Umwelt negative Auswirkungen auf die öffentliche Akzeptanz von GV-Produkten haben wird. Daher müssen die Aktivitäten zur Analyse und Bestimmung der Faktoren, die die Einstellung der Verbraucher zur Biotechnologie beeinflussen, dem in Abb. 2 angegebenen Verfahren folgen. Also kann die Verbraucherakzeptanz die Lebensmittelbiotechnologie fördern.

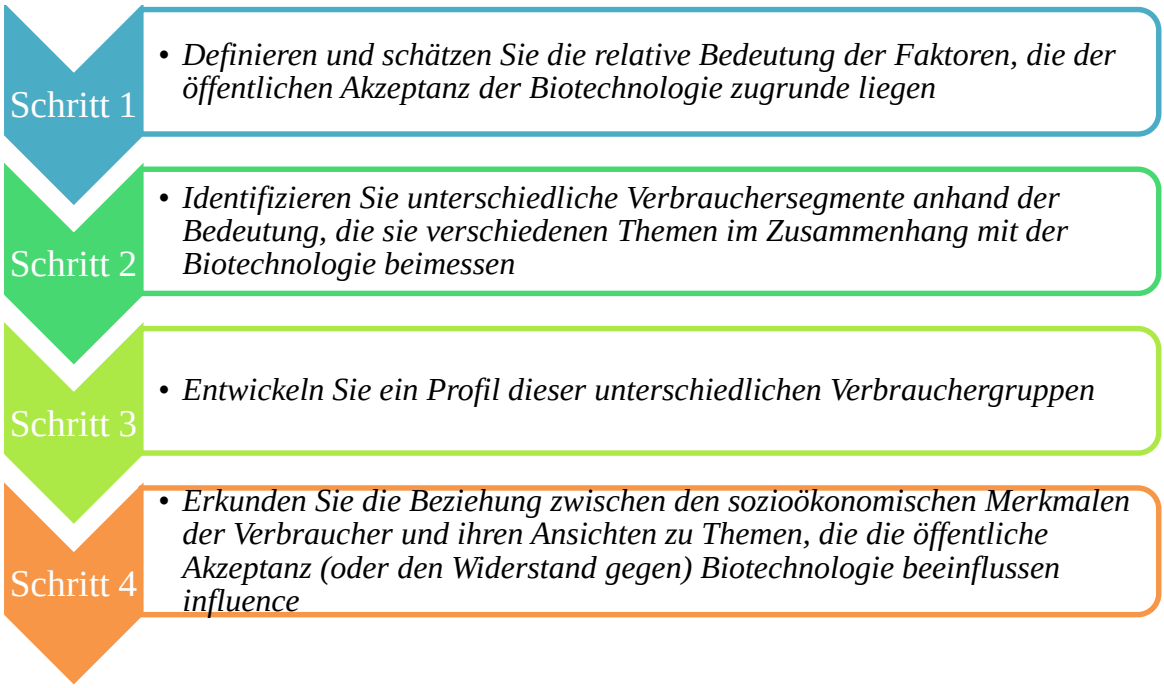



**Abbildung 2. Das Verfahren zur Analyse und Bestimmung der Einflussfaktoren auf die Einstellung der Verbraucher zur Biotechnologie**

## GESELLSCHAFTLICHER EINFLUSS

Um die Auswirkungen der modernen Biotechnologie auf die Gesellschaft zu bewerten, reicht es nicht aus, sie nur anhand spezifischer Indikatoren zu messen. Wenn der Fokus auf Dimensionen wie die Erhöhung der Zahl der Patente über gentechnisch veränderte Organismen (GVOs) gerichtet ist, zeigt dies nicht die dynamischen Kräfte an, die den Einfluss der Biotechnologie auf industrielle und gesellschaftliche Strukturen prägen. Die Wirkungsanalyse kombiniert komplexe Probleme und hat eine Vielzahl unterschiedlicher Inputs, die sowohl kurz- als auch langfristige Auswirkungen haben und die Ergebnisse des Problems oder des Technologieeinsatzes beeinflussen. Es ist von grundlegender Bedeutung, das Gespür für die Art der Verbindungen zwischen Gesellschaften, Individuen und das Kräftegleichgewicht zwischen sozialen Gruppen zu erkennen, die mit neuen Technologien konfrontiert sind.

## AUFBAU UND VERBREITUNG VON WISSEN

Ein Ausgangspunkt ist das Ergebnis des technologischen Impakts, der von der Etablierung und Verbreitung von Wissen abhängt. Sie gilt als bevorzugte Werte, soziale Praktiken und Verhaltensnormen der beteiligten Akteure bei der Entwicklung und Nutzung der Biotechnologie. Das Wissen geht über das Sammeln von biotechnologischen Informationen wie Techniken, Risiken usw. hinaus. Es umfasst auch die Art und Weise, wie diese von Einzelpersonen dargestellt und kommentiert werden. Risiko und Sicherheit für die Öffentlichkeit können nicht auf die gleiche Weise untersucht werden wie wissenschaftliche Risiken. Um diesen Unterschieden Rechnung zu tragen, muss erklärt werden, wie Vertrauen zwischen Verbrauchern und Herstellern entsteht. Kurz gesagt bietet eine solche Definition von Wissen eine Analyse der Auswirkungen der Biotechnologie und allgemeiner der Umweltpolitik und -praktiken.

Aus konzeptioneller Sicht könnte dieser Ansatz als wissensbasierter Diskurs behandelt werden. Es ist sinnvoll, den Ausdruck der biotechnologischen Wirkung im Sinne des pädagogischen, sozialen und politischen Hintergrunds zu berücksichtigen. Die Umweltdiskurse über biotechnologisches Wissen werden ebenfalls berücksichtigt, insbesondere wie es aufgebaut, akzeptiert und vielleicht am wichtigsten ist, in der Gesellschaft verbreitet und erhalten werden.

# AUSWIRKUNGEN VON WISSENSCHAFT UND TECHNOLOGIE (W&T) AUF DIE GESELLSCHAFT

In der EU gibt es eine Diskussion über Biotechnologie und insbesondere über Gentechnik und die Auswirkungen dieser Technologie. Dieses Thema muss stark in Verbindung mit dem Ergebnis sozialer Interaktionen angegangen werden. Daher sollte die Art und Weise der Realisierung dieser dynamischen Kräfte die Wechselbeziehungen und die Form der resultierenden Komplexität zwischen den Akteuren berücksichtigen.

Ein weiterer abzuschätzender Punkt sind zwei wichtige Themen bei der Untersuchung potenzieller technologischer Auswirkungen. Dies sind i) die unmittelbaren Auswirkungen der Nutzung und Entwicklung der Technologie und ii) die technologieübergreifenden Risiken. Das bedeutet die Abhängigkeit von der langfristigen Anwendung der Technologie und dem Erreichen und Erhalten einer dominanten Stellung in ihrer Wirkung auf die Gesellschaft aus bildungspolitischer, politischer und sozialer Sicht. Dies könnte im Allgemeinen durch mehr Besorgnis über die langfristigen Folgen von W&T-Aktivitäten aufrechterhalten werden, die unten aufgeführt sind:

- *Veröffentlichung von Bildungsbemühungen in der Gesellschaft*: Durchführung intensiver Bemühungen, Wissenschaftler, wichtige Meinungsbildner und Medien in eine bestehende Debatte über Biotechnologie und insbesondere über Gentechnik einzubeziehen. Das Kernziel besteht darin, ein Informationsvakuum zu vermeiden, das antibiotechnologische Aktivitäten erleichtern und Negativismus in Wissensstrukturen erzeugen kann.

- *Rolle der Regulierungspolitik in der Gesellschaft*: Fokussierung auf eine effektive Risikokommunikation und Verständnis dafür, dass sich die öffentliche Wahrnehmung von Risiken stark von der der wissenschaftlichen Gemeinschaft unterscheiden kann.

# WAHRNEHMUNG MODERNER BIOTECHNOLOGISCHER ANWENDUNGEN

Drei Hauptthemen werden identifiziert und basieren auf: i) Wissenschaft, Ethik und Geschlecht der Biotechnologie ii) Internationale politische Ökonomie, Handel und Umwelt; iii) Staats- und Systemsicherheit und Kriegsführung durch Biotechnologie. Diese allgemeinen Themen ergeben sich aus der Betrachtung der internationalen Beziehungen der Biotechnologie. Sie implizieren das Konzept der Macht in der Internationalen Politischen Ökonomie (IPE), um die unterschiedlichen Diskurse und komplexen Fragen von Technologieauswirkungen zu rahmen. Ausgehend von diesen Themen werden verschiedene Indikatoren betrachtet (Abb. 3):

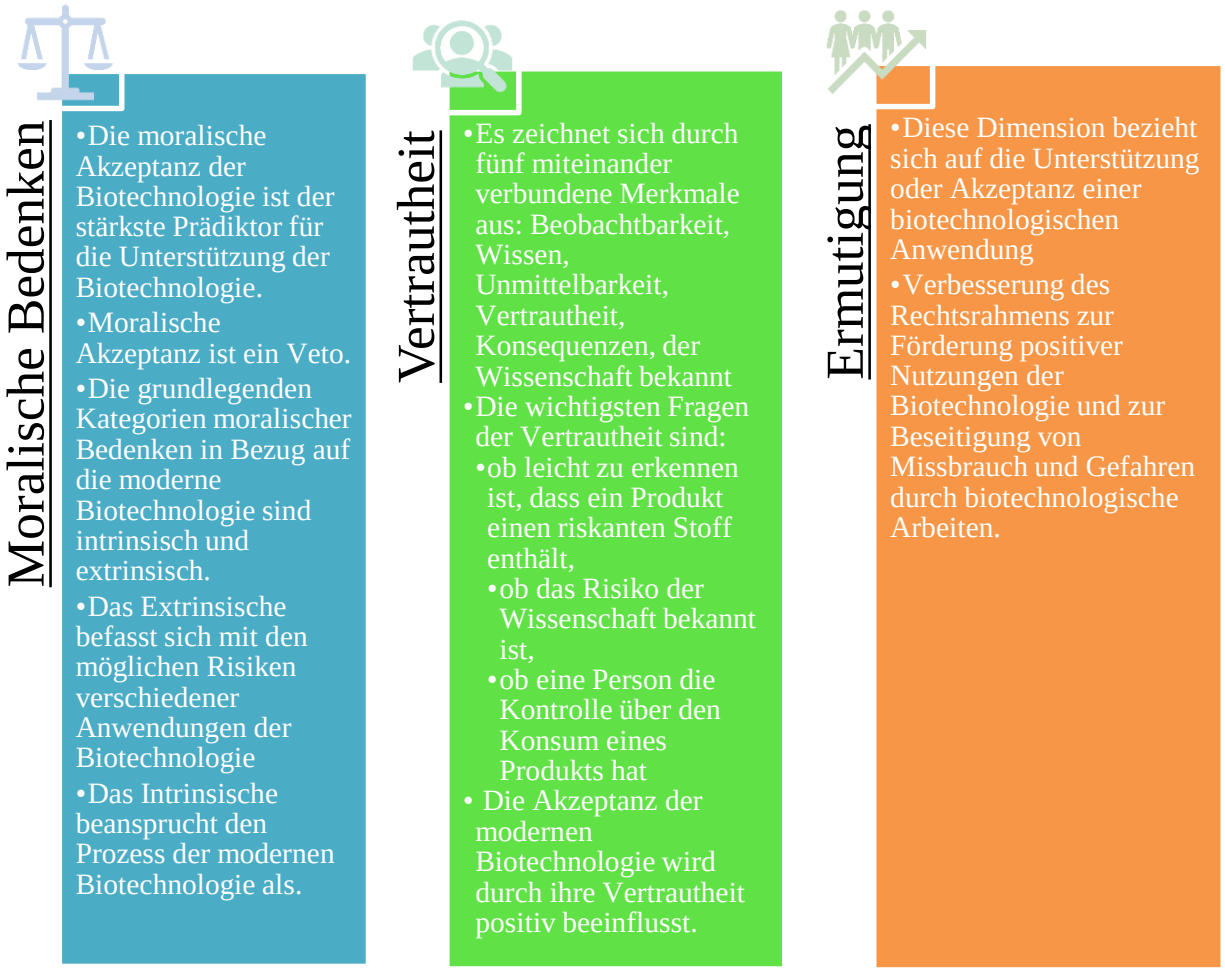



**Abbildung 3. Soziale Einstellungsindikatoren der modernen Biotechnologie**

Die moderne Biotechnologie wird als ein komplexes aufstrebendes Feld angesehen, das hohe Wissenschaft kombiniert mit begrenztem Wissen eines Teils der Gesellschaft aufweist. Es hängt mit Einstellungen gegenüber der natürlichen Umwelt, dem technologischen Fortschritt, religiösen und moralischen Überzeugungen und mehreren anderen zusammen. Eine Matrix von Variablen, darunter das Interesse der Öffentlichkeit, wie Wissenschaft und Politik, Optimismus in Bezug auf Technologien,

soziale und kulturelle Werte, Engagement für das Thema Biotechnologie und Vertrauen in die Industrie, Regulierung und andere Gruppen der Zivilgesellschaft, all diese Faktoren tragen dazu bei auf die öffentliche Darstellung und Meinungen zu Biotechnologien (Abb. 4). Es wurde festgestellt, dass Hintergrundmerkmale wie Geschlecht, Bildung, Alter und Religion auch die Einstellungen der Menschen beeinflussen.




**Abbildung 4. Faktoren der allgemeinen Einstellung**

Die ernsthafte Debatte um die Akzeptanz der Gentechnik wird von vielen Belegen begleitet, die eine Fokussierung auf spezifische Anwendungen der Technologie als der Gentechnik von sich ablehnen. Studien zeigen, dass die Einstellung der Verbraucher zu Gentransfers von der Art des Transfers

beeinflusst wird. Der Akzeptanzbereich umfasst Folgendes: i) Gentransfers von Pflanze zu Pflanze; ii) Übertragung von Tier zu Tier; iii) Tier-Pflanze oder Mensch-Tier, wobei letzteres am wenigsten akzeptabel ist.

Eine Umfrage zur Wahrnehmung moderner biotechnologischer Anwendungen, die unter Menschen aus verschiedenen Ländern/Kontinenten durchgeführt wurde, zeigte, dass medizinische Anwendungen (die zur Entwicklung von Medikamenten und Impfstoffen und Gentests führen) im Vergleich zu Anwendungen der Lebensmittel- oder Pflanzenbiotechnologie sehr akzeptabel sind. Medizinische Anwendungen im Zusammenhang mit Xenotransplantation oder dem Klonen von Tieren zur Milchproduktion stoßen jedoch auf ernsthafte Probleme. Die Asiaten zum Beispiel machen sich weniger Sorgen um medizinische Gentechnik-Produkte als um gentechnisch veränderte Lebensmittel. Die Untersuchung über das Klonen menschlicher Zellen und die Bioremediation unter den Europäern wird auf die mittlere Ebene gestellt, weniger angenommen als Gentests, aber besser anerkannt als akzeptabel als gentechnisch veränderte Pflanzen und Lebensmittel.

Eine andere Umfrage ergab, dass Gentests in der europäischen Bevölkerung immer noch die höchste Zustimmung erhielten, gefolgt vom Klonen menschlicher Zellen, der Herstellung von GV-Enzymen für umweltfreundliche Seifen und der Xenotransplantation. Am unteren Ende dieser Skala stehen GV-Pflanzen und Lebensmittel. Außerdem werden Techniken zur Manipulation von Bakterien stärker unterstützt, um Ölverschmutzungen zu beseitigen, gefolgt von krankheitsresistenten Pflanzen; danach sind Anwendungen für fettes Fleisch und besser schmeckende Tomaten und weniger Unterstützung erhalten Technologien zur Verbesserung der Milchproduktion bei Kühen.

Die malaysischen Verbraucher sind offener für die Nutzung moderner biotechnologischer Anwendungen, die keinen Gentransfer zwischen den Arten beinhalten, wie die Nahrungsmittelproduktion und gv-Pflanzen, die nur den Transfer von Pflanzengenen beinhalten. Für sie sind die Genmodifikationen in der folgenden Reihenfolge akzeptabler: i) Übertragung von Genen der Ölpalme, um ihren Fettgehalt (gesättigt) zu reduzieren, ii) Übertragung menschlicher Gene in Bakterien, um Insulin zu produzieren, iii) Übertragung von bakteriellen Genen auf Soja, um es herzustellen, die resistent gegen Herbizide sind.

Die Einstellung einer Person zu einer neuen Technologie hängt von mehreren zusammenhängenden Faktoren ab, wie der Wahrnehmung ihrer Risiken und Vorteile sowie von gesellschaftlich kommunizierten Werten und dem Vertrauen in Institutionen, die diese Technologien repräsentieren. In Bezug auf die öffentliche Wahrnehmung der Biotechnologie wird spekuliert, dass die Einstellung zur Gentechnik durch den Wert des gebotenen Nutzens, das Wissen über die Gentechnik und die wissenschaftliche Weltsicht bestimmt wird, aus der das wahrgenommene Risiko (rationale Sorgen) und Ängste oder Befürchtungen (irrationale Sorgen) ausgeschlossen werden. Außerdem müssen verschiedene kleinere Faktoren wie Hintergrundfaktoren hinzugefügt werden. Es wird angenommen, dass der Haupteffekt auf die Akzeptanz anscheinend auf dem Wissensstand, dem Bewusstsein für den Nutzen, der Zuversicht und dem Vertrauen beruht.

Die Studien zur öffentlichen Einstellung zur Biotechnologie weisen auf viele Ähnlichkeiten mit Studien zur Risikowahrnehmung hin. Einige Autoren haben den psychometrischen Ansatz verwendet, der auf der kognitiven Psychologie basiert und als das ausgereifteste und vorherrschende Paradigma in Studien zur Risikowahrnehmung gilt. Diese psychometrischen Methoden werden auf der Grundlage der folgenden Ansichten festgelegt:

- „Risiko“ als subjektive Idee und nicht als objektive aufführen;
- Technische/physische und soziale/psychologische Perspektiven in die Risikokriterien einbeziehen;
- Meinungen der „Öffentlichkeit“ (dh Laien, nicht Experten) zum Gegenstand des Interesses zu nehmen.

Somit basiert die öffentliche Akzeptanz der modernen Biotechnologie auf der Analyse der kognitiven Struktur von Risikobeurteilungen, wobei häufig multivariate statistische Verfahren wie Faktorenanalyse, mehrdimensionale Skalierung und multiple Regression verwendet werden. Dieser psychometrische Ansatz geht davon aus, dass die Öffentlichkeit das technologische Risiko nicht aufgrund einer einzigen Dimension in Verbindung mit erwarteten Verletzungen oder Todesfällen in der Nähe des Standpunkts eines Risikobewerters wahrnimmt, sondern sie interpretiert das Risiko als mehrdimensionales Konzept, das sich mit breiteren qualitativen Dimensionen befasst.

Die wichtigsten Varianten einer Risikowahrnehmungsstudie sind das wahrgenommene Ausmaß des Risikos oder der Angst, die Risikoakzeptanz, die Vertrautheit mit der Gefahr und zumindest der Faktor Nutzen. Die Bedeutung einer anderen Dimension, des „Eingriffs in die Natur“ bei Studien zur Risikowahrnehmung zur Gentechnik, ist ebenfalls sehr wichtig.

Biotechnologie steht am Zusammenfluss von Wissenschaft und Ethik. Die Entwicklung von Technologie ist mit einer ethischen Vision verbunden, die wiederum von spezifischen Fragestellungen geprägt ist. Jede Menge Biotechnologie kann auf ihren Nutzen für die menschliche Gesellschaft hin bewertet werden. Aber man muss bedenken, dass die Biotechnologie auch einen gefährlichen Teil hat. Sie kann unvorhergesehene Folgen haben, die schädliche Auswirkungen haben oder Menschen entmenschlichen können. Daher müssen die ethischen Fragen der vorgeschlagenen Wirkungen sorgfältig untersucht werden.

Die ethische Bewertung neuer Technologien, einschließlich der Biotechnologie, erfordert einen anderen ethischen Ansatz. Es besteht die Notwendigkeit für Veränderungen, da eine neue Technologie aufgrund von i) Einschränkungen eines auf Rechten basierenden ethischen Ansatzes einen tiefgreifenderen Einfluss auf die Welt haben kann; ii) die Bedeutung und Schwierigkeit der Vorhersage von Konsequenzen; iii) jetzt die Möglichkeit, Menschen selbst zu manipulieren.

Die ethischen Fragen der Biotechnologie sind sehr unterschiedlich. Aufgrund des Potenzials für tiefgreifende Veränderungen in der menschlichen Zukunft müssen solche Fragen sorgfältig geprüft werden. An erster Stelle ist es notwendig, die Verantwortung gegenüber der Natur und anderen, einschließlich zukünftiger Generationen, zu artikulieren und vorherzusagen und sich dann auf Rechte und Freiheit zu konzentrieren. Die wahre Macht und das Potenzial der Biotechnologie erfordern große

Vorsicht, um ethischen Fortschritt zu gewährleisten, da die Biotechnologie als wesentliche Kraft zur Verbesserung der Lebensqualität der Menschen im 21. Jahrhundert akzeptiert wird.

Biotechnologie ist untrennbar mit Wissenschaft und wissenschaftlichem Wissen verbunden. Aber manchmal gibt es Zweifel, dass die Biotechnologie eng mit der Ethik verbunden ist. Schließlich fördern verschiedene biotechnologische Trends eine bestimmte Lebensvision, von denen einige gut für das Leben sind und es verdienen, gefördert oder verfolgt zu werden, andere sind jedoch schlecht und sollten beseitigt werden. Diese Vision beeinflusst die Entscheidungen der Menschen und beeinflusst ihren Sinn für ethisch angemessene Biotechnologie.

Manchmal wird die Verbindung zwischen Biotechnologie und Ethik als Konfliktpunkt beschrieben. Einmal hat man den Eindruck, dass Ethik nur dann gebraucht wird, wenn man anderen sagen will, dass sie falsche Dinge tun. Dies ist bis zu einem gewissen Grad einleuchtend, da Streit, Debatte und Argumentation gemeinsame Bestandteile der Ethikberatung sind. Aber ebenso wichtig ist die Ethik im Konsens, dass der eingeschlagene Weg gut und richtig ist. Natürlich braucht es keine ethische Debatte, wenn es um die Suche nach einem Heilmittel für Krebs geht. Daher wird die Lösung für eine solche Suche durch ein allgemeines Verständnis vorhergesagt, dass es einen ethischen Grund für die Heilung von Krebs gibt. Die Bemühungen, Ressourcen und Kreativität, die der Erarbeitung besserer Behandlungsmethoden gewidmet sind, sind ethisch vertretbar und der Großteil dieser Errungenschaften ist auf die Biotechnologie zurückzuführen.

# Vorteile und Risiken von biotechnologischen Anwendungen

Die gesellschaftliche Akzeptanz von Nutzen und Risiken moderner Biotech-Anwendungen betrifft:

- Nutzen vs. Risiken gesellschaftlicher Streit
- Risikoakzeptanz als Schlüsselelement der Risikowahrnehmung
- Instrumente zur Messung der öffentlichen Einstellung zu Risiken und Nutzen: Risikomanagement

## NUTZEN VS. RISIKEN GESELLSCHAFTLICHER STREIT

Um die Akzeptanz biotechnologischer Anwendungen zu bestimmen, ist es sehr wichtig, die wahrgenommenen Vorteile und Risiken zu bewerten. Das Diagramm in Abb. 5 fasst sie zusammen.




**Abbildung 5. Wahrgenommener Nutzen und wahrgenommene Risiken**

## RISIKOAKZEPTANZ

Eine weitere Schlüsselvariable ist die Risikoakzeptanz, die wichtig ist, um die Risikowahrnehmung zu messen. Aber es wird selten in der Einstellung zu biotechnologischen Studien verwendet. Hervorgehoben wird die harte Situation mit modernen Technologien, sie sind immer mit Risiken verbunden, die für die Gesellschaften ernsthafte Probleme darstellen. Politische Entscheidungsträger haben die Kosten-Nutzen-Analyse als Grundlage der

Entscheidungsfindungsmethodik für die gesellschaftliche Risikoakzeptanz betrachtet. Die Kernfrage, die bei der Nutzen-Risiko-Analyse zu lösen ist, lautet: Ist dieses Produkt (Aktivität, Technologie) anrechenbar sicher oder wie sicher ist sicher genug? Es gibt zwei Hauptansätze für die Durchführung der Risiko-Nutzen-Analyse (Abb. 6).

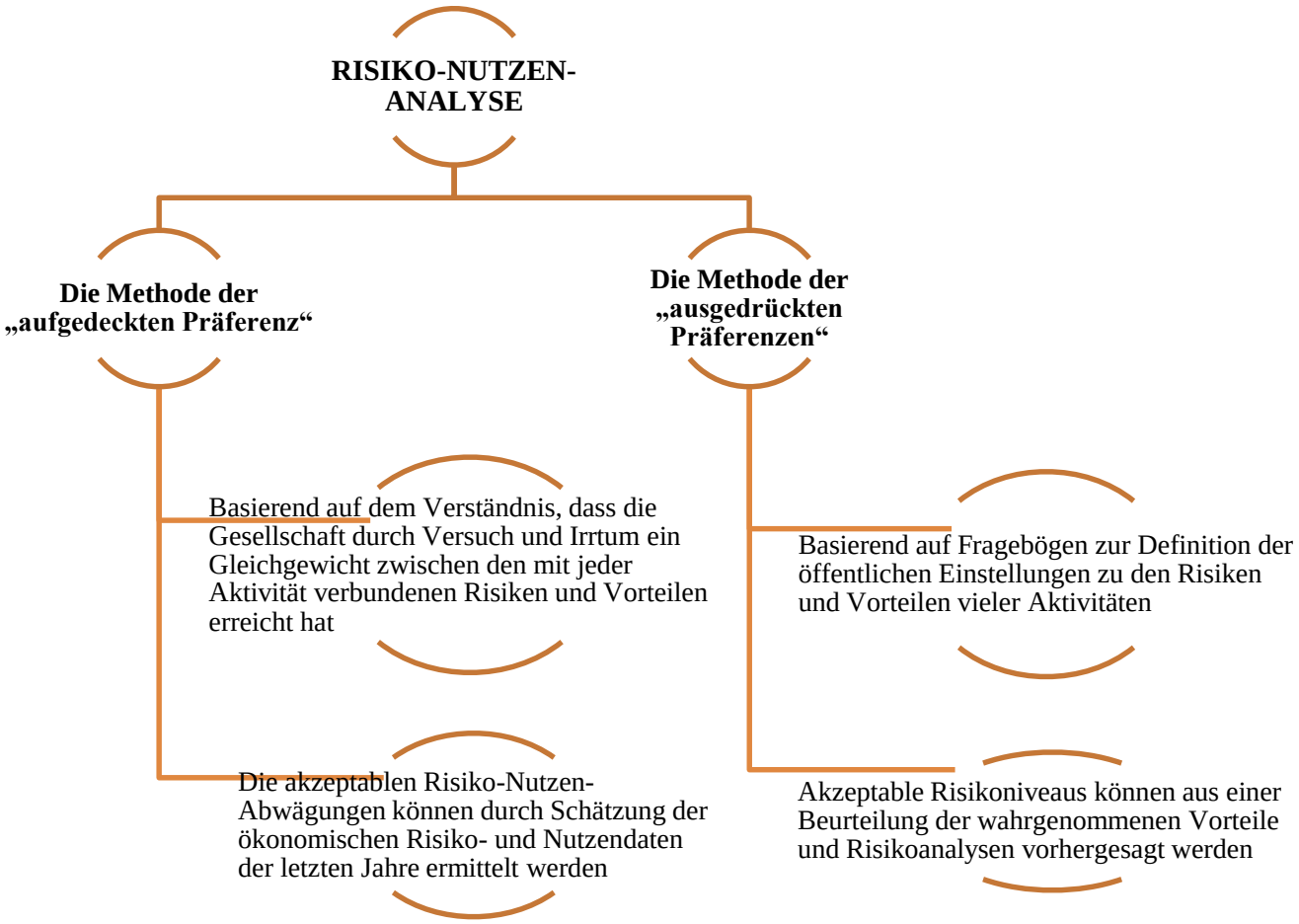



**Abbildung 6. Ansätze zur Risiko-Nutzen-Analyse**

# RISIKOMANAGEMENT

Das Risikomanagement ist der Prozess, der darauf abzielt, die Auswirkungen zu verringern und die Art und Weise, wie Menschen darauf reagieren, auszugleichen. Wenn man alle Risiken verdrängen will, ist dies kein gangbares Ziel. Menschen gehen bereitwillig Risiken ein, wenn sie eine Vielzahl von Aktivitäten ausführen. Daher ist die Frage nach dem akzeptablen Risiko nicht ausschließlich technisch; ihre Antwort hängt von Werten ab. Vereinfacht lässt sich beispielsweise ein einfacher Schwellenwert für ein akzeptables Risiko festlegen - eins zu einer Million Lebenszeitrisiken. Alle Aktivitäten, die riskanter als dieser Schwellenwert sind, sind „inakzeptabel“ sowie alle weniger riskanten Aktivitäten sind „akzeptabel“.

Es gibt jedoch zwei Gründe, warum dieser Ansatz nicht funktioniert. Die erste hängt mit der oben erwähnten Risikowahrnehmung zusammen. Die Leute reagieren nicht einfach auf Risiken; die Akzeptanz des Risikos im Bewusstsein der Öffentlichkeit ist nicht nur eine Frage der vermeintlich fatalen Dinge, sondern umfasst auch andere Elemente der Aktivität. Zum Beispiel, wenn die Aktivitäten freiwillig unternommen werden, wenn der Prozess, der zum Risiko führt, neu/alt oder vertraut ist, ob der Prozess eine intuitive, emotionale Angstreaktion hervorruft oder nicht. Um ein akzeptables Risiko zu definieren, müssen daher die oben beschriebenen Prozesse der Risikokommunikation und des Risikoengagements einbezogen werden. In der zweiten Ausgabe sind einige Aktivitäten unerlässlich und müssen getroffen werden, auch wenn sie relativ hohe Risiken mit sich bringen.

Außerdem könnte es andere Fälle geben, in denen es kostengünstige Alternativen gibt, um weniger riskante oder modifizierte Aktivitäten durchzuführen. In diesen Fällen kann das Risiko aufgrund der verfügbaren Alternativen als inakzeptabel vorhergesagt werden. Dies ist ein wirtschaftliches Thema, das sich mit mehreren Ressourcen befasst, die der Risikominderung gewidmet sind. Neben den wirtschaftlichen Problemen ist es möglich, Risiken nicht in absoluten Werten, sondern in ihren internen Unterschieden zwischen Alternativen zu betrachten.

Sehr oft ist es jedoch nicht möglich, dem Risiko vollständig zu entgehen; vielmehr muss man zwischen verschiedenen Risiken wählen. Daher gibt es weder einen definitiv akzeptablen Schwellenwert für das zulässige Risiko noch einen einzigen geeigneten monetisierten Wert für die Risikominderung. Der gesellschaftliche Wunsch, in die Risikominderung zu investieren, hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, die die Risikowahrnehmung steuern, wie die mit dem Risiko verbundene Angst, sein katastrophales Potenzial usw.

# SOZIALER NUTZEN DER MODERNEN BIOTECHNOLOGIE

Biotechnologien finden breite Anwendung in Bereichen wie Medizin und Hygiene, Land- und Forstwirtschaft, Züchtung, Fischerei, Energie- und Chemieindustrie, Hütten- und Bergbauindustrie, Lebensmittel- und Leichtindustrie, Umweltschutz. Die moderne Biotechnologie hat nach und nach ihren großen potenziellen Beitrag zur Produktivität unter Beweis gestellt, obwohl sie bisher nur eine kurze

Geschichte von mehreren zehn Jahren hat. Die moderne Biotechnologie wird ein wirksames Mittel sein, um die Zwänge der Welt in den Bereichen Ernährung, Gesundheit, Energie, Ressourcen und Umwelt zu verringern. Die Entwicklung und Anwendung der modernen Biotechnologie wird über lange Zeit Menschen und die Gesellschaft tief berühren.

Biotechnologische Industrien werden wahrscheinlich die führenden Industrien des 21. Jahrhunderts werden. Von biotechnologisch hergestellten Pflanzensorten mit neuartigen Merkmalen hoher Produktivität und Stressresistenz (Aridität, Kälte, hoher Salzgehalt usw.) wird beispielsweise erwartet, dass sie nicht nur die Getreideproduktion steigern, sondern auch den Einsatz von landwirtschaftlichen Chemikalien (wie Pestiziden) verringern , Herbizide und Düngemittel), die der Umwelt zugute kommen. In Bezug auf Medizin und Hygiene wurden viele Medikamente wie DNA-Impfstoffe, Protein-Engineering-Medizin, monoklonale Antikörper, Antisense-RNA-Medikamente von der Biotechnologie entwickelt. Transgene Tiere und Pflanzen, die bestimmte Medikamente (wie Impfstoffe und Hormone) produzieren, können dazu beitragen, Krankheiten im Rahmen der täglichen Ernährung zu reduzieren. Human Genome Project (HGP) und die Erforschung einiger Krankheitsgene werden die genetischen Gründe für einige Krankheiten aufdecken. Die Umweltverschmutzung nimmt derzeit zu, aber biotechnologisch hergestellte biologische Transformationsreaktoren versprechen, Schadstoffe oder Abfälle aufzunehmen und in Materialien mit geringer oder keiner Toxizität zu zersetzen.

Daher nehmen in der heutigen, von wissensintensiven Industrien geprägten Gesellschaft Länder auf der ganzen Welt, insbesondere die Industrieländer, die Biotechnologie ernst. Für Forschung und Entwicklung in der Biotechnologie werden große Mengen an Arbeitskräften und finanziellen Ressourcen bereitgestellt. Es werden relevante Entwicklungsstrategien und -politiken ausgearbeitet und Unterstützungsmechanismen geschaffen, um die Entwicklung der Biotechnologie zu stimulieren.

# Akzeptanz und Verbreitung der modernen Biotechnologie

Obwohl es viele Studien zur öffentlichen Einstellung oder Wahrnehmung zur Biotechnologie gab und einige Forscher versuchten, Faktoren zu identifizieren, die die Einstellung entweder durch Regression oder Korrelation vorhersagen, gibt es nur wenige Studien, die versuchen, ein Strukturmodell zu erstellen, das die Einstellung zur Biotechnologie vorhersagt.

Das erste dokumentierte Modell wurde von Kelley (1995) entwickelt, der einen strukturierten Weg für die Genehmigung der Gentechnik durch die Australier vorschlug (Abb. 7). Später haben Pardo et al. (2002) schlugen ein weiteres Modell zur Erklärung der europäischen Haltung gegenüber biotechnologischen Anwendungen vor. Kelley fand heraus, dass die Zulassung der Gentechnik

hauptsächlich durch landwirtschaftliche und gesundheitliche Ziele (nutzbringende Aspekte) vorhergesagt wurde. Andererseits sagten wissenschaftliche und gentechnische Erkenntnisse keine Zulassung voraus. Auch demografische Variablen hatten keinen direkten Einfluss auf die Zulassung von Gentechnik (ihre Auswirkungen waren statistisch nicht signifikant). Es wurde festgestellt, dass das Geschlecht das Wissen und die wissenschaftliche Weltanschauung beeinflusst, während das Alter das Wissen, das Ziel und die wissenschaftliche Weltanschauung beeinflusst, wodurch ein sehr schwacher (indirekter) Einfluss auf die Zustimmung ausgeübt wird. Bildung hatte einen großen Einfluss auf Wissen, aber nicht auf Einstellungen. Beruf und Religion hatten keinen Einfluss auf eine der Zwischenvariablen. Grüne Befürworter standen der Gentechnik (negativer direkter Effekt auf die Zulassung von Gentechnik) weniger positiv gegenüber als Befürworter der Labour Coalition (Politik).

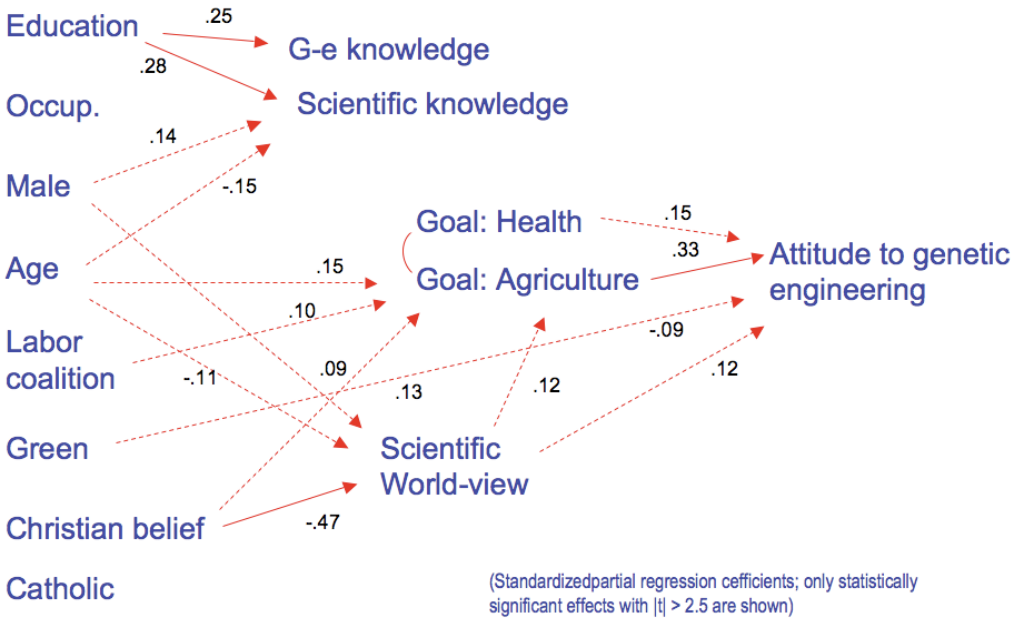



**Abbildung 6. Ein Modell der „Einstellung zur Gentechnik“ von Kelly (1995)**

Es wird oft spekuliert, dass die Biotechnologie die Technologie ist, die Wirtschaft und Gesellschaft tiefgreifend verändern wird. Nach solchen Stellungnahmen haben die Entwicklung und Anwendung der Biotechnologie ein erhebliches Potenzial für weitreichende wirtschaftliche, soziale und ökologische Auswirkungen. Aus diesem Grund ist die Biotechnologie für wissensbasierte Volkswirtschaften und ihre Regierungen von strategischer Bedeutung. Nationen, die es versäumten, biotechnologische Fähigkeiten zu entwickeln, scheitern daran, die wirtschaftlichen Auswirkungen zu realisieren.

Biotechnologiebezogene Anwendungen verteilen sich auf mehrere sehr unterschiedliche Industriesektoren, zB Lebensmittelproduktion, Textilveredlung, Zellstoff und Papier, Landwirtschaft, Energieerzeugung, Chemie und Petrochemie sowie Pharmazie. Die von diesen Sektoren hergestellten Produkte unterscheiden in der Regel nicht zwischen alternativen Produktionsverfahren. Somit wäre für viele Produkte eine Unterscheidung zwischen biotechnologischen und konventionellen (zB chemischen) Produktionsverfahren sowie die Einführung einiger neuer Verfahren notwendig. Darüber hinaus ist die Biotechnologie ein dynamisches Feld, und bestimmte biotechnologische Produktionsverfahren werden wahrscheinlich bald neu entwickelt und völlig neue Produkte erscheinen. Aktuelle amtliche Statistiken und bestehende Unternehmensbefragungen können fachspezifische Informationen über die Verbreitung biotechnologischer Anwendungen und ihre wirtschaftlichen Auswirkungen geben. Die Daten wurden ständig aktualisiert und verschiedene technisch-ökonomische Studien durchgeführt, um zukünftige Produktionsprognosen und Szenarien zu liefern. Sie wenden eine Mischung aus Methoden und Quellen an und konzentrieren sich häufig auf Expertenurteile, Fallstudien und verschiedene Statistiken.

Eine Alternative zur Messung der Verbreitung der eingesetzten Biotechnologie für große Fertigungssektoren ist das Konzept des biotechnologischen Vertriebs (BRS). Vorhandene Studien haben verschiedene Ansätze zur Messung verwendet (Definition der Biotechnologie-Aggregationsebene, untersuchte Sektoren, Szenarioannahmen etc.). Um die Auswirkungen der Verbreitung der Biotechnologie zu bewerten, wurden außerdem ein Input-Output-Modell und relevante Indikatoren eingeführt, um ihre Auswirkungen auf die Beschäftigung zu untersuchen. Das Modell untersucht vergleichend, wie sich die Biotechnologie auf wichtige Anwendungsbereiche auswirkt. Es vergleicht die Marktdurchdringung in den Jahren 2004 und 2020 anhand der Diffusionsraten, gemessen mit Ober- und Untergrenzen. Dieser Ansatz trägt dazu bei, die Auswirkungen der Biotechnologie nicht zu überschätzen und gleichzeitig bestimmte innovative biotechnologische Anwendungen zu erfassen. Die Daten dieser Umfrage weisen auf ein nahezu ähnliches Verbreitungsmuster in Pharmazeutika, Lebensmittelverarbeitung und Landwirtschaft hin. Es wird erwartet, dass die Verbreitung bis 2025 in allen Sektoren stark zunehmen wird, wie die Durchdringung bestimmter Produktgruppen zeigt. Es zeigte sich jedoch, dass der Verbreitung der Biotechnologie ein ernsthaftes Misstrauen entgegensteht; die Erwartungen für 2025 sind höchst ungewiss. Die Analyse dieser Tendenz zeigt, dass es Diffusionsbarrieren gibt, die in Abb. 7 angegeben sind.

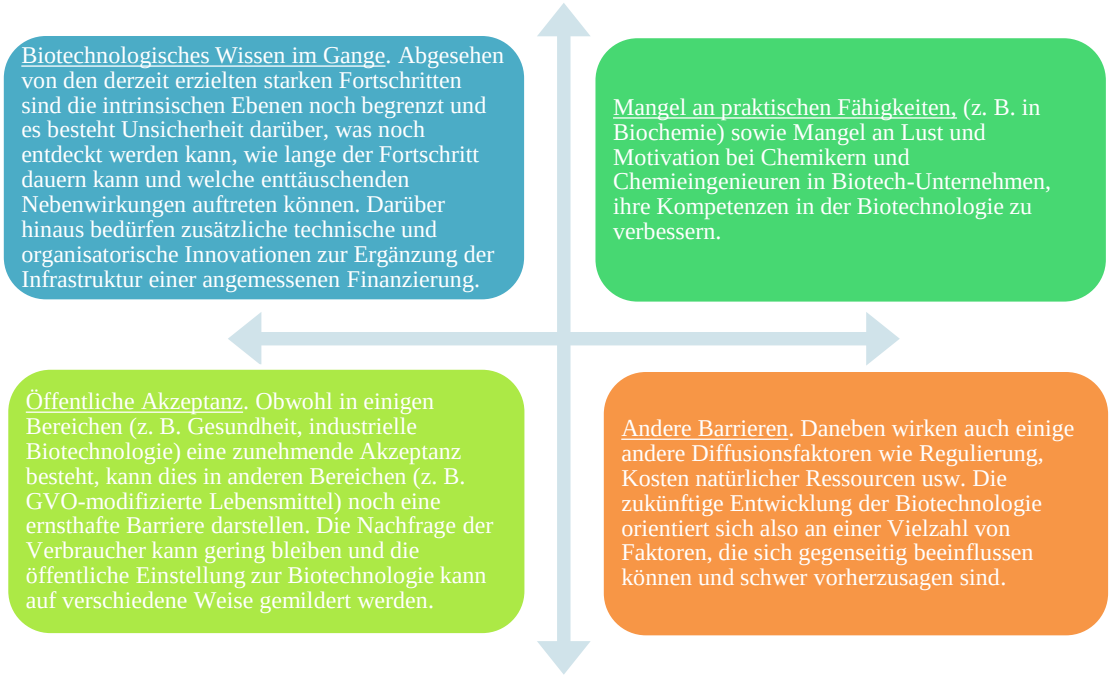



**Abbildung 7. Haupthindernisse, die die Verbreitung der Biotechnologie behindern**

# Mögliche negative Auswirkungen der modernen Biotechnologie

## SOZIOÖKONOMISCHE AUSWIRKUNGEN

Motiviert, großen wirtschaftlichen Gewinn zu erzielen, haben viele namhafte internationale Wirtschaftsunternehmen erhebliche Kapitalinvestitionen in die Forschung und Entwicklung der Biotechnologie getätigt und auf diese Weise die gesellschaftlichen und wirtschaftlichen Trends der früheren Welt verändert. Ein solches Beispiel ist das Unternehmen Monsanto (ehemals mit Sitz in den USA und heute Teil des globalen Konsortiums BASF). Traditionell in der chemischen Industrie tätig, hat das Unternehmen nach 1985 ernsthafte geschäftliche Neuordnungen vorgenommen, in 3 biotechnologische Sektoren investiert und wurde zu einem großen Konsortium, das sich mit Forschung und Entwicklung in den Biowissenschaften befasst. Nach 1998 wurden weltweit rund 20 Millionen

Hektar Felder mit dem gentechnisch veränderten Saatgut von Monsanto bepflanzt. Bald darauf machte Monsanto durch ein vollständig integriertes System für den Handel mit gentechnisch verändertem Saatgut und landwirtschaftlichen Chemikalien einen Schritt auf dem internationalen Markt für Pflanzensaatgut. Auf diese Weise erhielt Monsanto die Kontrolle über einen großen Teil der Nahrungskette der menschlichen Bevölkerung und erzielte enorme Gewinne, indem sie diese mit gentechnisch veränderten Pflanzen fütterte. Dies ist ein Beispiel dafür, wie in der gegenwärtig globalisierten Welt eine Möglichkeit für einige multinationale Konzerne entsteht, über den menschlichen Nahrungsmittelkonsum zu entscheiden.

Bei der Anwendung in der Milchwirtschaft kann das gentechnisch hergestellte bovine Wachstumshormon (BGH) die Milchleistung einer Milchkuh um 30 Prozent steigern. Das bedeutet 10 Prozent weniger Futtereinsatz. Das Ergebnis ist also für die Milchindustrie sehr beeindruckend.

Viele Medikamente, wie Impfstoffe zur Behandlung von Malaria und Cholera, werden den Patienten über neue Antigene zur Verfügung gestellt, die mit modernen biotechnologischen Methoden synthetisiert werden. Sie lassen die Krankheits- und Sterberaten in vielen Ländern (insbesondere in den Entwicklungsländern) rapide sinken, was mit den Bevölkerungswachstumsraten einhergeht. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach den Auswirkungen auf die ohnehin unzureichende Wirtschaft und Infrastruktur der genannten Länder.

## AUSWIRKUNGEN AUF BIODIVERSITÄT UND NACHHALTIGE LANDWIRTSCHAFT

Viele gv-Pflanzen enthalten fremde Gene von anderen Pflanzen, Tieren und Mikroben. Alle diese fremden Gene können durch die Pollen genetisch veränderter Pflanzen auf andere Pflanzen in der Natur übertragen werden und verursachen eine Verschmutzung des natürlichen Pools genetischer Ressourcen. Da die Mehrheit der transgenen Pflanzen wirtschaftlich nützliche Eigenschaften wie hohe Produktivität, Resistenz gegen Krankheiten und Schädlinge, Stressresistenz aufwiesen und Landwirte von wirtschaftlichen Interessen angezogen werden, diese Pflanzen anstelle von traditionellen Kulturpflanzensorten anzubauen, ist die vorhergesagte Gefahr für die natürlichen Ressourcen von sehr ernsthafter Natur. Auch die Technologien zum Panieren einer Monokultur von Nutzpflanzensorten in einigen Feldern können zum Verlust der Biodiversität beitragen. Langfristig also kann dieser Abbau der genetischen Basis die natürliche Resistenz der Pflanzen gegen Krankheiten und Schadinsekten verringern und die Ernteerträge verringern. Auf diese Weise könnte die globale nachhaltige Entwicklung gefährdet werden.

*Bacillus thuringiensis* (Bt) ist ein Bodenbakterium, das verwendet wird, um ein Toxin gegen Insekten in Pflanzen zu synthetisieren. Es wird seit vielen Jahren als mikrobielles Pestizid verwendet, und die Gene, die diese insektiziden Toxine codieren, könnten in die Zellen vieler Nutzpflanzen wie Baumwolle, Soja und Raps eingebracht werden, um schädlingsresistente Nutzpflanzen zu erzeugen. Die Umweltexperten und die Green Peace Corporation beunruhigen in diesem Fall die Tatsache, dass die Toxinproduktion erst im späten Lebenszyklus der transgenen Pflanzen erfolgt und die Möglichkeit

besteht, die Resistenz von Schädlingen gegen die Bt-Toxine gemeinsam zu erhöhen. Diese Situation würde also zu einem stärkeren Einsatz von Bt-basierten Pestiziden führen, da ihre Wirksamkeit verloren geht und schwere wirtschaftliche Verluste verursacht werden.

## AUSWIRKUNGEN AUF DAS GEMEINWOHL

Die Nutzung der Gentechnik für den Menschen könnte die Diagnose und Heilung genetisch bedingter Krankheiten wie einiger Krebsarten, Hämophilie usw. erleichtern. Eine solche Gendiagnostik kann jedoch auch einen gegenteiligen Effekt auf die Beschäftigungs- und Heiratsaussichten von Menschen haben. Durch Gentechnik können Tiere, Pflanzen und Mikroben in Biofabriken zur Herstellung verschiedenster Chemikalien umgewandelt werden. Somit können sie als konstante biologische Produzenten behandelt werden und gleichzeitig kann das steigende Potenzial für Produktergebnisse sozioökonomische Probleme verursachen. Nehmen Sie an, dass bestimmte mikrobielle Stämme manipuliert werden, um eine wertvolle Substanz im großen Maßstab zu produzieren. In einem solchen Fall ist es wichtig, die Auswirkungen dieser Produktion auf die weltweit größten Hersteller des gleichen Stoffes vorherzusagen.

# Biosicherheitsfragen der modernen Biotechnologie

Eine unbequeme Anwendung der Biotechnologie kann wie andere fortschrittliche Technologien viele Risiken mit sich bringen. Beispielsweise können die neu eingeführten Gene in gentechnisch hergestellten Pflanzen zu allergischen Reaktionen führen. Die in Pflanzen eingeführten ökonomisch wichtigen Merkmale der Schädlingsresistenz, Herbizidresistenz oder Stressresistenz können diese transgenen Wirte aus landwirtschaftlichen Anbausystemen entfernen. Die Gene für Resistenz in transgenen Pflanzen können auf ihre wilden Unkrautverwandten übertragen werden, und diese können in "Super"-Unkräuter umgewandelt werden, deren Kontrolle sehr schwierig ist. Somit wird die großflächige Freisetzung transgener schädlingsresistenter Pflanzen in die Umwelt einen starken Selektionsdruck verursachen, um die Resistenz der Zielschädlinge zu erzwingen.

Die transgenen Virusresistenzpflanzen, die bereits mit fremden Virusgenen transformiert wurden, besitzen viruskodierte Proteine, die mit dem genetischen Material anderer Viren rekombinieren können, um neue Virustypen mit höherer Toxizität zu ergeben. Wenn die selektive Abtötung der Zielschädlinge und -pathogene nicht möglich ist, können die transgenen resistenten Pflanzen gegen Schädlinge sofort andere Organismen vergiften und auch über Nahrungsketten schädliche Wirkungen auf nützliche Mikroorganismen, Insekten, Vögel und Säugetiere ausüben.

Darüber hinaus sind viele biotechnologische Produkte lebende Organismen und können sich selbst bewegen und vermehren. Sobald sie in die Umwelt gelangen und sich als giftig erwiesen haben, ist es fast unmöglich, sie zu entsorgen, und der Schaden, den sie verursachen, kann mit der Zeit immer ernster werden. Auf diese Weise können großflächige Freisetzungen transgener Pflanzen in die Umwelt das natürliche ökologische Gleichgewicht langfristig schädigen.

Bedenken hinsichtlich der biologischen Sicherheit haben die FuE-Anwendungen der Biotechnologie behindert. Die Öffentlichkeit in vielen Ländern hat ihre negative Meinung, Abneigung, ja Angst gegenüber biotechnologischen Produkten zum Ausdruck gebracht. Dies äußert sich sogar durch Demonstrationen, das Zerkleinern von Feldfrüchten, das Banding des Imports oder das Anbieten der biotechnologischen Produkte. Damit stehen die Themen der biologischen Sicherheit ganz oben auf der Agenda vieler Länder und internationaler Gesellschaften. In vielen Ländern werden Gesetze und Vorschriften zur biologischen Sicherheit formuliert, und Fragen der biologischen Sicherheit werden in vielen internationalen Dokumenten und Verträgen wie der Agenda 21 und dem Übereinkommen über die biologische Vielfalt behandelt.

# Schlussfolgerungen

Die Biotechnologie ist auf dem Weg, ernsthafte Relevanz für die Wirtschaft zu erlangen und kann in den nächsten 10 bis 15 Jahren in mehreren Anwendungsbereichen erheblich an Bedeutung gewinnen. Die Auswirkungen der modernen Biotechnologie auf die Wirtschaft insgesamt sind jedoch sehr unterschiedlich. Beschäftigungsschätzungen zeigen beispielsweise, dass die Zunahme des Anteils der Biotechnologie in Anwendungssektoren und ihre Anbindung an Zulieferer den Trend zum Beschäftigungsabbau aufgrund von Produktivitätseffekten anzeigt. Die wirtschaftliche Bedeutung der Biotechnologie steigt aufgrund ihrer Verbreitung in reifen Fertigungssektoren. Die Diffusion in diese Hauptanwendungsbereiche kann jedoch nur begrenzte Teile der Gesamtbeschäftigung beeinflussen. Nur wenn die Biotechnologie in anderen Sektoren zunimmt, könnten sich große gesamtwirtschaftliche Auswirkungen ergeben.

Die Tiefe der biotechnologischen Transformation der Wirtschaft hängt stark von ihrem Potenzial ab, die Schaffung neuer Produkte vorzuschlagen und die Effizienz bei der Herstellung bestehender Produkte zu verbessern. Daher wird erwartet, dass die Biotechnologie die Herstellung vieler Produkte ermöglichen würde, aber das Potenzial zur Steigerung der Arbeitsproduktivität wird als begrenzt eingeschätzt. Eine wichtige Ansicht ist, dass die Biotechnologie die Wirtschaft und die Gesellschaft anders verändern kann, indem sie mit anderen Technologien wie der IKT zusammenarbeitet. In Kombination mit anderen Technologien oder Effizienzsteigerungen, die die Produktivität und Kaufkraft erhöhen, um die Früchte der Biotechnologie zu realisieren, können bedeutende Impulse für ein solches Wirtschaftswachstum entstehen.

# Verweise

Agreements on Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights (TRIPS) available from https://www.wto.org/english/docs_e/legal_e/27-trips.pdf

Amin L, Hashim H, Sidik NM, Zainol ZA, Anua N. 2011. Public attitude towards modern biotechnology. African Journal of Biotechnology Vol. 10(58), pp. 12409-12417, Available online at http://www.academicjournals.org/AJB DOI: 10.5897/AJB11.1061

Amin L. 2013. Modern Biotechnology in Malaysia (UM Press)

Biology Online. Blue Biotechnology. http://www.biologyonline.org/kb/biology_articles/biotechnology/blue_biotechnology.html

Gaskell G, Alum N, Baouer M, Durant J, Allansdottir A, Bonfadelli H, Boy D, Cheveigne DS, Fjaestad B, Gutteling JM, Hampel J, Jelsoe E, Jesuino JG, Kohring M, Kronberger N, Midden Holden C. 1990. Activists urge ban on herbicide R & D. Science, 247:1539.

Horst W, Doelle J, Rokem S, Berovic M. 2019. Biotechnology - Volume XIII: Fundamentals in Biotechnology, EOLSS Publications, p 364.

ISAAA & The University of Illinois at Urbana Champaign (UIUC). 2003. The social and cultural dimensions of Agricultural Biotechnology in Southeast Asia Report.

Kelley J. 1995. Public perceptions of genetic engineering: Australia, Final report to the Department of Industry, Science and Technology, May 1995.

Lorenz P, Zinke H. 2005. White Biotechnology: Differences in US and EU approaches? Trends. Biotechnol. 23(12): 570-574.

Luscombe N, Greenbaum D, Gerstein M. 2001. What is Bioinformatics? A Proposed Definition and Overview of the Field. Method. Inform. Med. 4: 346-358.

Miller H, Huttner S. 1998. A baroque solution to nonproblem. Nature biotechnology, 16: 698-699.

Nielsen TH, Przestalski A, Rusanen T, Sakellaris G, Torgersen H, Twardowski T, Wagner W. 2000. Biotechnology and the European public. Nat. Biotechnol. (18): 935-938.

O'Mathúna DP. 2007. Bioethics and biotechnology. Cytotechnology. 53(1-3): 113–119. doi: 10.1007/s10616-007-9053-8

Pardo R, Midden C, Miller JD. 2002. Attitudes toward biotechnology in the European Union. Journal of Biotechnology 98, 9-24.

Wydra S, Nusser M. 2011. Diffusion and economic impacts of biotechnology – a case study for Germany. Int. J. Biotechnology, Vol. 12, Nos. 1/2, 2011 87 DOI: 10.1504/IJBT.2011.042683.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***

DIGIT~Bio~TECH




# LO8 BIOETHIK UND MODERNE BIOTECHNOLOGIE

***Fortgeschrittenes Niveau***

AUTOR:

**JÜRGEN SIMON**

# Inhalt

Synthetische Biologie ... 3
Einführung ... 3
1. Was bedeutet "Synthetische Biologie" ... 3
2. Sicherheitsfragen in der synthetischen Biologie ... 6
3. Nachhaltige Modelle für den Schutz und die Nutzung von geistigem Eigentum ... 10
4. Herausforderungen der absehbaren neuen Gentechnik-Debatte ... 11
5. Gesamtbeurteilung ... 12
Klonen von Tieren und Menschen ... 13
1. Einführung ... 13
2. Biomedizinische Forschung und Anwendung ... 14
3. Rechtliche Aspekte ... 15
4. Ethische Aspekte ... 16
5. Schlussfolgerungen und Handlungsoptionen ... 17
Recht und Ethik im Bereich der ökologischen Nachhaltigkeit ... 17
Einleitung ... 17
Das Engagement Europas für eine nachhaltige Entwicklung ... 18
Regulierung des Umweltverhaltens ... 19
Instrumente ... 19
1. Instrumente zur Durchsetzung der Umweltpolitik (Umweltplanung) ... 19
2. Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens ... 21
3. Grundsätze für politische und rechtliche Maßnahmen ... 21
Regulierung des Umweltverhaltens ... 25
1. Instrumente zur Durchsetzung der Umweltpolitik (Planung) ... 25
2. Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens ... 26
Die multidimensionale Nachhaltigkeitsstrategie ... 29
Chancengleichheit als universelle Ethik der global integrativen Nachhaltigkeit ... 30
Verweise ... 33

# Synthetische Biologie

## EINFÜHRUNG

Die synthetische Biologie ist eine neuere Erweiterung der Biotechnologie, bei der Gene und Proteine als Teile oder Vorrichtungen betrachtet werden, mit dem Ziel, diese Teile auf neuartige Weise anzuordnen und/oder zusammenzusetzen, um neue und nützliche Funktionen zu schaffen. Jüngste Fortschritte bei der Erzeugung von Biokraftstoffen, der biochemischen Produktion und dem Verständnis von Minimalgenomen profitieren alle von den Ansätzen der synthetischen Biologie. Häufig beruhen diese Projekte auf dem geordneten Zusammenfügen mehrerer DNA-Sequenzen, um große, künstliche DNA-Strukturen zu schaffen. Zu diesem Zweck haben sich Methoden entwickelt, die diesen Prozess vereinfachen.

Die Synthetische Biologie kombiniert Molekularbiologie und Systembiologie mit ingenieurwissenschaftlichen Prinzipien, um biologische Systeme und Biofabriken zu entwerfen. Ziel ist es, verbesserte biologische Funktionen zu schaffen, um aktuelle und zukünftige Herausforderungen zu bewältigen.

### 1. Was bedeutet "Synthetische Biologie"

Seit gut einem Jahrzehnt wird der Begriff "Synthetische Biologie" (kurz: Synbio) verwendet, um Forschungsprojekte, Methoden und Verfahren zum "Nachbau natürlicher Organismen" zu beschreiben. Dies geht weiter, als dies bisher mit Hilfe der Gentechnik möglich war. Die Ansätze reichen bis zur Schaffung von (kompletten) künstlichen "biologischen" Systemen. Die kurz- und mittelfristige Bedeutung sowie das längerfristige Potenzial dieses sehr heterogenen Feldes werden in Wissenschaft, Wirtschaft und Politik recht unterschiedlich bewertet, was auch an der noch fehlenden stringenten Definition liegt.

Für die Wirkungsanalyse und -debatte wird die grundsätzliche Unterscheidung von Synbio im engeren und Synbio im weiteren Sinne vorgenommen und genutzt:

Synbio im engeren Sinne bezieht sich auf die Herstellung von Zellen oder Organismen (oder zellfreien biologischen oder biochemischen Systemen), die "am Reißbrett" entworfen und de novo konstruiert werden. Diese sollen für die Herstellung beliebiger, auch völlig neuartiger Substanzen oder visionärer Anwendungen in den Bereichen Gesundheit, Energie oder Umwelt eingesetzt werden. Charakteristische Forschungsansätze und Methoden sind

(1.) die Herstellung von kompletten synthetischen Genomen,

(2.) die Konstruktion sogenannter "Minimalzellen" (entweder "top down" durch Reduktion natürlicher Zellen oder "bottom up" oder "from the scratch" aus biochemischen Grundbausteinen) und

(3.) die Verwendung nicht-natürlicher Moleküle ("Xenobiologie").

Synbio im weiteren Sinne ist dagegen ein Sammelbegriff für alle derzeit verfolgten, zunehmend informationsbasierten und meist anwendungsorientierten Ansätze zur molekularbiologischen Veränderung bekannter Organismen. Diese zielen auf die Konstruktion neuer Synthesewege für die Herstellung von Chemikalien oder den Entwurf genetischer Schaltkreise für neue sensorische und regulatorische Funktionen in bestehenden Organismen. Synbio im weiteren Sinne geht über die bisherigen einfachen gentechnischen Ansätze zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Organismen (so genanntes "Metabolic Engineering") hinaus. Zunehmend werden auch computergestützte Design- und Modellierungsverfahren eingesetzt.

Synbio im weiteren Sinne umfasst auch Genome-Editing-Verfahren, die bisher kaum unter dem Synbio-Label erfasst wurden. Ihre rasante Entwicklung und mögliche Anwendung bei Pflanzen, Tieren und auch beim Menschen gaben im Frühjahr 2015 den Anstoß für eine Intensivierung der Gentechnikdebatte auf internationaler und nationaler Ebene, die auch Synbio als Forschungsgebiet und Fördergegenstand einbeziehen wird.

Mit anderen Worten: Synbio führt verschiedene wissenschaftliche Disziplinen wie Molekularbiologie, organische Chemie, Nanotechnologie, Informationswissenschaften und Bereiche der Medizin zusammen, um biologische Organismen gezielt zu verändern, mit künstlichen Elementen zu kombinieren oder vollständig künstliche Organismen ("arificial life" oder "ALife") zu schaffen.

Sie wird als eine der neuesten und vielversprechendsten Entwicklungen in der modernen Biologie bezeichnet. Sie ist Teil der neuen und aufkommenden Wissenschaft und Technologie (NEST). Bislang gibt es keine einheitliche wissenschaftliche - und damit erst recht keine rechtliche - Definition. Ethische, theologische und rechtliche Herausforderungen im Zusammenhang mit Synbio werden angesichts ihrer Umsetzungsorientierung, des enormen wissenschaftlichen Fortschritts und des erheblichen (konkreten) Anwendungspotenzials der Synthetischen Biologie breit diskutiert.

Fünf Untergruppen werden als Hauptanwendungsbereiche von Synbio definiert:

a) DNA-Synthese: chemische Konstruktion von genetischen Codes auf der Grundlage der Matrix eines genetischen Codes eines bestehenden Organismus (mit bekannten Nukleinsäuren).

b) DNA-basierte biologische Schaltkreise: Übertragung vollständiger biologischer Systeme aus Biobausteinen.

c) Minimales Genom oder minimale Lebensform (Top-down-Prozess)

d) Protozellen: lebende Zellen, die von unten nach oben neu konstruiert werden

e) Xenobiologie: Schaffung orthogonaler biologischer Systeme, die in der Natur nicht vorkommen, basierend auf biochemischen Prinzipien, die in der Natur nicht vorkommen (XNA).

Diese fünf Untergruppen lassen sich auf drei Hauptelemente reduzieren:

1. Änderung,
2. Kopieren und
3. Neuschaffung von "Leben"

Die einzige Regelungslücke, die identifiziert werden konnte, betrifft das Element der "Neuschöpfung"; es stellt sich also die Frage, ob auch eine "de novo" synthetisch geschaffene Zelle oder ein orthogonales biologisches System, das in der Natur nicht vorkommt, eine "biologische Einheit, die in der Lage ist, sich zu vermehren oder genetisches Material auszutauschen" im Sinne des GenTG ist. Die Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) in Deutschland stellt in ihrem aktuellen Zwischenbericht vom 06.11.2012 fest, dass die meisten wissenschaftlichen Ansätze der synthetischen Biologie in den Anwendungsbereich des GenTG fallen. Lediglich neuartige lebende Systeme wie künstliche Zellen (Bottom-up-Ansatz) ohne Vorbild in der Natur fallen nicht unter das GenTG. Insofern würde eine kleine klarstellende Ergänzung der Legaldefinition des Organismusbegriffs im GenTG ausreichen, um die Lücke zu schließen. Der Zusatz könnte wie folgt formuliert werden: "Jede biologische Einheit, die in der Lage ist, genetisches Material zu reproduzieren oder zu übertragen, einschließlich Mikroorganismen, sowie jede mit technischen Mitteln geschaffene biologische Einheit, die nicht unter natürlichen Bedingungen vorkommt und die genetisches Material enthält, das in der Natur nicht vorkommt." Eine entsprechende Änderung würde klarstellen, dass synthetisch hergestellte oder veränderte Organismen oder biologische Einheiten und sogar die Verwendung von nackter, synthetisch hergestellter DNA definitiv in den Anwendungsbereich und die Kontrolle des GenTG fallen würden.

Obwohl die Synthetische Biologie keine grundlegend neue Technologie - insbesondere im rechtlichen Sinne - zu sein scheint, sondern mehr oder weniger eine direkte Fortsetzung der modernen Molekularbiologie, Genforschung oder Gentechnik darstellt, stellt sich die Frage, ob die bestehenden Gesetze ausreichen oder ob angesichts des erheblichen (konkreten) Anwendungspotenzials der Synthetischen Biologie neue Gesetze notwendig sind.

Das Bundesverfassungsgericht hat in seiner jüngsten Entscheidung zum GenTG klargestellt, dass den Gesetzgeber bei der Abschätzung der langfristigen Folgen der Gentechnik eine besondere Sorgfaltspflicht trifft, weil der Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis noch nicht abgeschlossen ist. Dabei ist der Auftrag des Artikels 20a des Grundgesetzes (GG) zu beachten, der den Gesetzgeber auffordert, seine Verantwortung für künftige Generationen durch den Schutz der natürlichen Lebensgrundlagen wahrzunehmen. "Dieser Auftrag fordert sowohl die Gefahrenabwehr als auch die Risikovorsorge. Zu den durch Artikel 20a GG geschützten Umweltgütern gehören die Erhaltung der biologischen Vielfalt und der Schutz eines artgerechten Lebens für gefährdete Tier- und Pflanzenarten." Das Bundesverfassungsgericht hat in diesem Zusammenhang deutlich gemacht, dass die Regelungen des GenTG insbesondere den Schutz vor einer unkontrollierten Ausbreitung gentechnisch veränderter

Organismen sicherstellen sollen. Allerdings muss der Gesetzgeber neue Erkenntnisse und neue wissenschaftliche Erkenntnisse berücksichtigen und prüfen, ob Änderungen in der Praxis der Risikobewertung erforderlich sind. Wenn dies der Fall ist, muss der Gesetzgeber entsprechend reagieren und die Gesetzgebung anpassen. Übersteigt das neue Risikoniveau das gesellschaftlich akzeptable Risikoniveau, muss der Gesetzgeber tätig werden. Der Gesetzgeber hat die Pflicht, ein hohes, wenn nicht das höchstmögliche Schutzniveau für die menschliche Gesundheit aufrechtzuerhalten. Kommt er dieser Pflicht nicht nach, kann die Rechtsprechung letztlich einen Verstoß gegen das Vorsorgeprinzip feststellen.

## 2. Sicherheitsfragen in der synthetischen Biologie

Fragen der biologischen Sicherheit haben die interne und externe wissenschaftliche Debatte über Synbio von Anfang an begleitet. Da die meisten Synbio-Produkte und -Verfahren am Anfang ihrer Entwicklung stehen, sind auch ihre möglichen sicherheitsrelevanten Eigenschaften wie Toxizität, Allergenität, Ausbreitungsverhalten oder Überlebensfähigkeit weitgehend unbekannt. Im Zusammenhang mit der Diskussion um das Wesen und die Neuartigkeit von Synbio konzentriert sich die Sicherheitsdebatte zur Biosicherheit seit einiger Zeit auf die politisch bedeutsame Frage bzw. Prüfung, ob die aktuellen und absehbaren Entwicklungen (noch) unter die geltenden Regelungen für Arzneimittel, neuartige Therapien, Medizinprodukte, Chemikalien und vor allem gentechnisch veränderte Organismen (GVO) fallen bzw. von diesen ausreichend erfasst werden - oder ob die Kategoriengrenzen gesprengt werden und bisherige Verfahren der Risikobewertung und des Risikomanagements nicht mehr greifen. Ein zweiter Themenkomplex betrifft Fragen der Biosicherheit, d.h. der illegalen (Biokriminalität) oder gar böswilligen (Bioterror) Verwendung biologischer Agenzien oder des zugrunde liegenden Wissens. Auch wenn viel diskutierte und umstrittene Experimente (z.B. Vogelgrippeviren), die mit der Gefahr eines solchen Missbrauchs in Verbindung gebracht wurden, bisher nicht primär aus Synbio-Forschungsprojekten stammen. Aber Szenarien einer zukünftigen synthetischen Biologie sind mit weitreichenden Befürchtungen verbunden und haben bereits zu ersten Regulierungsbemühungen geführt.

### FRAGEN DER BIOLOGISCHEN SICHERHEIT - HERAUSFORDERUNGEN FÜR RISIKOBEWERTUNG UND RISIKOREGULIERUNG

Ein aktueller Bedarf an einer Überarbeitung der Risikoregulierung für GVO in Deutschland und Europa, insbesondere im Hinblick auf "synthetisch" veränderte Organismen (SVO), ist auch heute noch gegeben. Angesichts der Dynamik der wissenschaftlich-technischen Entwicklung sowie der regulatorischen Unterschiede in verschiedenen Regionen der Welt erscheint jedoch eine vorausschauende, intensivere Beschäftigung mit der Risikoregulierung einer möglichen zukünftigen Freisetzung von SVOs durchaus angebracht.

Zentral für die Risikobewertung und Nutzenbewertung zukünftiger SVOs ist die Frage, wie eine Sicherheitsbewertung ohne substanzielle Äquivalenz zu einem bekannten Ausgangsorganismus so durchgeführt werden müsste, dass das Ergebnis von Akteuren in Forschung, Industrie, Politik sowie von zivilgesellschaftlichen Organisationen und der Öffentlichkeit/Bürgern als Grundlage für eine Zulassung zur Feldanwendung akzeptiert werden könnte. Bei Pflanzen stellt sich diese Frage ab einer größeren gentechnischen "Umstellung", bei Mikroorganismen grundsätzlich bei jeder Art von Feldanwendung, z.B. bei einer offenen Mikroalgenkultur zur Biokraftstoffproduktion, da diese bisher fast ausschließlich in geschlossenen Systemen eingesetzt werden. Eingriffe in die menschliche Darm- und andere Mikroflora könnten zu einem hochbrisanten Thema werden, weil hier die regulatorischen Zuständigkeiten unklar sind: Das deutsche Gentechnikgesetz (GenTG) bezieht sich nicht auf die Anwendung der Gentechnik am Menschen und damit wohl auch nicht auf die Bestandteile des menschlichen Mikrobioms, solange sie sich im menschlichen Körper befinden.

Das Joint Policy Paper der Deutschen Forschungsgemeinschaft kommt zu dem Schluss, dass derzeit kein oder zumindest kein nennenswerter Handlungsbedarf besteht. Die Konfliktfelder der Synthetischen Biologie sind durch das bestehende Recht abgedeckt und damit ausreichend geregelt. Zu diesem Ergebnis kommt auch die Bundesregierung. Fragen der biologischen Sicherheit sind durch das Gentechnikgesetz (GenTG), das Arzneimittelgesetz (AMG), das Infektionsschutzgesetz (IFSG) und das Chemikaliengesetz (ChemG) geregelt. Nach Ansicht der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind diese Regelungen derzeit weitgehend ausreichend, so dass kein akuter Handlungsbedarf besteht. Dies ist auch die überwiegende Auffassung der deutschen Behörden.

Auch der Deutsche Ethikrat sieht keinen Handlungsbedarf, da die Synthetische Biologie in Deutschland vollständig in den Geltungsbereich des GenTG fällt und Aspekte der biologischen Sicherheit daher weitgehend irrelevant sind. Die wichtigste Aufgabe dürfte derzeit sein, eine konsistente Definition der Synthetischen Biologie zu entwickeln, sie klar von anderen Technologien abzugrenzen und eine Antwort auf die Frage zu formulieren, worin die wesentliche Neuheit dieser Technologie eigentlich besteht. Der Rat ist sich auch darüber im Klaren, dass die Entwicklung der synthetischen Biologie neue Probleme und Sicherheitsrisiken mit sich bringen kann, die eine Antwort oder eine Debatte darüber erfordern, wie darauf zu reagieren ist. Aus diesem Grund wird die Bedeutung einer Art von Überwachungsprozess und dessen kontinuierliche Verbesserung hervorgehoben. Dieser Überwachungsprozess muss ständig verbessert werden. Die Überwachung ist gesetzlich vorgeschrieben. Die ZKBS (Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit) ist der Forderung nach einem Monitoring der Synthetischen Biologie bereits nachgekommen und hat einen ersten Bericht zu ihren Beobachtungen/zum Thema vorgelegt (1. Zwischenbericht der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) vom 6. November 2012, "Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland"). In diesem Bericht untersucht die ZKBS im Rahmen eines ihr übertragenen Beurteilungs- und Überwachungsauftrags (ZKBS 2012) mehrere neue Techniken, die zur Synthetischen Biologie gehören, und kommt zu dem Ergebnis, dass sie entweder in den Anwendungsbereich des GenTG fallen oder - falls dies nicht der Fall ist - keine regulierungsbedürftigen Risiken erzeugen. Gleiches gilt für de novo erzeugte Zellen oder für orthogonale biologische Systeme.

Eine Ergänzung des Gesetzeszwecks im Sinne des § 1 GenTG ist lediglich deklaratorisch und damit nicht erforderlich. Das Bundesverfassungsgericht hat in seiner jüngsten Entscheidung zum GenTG klargestellt, dass die Regelungen des GenTG insbesondere den Schutz vor einer unkontrollierten Ausbreitung gentechnisch veränderter Organismen gewährleisten sollen.

Darüber hinaus fordert Testbiotech, dass § 16 GenTG wie folgt ergänzt wird: "(2) Eine Freisetzung von gentechnisch veränderten oder synthetisch hergestellten Organismen ist verboten, wenn ihre Ausbreitung nicht kontrolliert oder ihre Rückholung nicht sichergestellt werden kann".

Grundsätzlich ist eine solche Regelung aus verfassungsrechtlicher Sicht nicht zu beanstanden. Die Einschätzung des Gefährdungsrisikos fällt in die Prärogative des Gesetzgebers und erfordert keinen wissenschaftlich-empirischen Nachweis des tatsächlichen Gefährdungspotentials von gentechnisch veränderten Organismen und deren Nachkommen. In einer wissenschaftlich nicht klärbaren Situation ist der Gesetzgeber zur Gefahren- und Risikoabschätzung berechtigt, zumal die geschützten Rechtsgüter verfassungsrechtlich fixiert und von hohem Wert sind und das bestehende Risiko unerwünschter oder schädlicher, vielleicht sogar irreversibler Auswirkungen im Sinne größtmöglicher Vorsorge beherrscht werden soll. Das Bundesverfassungsgericht verweist auch auf die Begründungen Nr. 4 und Nr. 5 zur Richtlinie 2001/18/EG.

Letztlich wird es kaum möglich sein, einen schlüssigen Nachweis zu erbringen, dass die unbeabsichtigte Ausbreitung gentechnisch veränderter oder synthetisch hergestellter Organismen kontrolliert werden kann und dass ihre Rückgewinnung / Rückholung in jedem Fall gewährleistet ist. Die von TestBiotech postulierte Ergänzung des § 16 GenTG würde nicht nur die synthetische Biologie betreffen. Vielmehr würde sie ein Verbot der Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in die Umwelt für alle Bereiche der Gentechnik, d.h. für alle gentechnisch veränderten Organismen, festlegen. Damit würde eine Beschränkung in Kraft gesetzt, die seit den ersten Gentechnik-Debatten postuliert wird. Daher wird eine solche Forderung politisch kaum durchsetzbar sein. Die Forderung nach einer solchen restriktiven Regelung der Freisetzung von GVO lässt vermuten, dass die Kritiker/Gegner der Gentechnik die vermeintliche Neuheit der Synthetischen Biologie nutzen werden, um ihre alten Forderungen nach einer Begrenzung der Gentechnik zu diskutieren und schließlich durchzusetzen. Dies würde wahrscheinlich das Ende der Synthetischen Biologie und der Gentechnik in Deutschland bedeuten. Auch die von der EGE geforderte Langzeitstudie zur Umweltverträglichkeit wäre kaum durchführbar/möglich, da eine solche Studie letztlich die Freisetzung von Organismen voraussetzt. Nur eine kontrollierte Freisetzung von GVOs kann "echte" und umfassende Erkenntnisse über die Umweltverträglichkeit in der natürlichen Umwelt liefern.

Ein weiteres Thema könnte die erneute Berücksichtigung von Sicherheitsanforderungen für Produktionsorganismen auch in geschlossenen Systemen ("contained use") werden, insbesondere im Hinblick auf mögliche "vollsynthetische", weitgehend neu konstruierte oder xenobiologisch massiv veränderte Organismen. Auch wenn sie noch weit von der Anwendungsreife entfernt sind, werden sie von einigen Wissenschaftlern zunehmend als vermeintlich besonders sichere Zukunftsoption ins Gespräch gebracht, weil sie sich in ihren grundlegenden biochemischen Eigenschaften unterscheiden, die u.a. einen funktionalen Genaustausch mit natürlichen Organismen unmöglich machen sollen.

Aller Voraussicht nach wird die Risikodebatte über gentechnisch veränderte Insekten oder Tiere im Allgemeinen in den nächsten Jahren an Bedeutung gewinnen - insbesondere durch die zunehmenden Möglichkeiten der Genome Editing-Techniken. Angesichts der Erfahrungen mit der Zulassung transgener Pflanzen erscheint eine konsensuale positive Risikobewertung gentechnischer Eingriffe bei Tieren, insbesondere bei solchen mit einem hohen Verbreitungspotenzial wie Insekten, in der EU sehr unwahrscheinlich.

## FRAGEN DER BIOSECURITY - SCHUTZ VOR MISSBRAUCH

Der vorsätzliche Missbrauch biowissenschaftlicher Erkenntnisse kann nicht nur die gezielte Entwicklung, Herstellung und Weitergabe von biologischen Waffen/Kampfstoffen durch reguläre militärische Einrichtungen oder terroristische Organisationen umfassen, sondern auch kriminelle Aktivitäten wie die Herstellung von Drogen, Dopingmitteln oder gefälschten Medikamenten. Über diese klandestinen oder illegalen Aktivitäten ist naturgemäß wenig bekannt, weshalb eine detaillierte, faktenbasierte Debatte zur Bewertung der Gefahren von "Bioterror" und "Biokriminalität" (durch Synbio-Aktivitäten, aber auch anderweitig) eigentlich nicht öffentlich geführt werden kann. Grundsätzlich kann jedoch die Frage nach dem möglichen Missbrauch von Technologien gestellt werden, die sowohl zum gesellschaftlichen Nutzen als auch bewusst zu schädlichen Zwecken eingesetzt werden können - so genannte "Dual-Use-Technologien".

Dabei geht es um zwei Ebenen:

1. die Generierung von sensiblem Wissen - z.B. zur Synthese und Produktion von toxischen Substanzen, hochpathogenen Viren oder resistenten bakteriellen Krankheitserregern - und
2. der Zugang zu diesem Wissen und zu den für seine Umsetzung erforderlichen Technologien oder Geräten (Laborausstattung).

Die Kontrolle der unerwünschten Verbreitung von Wissen und Technologien in den Biowissenschaften steht vor großen technischen, aber auch vor konzeptionellen, rechtlichen und ethischen Herausforderungen. Letztere wurzeln in Fragen der Einschränkung der verfassungsrechtlich geschützten Forschungsfreiheit sowie konkreter, potentiell wichtiger Möglichkeiten für die Gesundheitsforschung und -versorgung; aber auch in Fragen, ob und wie Wissen selektiv an ausgewählte Gruppen weitergegeben werden kann und wer über dieses Wissen und die Auswahl der "Empfangsberechtigten" entscheiden könnte oder sollte. Es besteht Konsens darüber, dass neben internationalen Rüstungskontrollabkommen, gesetzlichen Exportbeschränkungen für Güter und Technologien mit doppeltem Verwendungszweck und möglichen anderen gesetzlichen Regelungen zusätzliche Governance-Maßnahmen erforderlich sind, um das Risiko eines Missbrauchs der biowissenschaftlichen Forschung im Allgemeinen und der synthetischen Biologie im Besonderen zu verringern. Alle, die mit biologisch aktiven Substanzen arbeiten, sollten ein ausgeprägtes Sicherheitsbewusstsein entwickeln und wissen, wen sie gegebenenfalls in die Bewertung der Gefahren ihrer Projekte einbeziehen können, ohne sich übermäßig überwacht zu fühlen. Dies mag in den USA der

Fall sein, wo das Federal Bureau of Investigation [FBI] eine präventive Kontrolle von Biosicherheitsbedrohungen anstrebt und systematisch Verbindungsbeamte u.a. für die DIY-Bioszene benannt hat).

In Deutschland wurde die Dual-Use-Problematik im Hinblick auf biosecurity-relevante Forschungsprojekte ("Dual Use Research of Concern" /DURC) in den letzten Jahren von Wissenschaftsorganisationen, Nichtregierungsorganisationen (NGOs) und Politikern engagiert aufgegriffen und intensiv diskutiert. Die Bundesregierung hat daraufhin den Deutschen Ethikrat beauftragt, eine Stellungnahme zum Thema "Biologische Sicherheit - Freiheit und Verantwortung der Wissenschaft" zu erarbeiten. Diese wurde im Mai 2014 vorgelegt und dürfte den Bezugspunkt für die weitere politische Behandlung des Themas in Deutschland in den kommenden Jahren bilden. Der Deutsche Ethikrat fordert eine gesetzliche Regelung der bedenklichen Dual-Use-Forschung. Kernpunkte der weiteren Empfehlungen sind die Schaffung eines bundesweit, d.h. für alle Arten von öffentlichen und privaten Forschungseinrichtungen, gültigen Forschungskodex für einen verantwortungsvollen Umgang mit Fragen der Biosicherheit sowie die Einrichtung einer zentralen, interdisziplinären DURC-Kommission, die alle Forscher vor der Durchführung von DURC-Projekten informieren müssen.

Mit Blick auf die konkrete Reduzierung von Missbrauchspotenzialen einer zukünftig deutlich leistungsfähigeren, kostengünstigeren und möglicherweise dezentralen Gen(om)synthese erscheint auch eine Meldepflicht für "gensynthetisierende" Einrichtungen sowie eine Registrierung von DNA-Synthesizern als eine zumindest prüfbare Option - auch wenn Biozid- und Bioterror-Risiken am ehesten von Akteuren aus Organisationen und Ländern ausgehen dürften, die gerade nicht durch (supra-)staatliche Regelungen kontrolliert werden können.

## 3. Nachhaltige Modelle für den Schutz und die Nutzung von geistigem Eigentum

Die Frage, wie das durch die modernen Biowissenschaften erzeugte geistige Eigentum geschützt werden kann und soll, ist eine der am heftigsten umstrittenen in der Gentechnikdebatte, und zwar sowohl aus wirtschaftlichen als auch aus ethischen Gründen. Unter anderem ist im Hinblick auf künftige, beispielsweise "entworfene" molekulare Strukturen, Gene oder sogar Organismen anzumerken, dass ein kommerzieller Schutz für diese viel plausibler sein wird als für primär analytische Ergebnisse in Form natürlich vorkommender DNA-Sequenzen. Neu ist auch, dass neben dem etablierten (Bio-)Patentrecht zunehmend das Urheberrecht als zukünftiges Schutz- und Nutzungskonzept diskutiert wird. Dies gilt insbesondere für die Annahme, dass die Zukunft der Synbio in der Gestaltung biologischer Informationen, einschließlich der DNA, und dann auch anderer Moleküle oder Eigenschaften in synthetischen Systemen liegen wird, ähnlich wie bei der Programmierung von Softwarecodes.

Für die Forschungspolitik stellt sich die Frage, ob bzw. welche Formen und Projekte der Förderung mit Vorgaben für den Zugang und die Nutzungsbedingungen der Ergebnisse verbunden werden können. Diese Frage wird seit Jahren in Wissenschaft und Politik weit über den Bereich der Lebenswissenschaften hinaus intensiv diskutiert. Es ist absehbar, dass der Umgang mit geistigem

Eigentum unter den Bedingungen einer zunehmend digitalen Ökonomie auch in den kommenden Jahren eines der großen Themen für die Wissenschaft sowie die Forschungs- und Wirtschaftspolitik sein wird. Die Entwicklung wissenschaftlich, ökonomisch, sozial, politisch und rechtlich realistischer, innovativer Regelungsmodelle wäre eine sehr anspruchsvolle, kostenintensive Aufgabe für eine fundierte Technikfolgenabschätzung. Die Frage der Rechte des geistigen Eigentums (IPR) wird regelmäßig mit Patenten in Verbindung gebracht, obwohl letztere nur eine Art von IPR sind, wenn auch die wichtigste. Eine erste Frage im Hinblick auf mögliche Herausforderungen bei der Patentierung von Erfindungen im Bereich der synthetischen Biologie ist, ob sich das Patentverfahren für die synthetische Biologie wesentlich vom derzeitigen Patentsystem unterscheidet, und zweitens, ob das herkömmliche Patentsystem effektiv genug ist, um mit den neuen Entwicklungen umzugehen. Was das derzeitige Patentrecht im Allgemeinen betrifft, so können wir feststellen, dass die Patentierbarkeit von Mikroorganismen und höheren Lebensformen, einschließlich genetisch veränderter Organismen, durch das Europäische Patentübereinkommen und seine Rechtsprechung bestätigt wurde. Es handelt sich also nicht um ein spezifisches Problem der synthetischen Biologie (Frage des "Wesens des Lebens").

## 4. Herausforderungen der absehbaren neuen Gentechnik-Debatte

Während die Perspektiven und Potenziale von Synbio im engeren Sinne, d.h. die Herstellung von neuartig konzipierten und konstruierten Zellen oder Organismen "auf dem Reißbrett", im Frühjahr 2015 noch den Status einer Zukunftsvision haben, hat sich die Situation bei Synbio im weiteren Sinne, verstanden als nächste Stufe der Bio- oder Gentechnologie, in jüngster Zeit massiv verändert. Die Diskussion über die neuen Möglichkeiten und Konsequenzen von Genome-Editing-Verfahren hat sich in den letzten Wochen der Berichtserstellung so weit verbreitet und intensiviert, dass von einem grundlegenden Wandel in der Debatte über die Weiterentwicklung und den Einsatz von Genmanipulationstechniken ausgegangen werden kann.

Es ist absehbar, dass die Problematik einer Sicherheits- bzw. Risikobewertung ohne einen im Wesentlichen ähnlichen, bekannten Vergleichsorganismus deutlich an Dringlichkeit gewinnen wird, wenn Genome-Editing-Techniken in der kommenden Zeit weltweit zur umfassenden Veränderung von Genomen eingesetzt werden. In dieser Hinsicht dürfte eine Intensivierung der Biosicherheitsforschung sowohl auf nationaler als auch auf internationaler Ebene unumgänglich sein. Das globale Ausmaß und die Folgen dieser Entwicklung lassen sich im Detail kaum vorhersagen. Klar ist aber, dass sich in den kommenden Jahren nicht nur für die Forschungspolitik viele neue, manchmal auch nur wiederkehrende Fragen nach der Finanzierung, der sozioökonomischen und ethischen Bewertung sowie der Regulierung der Anwendungen der Gentechnik und der Bioethik stellen werden, für die es letztlich nicht so wichtig ist, ob die Technologien und Verfahren synthetische Biologie genannt werden. Neu ist dabei auch die gestiegene Bedeutung der internationalen Dimension der Fragestellungen, die sich nicht zuletzt aus der wachsenden und weiter steigenden wissenschaftlichen und technologischen Kapazität der Schwellenländer ergibt. Eine kontinuierliche Beobachtung der globalen Entwicklungen anhand

wissenschaftlich valider Indikatoren und eine regelmäßige Berichterstattung erscheinen daher naheliegend.

## 5. Gesamtbeurteilung

Insgesamt lässt sich feststellen, dass der Entwicklungs- und Anwendungsstand von Synbio noch nicht sehr weit fortgeschritten ist und die zukünftige Überlegenheit und wirtschaftliche Realisierbarkeit von Synbio-Ansätzen nicht seriös abgeschätzt werden kann. Letzteres gilt insbesondere für die heute noch überwiegend visionären Einsatzmöglichkeiten von synbio im weiteren Sinne. Es ist nicht absehbar, ob (mehr oder weniger vollständig) künstliche Organismen oder "bioähnliche" Systeme jemals für eine effiziente, zuverlässige und sichere "biobasierte" Produktion von großer Bedeutung sein werden.

Auch Synbio-Methoden und -Prozesse im weiteren Sinne müssen sich gegen bestehende und in der Entwicklung befindliche Optionen durchsetzen. Einzelne Projekte und Produkte sind bereits heute wettbewerbsfähig, meist kleinvolumige, aber beinhalten hochpreisige Produkte (Spezialchemikalien, Aromastoffe, Pharmazeutika, Impfstoffe). Bei diesen spielen weder Kosten- noch Biosicherheitsaspekte eine so große Rolle, weil die bestehenden oder alternativen Verfahren ebenfalls kostspielig sind und weil entweder in sichereren geschlossenen Systemen gearbeitet werden kann (Bioreaktoren) oder mögliche Risiken/Nebenwirkungen eher akzeptiert werden (Pharmazeutika/Therapeutika). Es sollte nicht übersehen werden, dass die meistdiskutierten Produktbeispiele von Synbio, das Malariamedikament Artemisinin, der mit Hilfe von modifizierten Hefezellen hergestellte Aromastoff Vanillin und ein Palmölersatz aus Mikroalgen, nicht weit von "konventionellen" Gentechnikanwendungen entfernt sind.

Die Erfolgsaussichten von Therapeutika, Impfstoffen und gentherapeutischen Ansätzen lassen sich nicht pauschal beurteilen. Gerade in der Medizin zeigen sich Wirksamkeit und relative Vorzüglichkeit oft erst in sehr späten Phasen der Entwicklung oder gar Anwendung. Die Hauptnutzen-Risiko-Debatte über Synbio-Anwendungen im Gesundheitsbereich wird daher derzeit auf anderen Ebenen geführt: über die ökologischen Risiken des Einsatzes veränderter Mückenpopulationen und über Fragen der globalen sozialen Gerechtigkeit bei neuen Methoden der Medikamenten- und Impfstoffherstellung. Die Bedeutung von Synbio dürfte in den verschiedenen Anwendungsbereichen je nach wirtschaftlichem Erfolg und gesellschaftlicher Akzeptanz sehr unterschiedlich sein, analog zur Situation bei der "konventionellen" (grünen, roten und weißen) Gentechnik. Eine besondere Stellung wird der verbrauchersensible Bereich der Geschmacks- und Duftstoffe oder anderer Inhaltsstoffe für die Lebensmittel-, Kosmetik- und Waschmittelindustrie einnehmen.

# KLONEN VON TIEREN UND MENSCHEN

## 1. Einführung

1997 wurde das geklonte Schaf Dolly der Weltöffentlichkeit vorgestellt. Seitdem ist das Thema Klonen immer wieder in die Schlagzeilen geraten. Sie hat drei Mütter und keinen biologischen Vater. Sie ist genetisch identisch mit einer ihrer Mütter. Sie ist das erste geklonte Säugetier, das nicht aus einer neuen Kombination von Vater und Mutter hervorgegangen ist, sondern aus einer Körperzelle einer ihrer Mütter gezeugt wurde. Doch während sich zu Dollys Zeiten einige Forscher vehement gegen das Klonen menschlicher Zellen aussprachen, arbeiten sie heute selbst mit embryonalen Stammzellen, in der Hoffnung, eines Tages Krankheiten wie Krebs oder Parkinson bekämpfen zu können. Unter Klonen versteht man in der Medizin, der Biotechnologie und der Molekularbiologie die Erzeugung von Einheiten, Individuen und Populationen, die genetisch identisch oder nahezu identisch mit dem ursprünglichen Organismus oder Teil eines Organismus sind, von dem sie abstammen. In seiner spontan auftretenden Form ist das Klonen die Art und Weise, wie sich Bakterien und einige Pflanzen und Tiere ungeschlechtlich vermehren.

Der am stärksten umstrittene Bereich ist das Klonen von Menschen zu Reproduktionszwecken, d. h. zur Erzeugung von Babys, die zu ausgewachsenen Erwachsenen und vollwertigen Mitgliedern ihrer Gesellschaft heranwachsen. Die Forschung an menschlichen Embryonen, einschließlich des Klonens mit Kerntransfer, ist vierzehn Tage nach der Empfängnis weitgehend erlaubt; die anschließende Kultivierung und wissenschaftliche und therapeutische Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen ist in den meisten Ländern (nicht in allen) zulässig. Die menschliche Fortpflanzung steht im Mittelpunkt der Klonierungsfrage, und zwar in ethischer Hinsicht, mit den Ideen des Designs und dem historisch immer beliebten Thema der Verbesserung des Einzelnen und der Verbesserung der menschlichen Rasse.

Beim künstlichen Klonen wird das Potenzial bestimmter, undifferenzierter Zellen genutzt, sich unter geeigneten Bedingungen in Zellen eines bestimmten Typs zu differenzieren. Diese Zellen werden als Stammzellen bezeichnet. Sie kommen sowohl in geringer Zahl im Körper eines Erwachsenen vor, um dort fehlende oder abgestorbene Zellen zu ersetzen, als auch in frühen Embryonalstadien, etwa vom vierten bis zum siebten Tag nach der Befruchtung. Nur embryonale Stammzellen können sich bis etwa zum Acht-Zell-Stadium noch zu allen Gewebetypen und damit zu einem ganzen Organismus entwickeln; sie sind totipotent (= allmächtig). Aus allen anderen Stammzellen kann sich dagegen kein ganzer Organismus bilden. Sie können nur viele verschiedene Zelltypen oder nur einen bestimmten Zelltyp hervorbringen, sie sind pluripotent oder multipotent.

## 2. Biomedizinische Forschung und Anwendung

Klone von höheren Organismen sind sowohl für die biomedizinische Grundlagenforschung als auch für die anwendungsorientierte medizinische Forschung von großem Interesse. Gegenwärtig werden vor allem vier mögliche Anwendungsbereiche des auf Kerntransfer basierenden Klonens für medizinische Zwecke diskutiert. Ein erster Bereich ist das so genannte Gene Pharming, d.h. die Nutzung transgener Tiere zur Herstellung therapeutisch nutzbarer (menschlicher) Proteine, z.B. in der Milch. Dies wird in absehbarer Zukunft eine der wichtigsten Anwendungsmöglichkeiten des auf dem Kerntransfer basierenden Klonens sein, da es die Produktion der entsprechenden transgenen Tiere im Vergleich zu konventionellen Methoden effektiver und gezielter macht. Die Vorteile dieser durch biogenetische Herstellungsverfahren gewonnenen Wirkstoffe, wie z. B. Insulin oder Blutfaktoren oder andere menschliche körpereigene Stoffe, liegen darin, dass diese Wirkstoffe in einer viel reineren Form als bei der herkömmlichen Methode über tierische und menschliche Zwischenprodukte gewonnen werden können. Stehen solche Tiere zur Verfügung, können die Wirkstoffe in großen Mengen und relativ kostengünstig hergestellt werden. Allerdings gibt es auch Risiken für die Tiere durch die genetische (transgene) Manipulation, die biologische Aktivität des erzeugten Proteins und den Klonierungsprozess selbst. Risiken für den Menschen können durch Veränderungen der Produkte sowie durch eine mögliche Übertragung von Krankheiten (Erregern) entstehen und müssen daher durch sorgfältige Medikamententests so weit wie möglich ausgeschlossen werden.

Ein weiterer Bereich, in dem das Klonen potenziell eingesetzt werden könnte, ist die Herstellung transgener Tiere als Tiermodelle für menschliche Krankheiten. Als großes Hindernis für die Weiterentwicklung von Tiermodellen hat sich erwiesen, dass es bisher nur bei Mäusen möglich ist, gentechnisch manipulierte Zellen so stabil in die Keimbahn eines Empfängertieres zu integrieren, dass die genetischen Veränderungen vererbt werden können. Die physiologischen und anatomischen Unterschiede zwischen Mäusen und Menschen sind jedoch so groß, dass die Symptome der bei Mäusen eingeführten genetischen Veränderung oft nicht dem beim Menschen beobachteten Krankheitsbild entsprechen. Das Klonen mittels Kerntransfer unter Verwendung somatischer Zellen eröffnet die Möglichkeit, gezielte genetische Veränderungen bei verschiedenen Spezies herbeizuführen (gene targeting und gene knockout). Damit wäre es auch erstmals möglich, Krankheitsmodelle in transgenen Großtieren zu schaffen, die je nach zu untersuchender Krankheit den bisherigen Mausmodellen hinsichtlich anatomischer, physiologischer oder genetischer Merkmale überlegen sein könnten. Es wird allgemein erwartet, dass dies mittelfristig zu einem besseren Verständnis der Krankheitsbilder genetisch bedingter menschlicher Erkrankungen und darauf aufbauend zur Entwicklung wirksamer Behandlungsmöglichkeiten beitragen wird. Das Klonen könnte auch einen technischen Beitrag zur Transplantation von körpereigenem Gewebe und zur so genannten Zelltherapie leisten. Das optimale Transplantatgewebe ist leicht zu charakterisieren: Seine Zellen sollten mit denen des Empfängers genetisch möglichst identisch sein. Das Immunsystem des Patienten würde es dann nicht mehr als fremd erkennen, und jedes Problem der Abstoßung wäre beseitigt. Eine optimale Lösung wäre daher die Herstellung von genetisch identischem Ersatzgewebe. Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass dies nun mit Hilfe des auf Kerntransfer basierenden Klonens erreicht werden könnte. Prinzipiell ist auch eine andere Art der Züchtung von menschlichem Ersatzgewebe denkbar: Mit Hilfe der Kerntransfermethode

würde ein früher Embryo entstehen, aus dem in Kultur pluripotente embryonale Stammzellen gewonnen werden könnten. Allerdings ist es bisher nicht gelungen, solche Zellen beim Menschen zu gewinnen, auch nicht aus in vitro erzeugten Embryonen. Außerdem würde ein solches Verfahren die ethisch und rechtlich höchst problematische Erzeugung und Nutzung eines menschlichen Embryos erfordern, es sei denn, es könnten Eizellen von Tieren als Empfänger der Zellkerne verwendet werden. Diese Entwicklung steckt aber noch in den Kinderschuhen und birgt eigene, vor allem ethische Probleme, die ebenfalls gravierend sind.

Ein vierter Bereich, in dem der Einsatz von (transgenen) geklonten Tieren denkbar ist, ist die Xenotransplantation (Transplantation von tierischen Organen in den Menschen). Um "Spendertiere" zu konstruieren, müssten jedoch z.B. bei Schweinen bis zu einem Dutzend Gene verändert werden. Dies ist mit herkömmlichen Methoden der genetischen Veränderung praktisch unmöglich. Das Klonen könnte es nun ermöglichen, zunächst Zellen in Kultur mit den gewünschten genetischen Veränderungen zu versehen, bevor daraus mit Hilfe des auf Kerntransfer basierenden Klonens ein mehrfach gentechnisch verändertes Tier erzeugt werden kann. Aber selbst wenn es gelänge, auf diese Weise das "ideale" Spendertier zu schaffen, blieben die grundsätzlichen Probleme der Abstoßung wahrscheinlich bestehen. Auch ist ungewiss, ob das fremde tierische Organ seine Funktion im menschlichen Empfänger tatsächlich erfüllen wird. Auch das Problem der Anpassung von Tierviren an den Menschen bleibt bestehen, mit der möglichen Folge von Epidemien.

## 3. Rechtliche Aspekte

Aus rechtlicher Sicht ist insbesondere die Frage zu beantworten, welche Regelungen das Klonen von Tieren in Deutschland (und im Ausland) regeln und unter welchen Bedingungen das Klonen rechtlich zulässig ist oder nicht. In der Bundesrepublik gibt es z.B. im Tierschutzgesetz keine explizite Berücksichtigung von Klontechniken. Allerdings könnte das Klonen von Tieren von den Bestimmungen des § 7 Abs. 1 Tierschutzgesetz erfasst sein, da dieser Paragraph Bestimmungen über Tierversuche enthält und sich die Klonierungsverfahren überwiegend noch im Versuchsstadium befinden. Die Anwendung und die Auswirkungen dieses Paragraphen werden jedoch sehr unterschiedlich diskutiert: Sieht man die Entkernung der Eizelle nicht als gentechnische Veränderung im rechtlichen Sinne an, so stellt auch die Übertragung der Eizelle in das trächtige Tier keinen Tierversuch dar. Kommt man jedoch zu dem Ergebnis, dass das Klonen mittels Kerntransfer unter die Regelung des § 7 Abs. 1 Satz 2 Tierschutzgesetz fällt, weil es sich dabei um Eingriffe in das Erbgut handelt und die Klonierungsversuche zudem mit Schmerzen oder Schäden für die gentechnisch veränderten Tiere (oder Trägertiere) verbunden sein können, wären Klonierungsversuche mittels Kerntransfer eindeutig genehmigungspflichtig.

Aus verfassungsrechtlicher Sicht würde ein Klonierungsverbot in der Bundesrepublik Deutschland die Grundrechte der Forscher und Berufsangehörigen aus Art. 5 Abs. 3 (Forschungsfreiheit) und Art. 12 Abs. 1 GG (Berufsfreiheit) verletzen. Ein Klonverbot oder andere Beschränkungen des

Klonens würden auch einen Eingriff in die verfassungsrechtlich garantierte Wissenschaftsfreiheit darstellen. Eine verfassungsrechtliche Schranke, die den Eingriff rechtfertigen könnte, gibt es offensichtlich nicht. Nach Art. 12 Abs. 1 GG wäre daher z.B. ein Verbot des Klonens verfassungswidrig, da es nicht mit dem Gemeinwohl vereinbar wäre und nicht vom Gesetzesvorbehalt des Art. 12 Abs. 1 Satz 2 GG gedeckt wäre. Das Klonen von Tieren ist also unter den gegenwärtigen Bedingungen grundsätzlich zulässig und unterliegt nach geltendem Recht nur begrenzten Beschränkungen. Ein "Staatsziel Tierschutz" schließt die Nutzung von Tieren durch den Menschen nicht per se aus, erhöht aber die Anforderungen an die erforderliche Rechtfertigung.

## 4. Ethische Aspekte

Unterschiedliche Positionen in der gesellschaftlichen Diskussion und Bewertung des Klonens von Tieren lassen sich teilweise auf unterschiedliche grundlegende Wertvorstellungen zurückführen. Diese bestimmen auch, ob dem Klonen von Tieren eine neue Qualität im Vergleich zu konventionellen oder anderen neuen Methoden der Tierzucht zugeschrieben wird. Einige theologisch begründete Positionen sehen z.B. im Klonen einen Eingriff in die Schöpfung, auf den der Mensch kein Recht hat. Wer den Tieren einen "Eigenwert" oder eine "Würde der Schöpfung" zuschreibt, wird das Klonen von Tieren in der Regel als zumindest moralisch problematisch ansehen. Aus einer anthropozentrischen Perspektive stehen die Frage nach der Sicherheit der mit Hilfe des Klonverfahrens hergestellten Produkte und die damit möglicherweise verbundenen ökologischen (Verarmung der genetischen Vielfalt) und sozialen (industrielle Massenproduktion, Kapitalkonzentration, neue Abhängigkeitsverhältnisse) Risiken und Gefahren im Vordergrund. Angesichts der Schwierigkeit, einen moralischen Konsens zu erreichen, ist zu überlegen, an welchen ethischen Prinzipien sich der mögliche Einsatz des Klonens von Tieren orientieren sollte.

In der Regel erachten Ethiker Ziele in der biomedizinischen Forschung und Anwendung als hochrangig, wenn sie im Hinblick auf die menschliche Gesundheit besonders dringlich oder gar lebenswichtig sind und nur mit Hilfe des Klonens von höheren Tieren erreicht werden können. Auch Ziele im Bereich der Grundlagenforschung können als hochrangig angesehen werden und das Klonen höherer Tiere rechtfertigen, wenn keine alternativen Methoden zur Verfügung stehen. Sollte das Klonen jedoch mit erheblichem Leid für das betroffene Tier verbunden sein, ist zu prüfen, ob das bloße Erkenntnisinteresse des Menschen bereits einen ausreichenden Rechtfertigungsgrund darstellt oder ob Rechtfertigungen nur für bestimmte Ziele möglich sind, nämlich dann, wenn sie zur Vermeidung von erheblichem menschlichem Leid notwendig sind. Ziele im Bereich der Tierzucht werden in der Regel als nachrangig gegenüber den genannten Zielen genannt, es sei denn, sie dienen explizit der Sicherung der Nahrungsgrundlage für den Menschen.

## 5. Schlussfolgerungen und Handlungsoptionen

In der angewandten Forschung eröffnet das auf dem Kerntransfer basierende Klonen neue Wege zur Herstellung transgener Tiere. Einige therapeutisch wirksame Proteine lassen sich auf diese Weise kostengünstig herstellen. Die Herstellung von körpereigenem Ersatzgewebe erscheint aus medizinischer und ethischer Sicht vielversprechend und entsprechende Forschungsaktivitäten sind daher besonders förderungswürdig. Ob es gelingen wird, bessere Untersuchungsmodelle für menschliche Krankheiten bei Nutztieren zu schaffen, ist unklar, aber wegen der nicht unerheblichen medizinischen Bedeutung sollten auch in diesem Bereich die Anstrengungen intensiviert und unterstützt werden. Insgesamt erscheint der potenzielle Nutzen des auf Kerntransfer basierenden Klonens für die Forschung und Medizin relativ hoch zu sein.

Aus ethischer Sicht muss eine Bewertung des Klonens von Tieren grundsätzlich nach den gleichen Kriterien erfolgen, die auch für die traditionelle Tierzucht gelten (bzw. gelten sollten). In diesem Zusammenhang wird verschiedentlich auch die Einrichtung einer nationalen Ethikkommission problematisiert, die sich mit den moralisch-ethischen Fragen des Fortschritts der biologischen und biomedizinischen Technik insgesamt bzw. mit den Folgen des biologischen und medizinischen Fortschritts im nicht-menschlichen Bereich zu befassen hätte. Ihre Aufgabe wäre es, die politischen Entscheidungsträger zu beraten und die Öffentlichkeit zu informieren.

# Recht und Ethik im Bereich der ökologischen Nachhaltigkeit

## EINLEITUNG

Das Prinzip der Nachhaltigkeit bzw. der nachhaltigen Entwicklung ist Gegenstand vielfältiger internationaler, nationaler und lokaler Aktivitäten, theoretischer Bemühungen, rechtlicher und planerischer Maßnahmen. Sie werden begleitet von einer fast unüberschaubaren Fülle von Publikationen und Dokumentationen. Wesentliche Fragen zur Auslegung dieses Prinzips bleiben jedoch unbeantwortet.

Das Prinzip der Nachhaltigkeit wird weithin in Anlehnung an den Bericht der Weltkommission für Umwelt und Entwicklung aus dem Jahr 1987 (sog. Brundtland-Bericht) verstanden, dessen

Definition oft als Standard angesehen wird: "Die Menschheit hat die Fähigkeit, die Entwicklung nachhaltig zu gestalten, d. h. sicherzustellen, dass sie die Bedürfnisse der Gegenwart befriedigt, ohne die Fähigkeit künftiger Generationen zu gefährden, ihre eigenen Bedürfnisse zu befriedigen. Das Kernelement dieses Konzepts ist der Umweltschutz unter dem Gesichtspunkt der Generationen- und internationalen Gerechtigkeit. Der Bericht enthält jedoch noch eine zweite, weniger bekannte Definition, die die erforderlichen radikalen gesellschaftlichen Veränderungen und den Prozesscharakter der nachhaltigen Entwicklung betont: "Nachhaltige Entwicklung ist (...) ein Prozess des Wandels, bei dem die Nutzung von Ressourcen, die Ausrichtung von Investitionen, die Orientierung der technologischen Entwicklung und der institutionelle Wandel sowohl mit zukünftigen als auch mit gegenwärtigen Bedürfnissen in Einklang gebracht werden.

## DAS ENGAGEMENT EUROPAS FÜR EINE NACHHALTIGE ENTWICKLUNG

Die nachhaltige Entwicklung steht seit vielen Jahren im Mittelpunkt der europäischen Politik, und in den europäischen Verträgen werden die wirtschaftlichen, sozialen und ökologischen Dimensionen anerkannt. Wirtschaftlicher Wohlstand, Effizienz, friedliche Gesellschaften, soziale Eingliederung und Verantwortung, mit Würde für alle in ihrer Umwelt, ist die Grundlage der nachhaltigen Entwicklung. Nachhaltige Entwicklung ist daher ein Querschnittsthema, das alle Staaten betrifft. Europa ist also verpflichtet, die Bedürfnisse der Gegenwart zu befriedigen und darf nicht riskieren, dass künftige Generationen ihre eigenen Bedürfnisse nicht befriedigen können.

Die Sicherung der Nachhaltigkeit ist eine Herausforderung für Europa, denn sie reicht von Jugendarbeitslosigkeit, Klimawandel, Umweltverschmutzung, Energie- und Migrationspolitik bis hin zur Bevölkerungsalterung. Wir müssen uns auf aktuelle und künftige Herausforderungen vorbereiten und auf die raschen und komplexen globalen Veränderungen und die Bedürfnisse der wachsenden Weltbevölkerung reagieren. Um das europäische Sozialmodell und den sozialen Zusammenhalt zu bewahren, müssen wir unbedingt in unsere Jugend investieren, integratives und nachhaltiges Wachstum fördern, Ungleichheiten beseitigen und die Migration umsichtig steuern. Die Nachhaltigkeit unserer Gesundheits- und Rentensysteme wird sich durch eine verantwortungsvolle Finanzpolitik und Reformen verbessern, denn wenn wir unser Naturkapital schützen wollen, müssen wir den Übergang zu einer wettbewerbsfähigen, kohlenstoffarmen, klimaresistenten und ressourceneffizienten Kreislaufwirtschaft beschleunigen. Daher ist ein starkes Engagement für Forschung und Innovation erforderlich, um diese Herausforderungen in Chancen für neue Unternehmen und Arbeitsplätze zu verwandeln.

# REGULIERUNG DES UMWELTVERHALTENS

Das Verständnis des Nachhaltigkeitsprinzips wird durch den 1987 veröffentlichten Bericht der Weltkommission für Umwelt und Entwicklung als Standard verbreitet: "Die Menschheit hat die Fähigkeit, die Entwicklung nachhaltig zu gestalten - um sicherzustellen, dass sie die Bedürfnisse der Gegenwart befriedigt, ohne die Fähigkeit künftiger Generationen zu gefährden, ihre eigenen Bedürfnisse zu befriedigen".

Die intergenerationelle und internationale Gerechtigkeit macht den Umweltschutz zu einem Kernelement des Konzepts. Der Bericht enthält aber noch eine zweite, weniger bekannte Definition, die die notwendigen tiefgreifenden gesellschaftlichen Veränderungen und den Prozesscharakter der nachhaltigen Entwicklung betont: "Nachhaltige Entwicklung ist (...) ein Prozess des Wandels, in dem die Nutzung von Ressourcen, die Ausrichtung von Investitionen, die Orientierung der technologischen Entwicklung und der institutionelle Wandel sowohl mit zukünftigen als auch mit gegenwärtigen Bedürfnissen in Einklang gebracht werden".

Das sogenannte Drei-Säulen-Modell ist jedoch die im Nachhaltigkeitsdiskurs am häufigsten verwendete Definition: "Nachhaltigkeit ist die Vorstellung von einer dauerhaft tragfähigen Entwicklung der ökonomischen, ökologischen und sozialen Dimension der menschlichen Existenz. Diese drei Säulen der Nachhaltigkeit stehen in Wechselwirkung zueinander und bedürfen langfristig einer ausgewogenen Abstimmung".

Nachhaltigkeit ist zukunftsorientiert und zugleich utopisch, d.h. sie ist eine Utopie, aber nicht im Sinne einer "illusorischen Sorglosigkeit", sondern "als Ausdruck eines Aufbruchs in eine offensiv auf die Gewinnung neuer Perspektiven ausgerichtete Zukunft" - gerade angesichts der Verengung der Zukunftsoptionen durch ökonomische, ökologische und soziale Probleme.

Die EU setzt sich daher für eine Entwicklung ein, die den Bedürfnissen der Gegenwart gerecht wird, ohne zu riskieren, dass künftige Generationen ihre eigenen Bedürfnisse nicht mehr befriedigen können. Ein Leben in Würde für alle mit den auf diesem Planeten verfügbaren Ressourcen, gekennzeichnet durch wirtschaftlichen Wohlstand, Effizienz, friedliche Gesellschaften, soziale Eingliederung und ökologische Verantwortung, ist die Grundlage einer nachhaltigen Entwicklung.

# INSTRUMENTE

## 1. Instrumente zur Durchsetzung der Umweltpolitik (Umweltplanung)

Die Umweltpolitik hat sich in den Industrieländern vor allem als Reaktion auf ein starkes umweltintensives Wachstum der Industrie zu Beginn der siebziger Jahre des letzten Jahrhunderts als eigenes Ressort der Regierung entwickelt. Zunächst beschränkte sie sich hauptsächlich auf die Tätigkeit

des Staates. Inzwischen werden jedoch immer mehr umweltrelevante Akteure (sog. "Stakeholder") für Umweltbelange zur Verantwortung gezogen. Insbesondere die direkte Verantwortung der Verursacher von (potentiellen) Umweltproblemen spielt eine immer größere Rolle. Darüber hinaus besteht die Notwendigkeit, umweltpolitische Ziele und Strategien auch in anderen Ressorts durchzusetzen: z.B. in der Energie-, Verkehrs- und Industrie-, Agrar- oder Baupolitik. "Harte" umweltpolitische Instrumente (wie Gesetze und Verordnungen) stehen neben den "weichen" Methoden der Verhaltenssteuerung.

Neben dem Umweltrecht bildet die Umweltplanung das zentrale Instrumentarium, insofern Ökopolitik nicht nur als ordnende, sondern auch als gestaltende Politik wirksam werden will. Die Umweltplanung kann als die Entwicklung von nachhaltigen Umweltstrategien verstanden werden, die das Erreichen von regionalen und/oder sektoralen Umweltschutzzielen innerhalb eines bestimmten Zeitrahmens ermöglichen sollen: z.B. die Reduktion der CO2-Emissionen um 25% innerhalb der nächsten zehn Jahre. In den achtziger Jahren des letzten Jahrhunderts spielte die Verabschiedung von nationalen Umweltplänen in Dänemark, den Niederlanden und Finnland eine Vorreiterrolle in diesem Bereich. Deshalb werden wir zunächst auf die Möglichkeiten der Umweltplanung eingehen.

Zur Durchsetzung der umweltpolitischen Grundsätze und Ziele sind im Rechtsrahmen vieler Staaten innerhalb der EU zwei Instrumente implementiert, nämlich die verschiedenen Arten der Umweltplanung und die verschiedenen Maßnahmen zur Regulierung des Umweltverhaltens. Die Umweltplanung ist ein wichtiges Mittel des vorsorgenden Schutzes. Sie erfolgt in einem mehrstufigen Prozess, der die Erfassung des Ist-Zustandes, die Prognose künftiger Entwicklungen und Ziel- und Interessenkonflikte umfasst. Planungen können in Form von Gesetzen, Rechtsverordnungen, Satzungen, Verwaltungsvorschriften oder Verwaltungsakten erfolgen, die jeweils unterschiedliche Rechtsfolgen haben

Zwei Formen der Umweltplanung sind vorherrschend: Die sogenannte "umfassende Planung". Aufgabe der umfassenden Umweltplanung ist es, vorausschauend die Flächennutzung für Wohn-, Wirtschafts- und Freizeitzwecke für ein bestimmtes Gebiet festzulegen, unabhängig von einem bestimmten Projekt und nicht auf einen bestimmten Sektor beschränkt. Die zweite ist die sektorale Planung: Im Gegensatz dazu dient die sektorale Planung in Bezug auf die Umwelt der Aufstellung von Umweltschutzplänen. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Landschaftspläne, Luftreinhaltepläne, Lärmschutzpläne, Wasserschutzpläne und Abfallwirtschaftspläne, die alle zusätzliche Durchsetzungsmaßnahmen erfordern.

Ein weiteres wichtiges Instrument zur Durchsetzung der umweltpolitischen Forderungen ist die "Umweltverträglichkeitsprüfung" (UVP). Vorrangiges Ziel dieses Instruments ist es, die Verwaltung rechtzeitig und umfassend über die Umweltauswirkungen von umweltrelevanten Projekten zu informieren. Die Umweltverträglichkeitsprüfung soll alle direkten und indirekten Auswirkungen eines geplanten Vorhabens auf die Umwelt, einschließlich der ökologischen Wechselwirkungen, rechtzeitig ermitteln, beschreiben und bewerten und so die Ergreifung von Vorsorgemaßnahmen medien- und sektorübergreifend und unter Einbeziehung der Öffentlichkeit ermöglichen.

## 2. Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens

Das Umweltverhalten ist vielleicht das wichtigste Ziel der Umweltpolitik und -erziehung. Es gibt einige Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens. Man muss zwischen direkten und indirekten Formen der Regulierung unterscheiden:

Die direkte Verhaltensregulierung bezieht sich auf rechtliche Maßnahmen, die das Umweltverhalten unmittelbar beeinflussen sollen. Das "klassische" Instrument dieser Art ist das Umweltordnungsrecht, das seinen Ursprung im Polizei- und Ordnungsrecht hat und in der Regel Verstöße mit Sanktionen ahndet. Dementsprechend unterliegen Handlungen mit nachteiligen Auswirkungen auf die Umwelt der Verwaltungskontrolle, die durch gesetzliche Anforderungen in Bezug auf Anmeldung, Registrierung, Lizenzierung, Genehmigung, Zulassung und andere Verfahren zur Erteilung der Erlaubnis zur Ausübung einer solchen Tätigkeit gekennzeichnet ist. Darüber hinaus wird die direkte Regulierung auch durch ausdrückliche (absolute) Verbote oder gesetzliche Gebote bestimmter Verhaltensweisen ausgeübt.

## 3. Grundsätze für politische und rechtliche Maßnahmen

Es ist wichtig, die Prinzipien, die das Umweltrecht sowohl im nationalen als auch im internationalen Rahmen leiten, zu unterscheiden und zu erläutern und die Bedeutung von "ökologischer Nachhaltigkeit" und "nachhaltiger Entwicklung" im Kontext des Naturschutzes zu verstehen, wobei sich ernsthaftes und substantielles Umweltrecht an einigen übergeordneten Prinzipien orientieren muss. Für viele internationale und nationale Regelungen im Bereich des Umweltrechts innerhalb der Europäischen Union (z.B. in Deutschland) sind vier Grundprinzipien die Basis für alle Prozesse der Umweltgesetzgebung: das Vorsorgeprinzip, das Verursacherprinzip, das Prinzip der nachhaltigen Entwicklung (hinsichtlich der Integration von Umweltschutz und wirtschaftlicher Entwicklung) und das Kooperationsprinzip.

Häufig werden weitere Grundsätze genannt, die die vier Hauptprinzipien ergänzen oder in besonderer Weise definieren. Einige Beispiele sind die Verfahrensrechte im Umweltbereich, die gemeinsame, aber differenzierte Verantwortung, die internationale und generationenübergreifende Gerechtigkeit, das gemeinsame Interesse der Menschheit und das gemeinsame Erbe.

### VORSORGEPRINZIP

Das Vorsorgeprinzip ist in seinem Ursprung eher ein politisches als ein philosophisches Prinzip und wurde zunächst als "Vorsorgeprinzip" im deutschsprachigen Raum eingeführt. Es wurde in mehrere nationale Rechtstexte und internationale Verträge oder Erklärungen aufgenommen. Eine gute Definition wurde von Per Sandin gegeben: "Die Grundaussage des Vorsorgeprinzips ist, dass in bestimmten Fällen

Maßnahmen gegen eine mögliche Gefahr ergriffen werden sollten, auch wenn die verfügbaren Beweise nicht ausreichen, um die Existenz dieser Gefahr als wissenschaftliche Tatsache zu betrachten." Man kann also sagen, dass das Vorsorgeprinzip auf der Erkennung von Gefahren und wissenschaftlicher Unsicherheit beruht. Folglich liegt die Beweislast (dass eine Maßnahme der Öffentlichkeit oder der Umwelt schweren Schaden zufügen könnte) bei denjenigen, die sich für Maßnahmen zur Vermeidung eines solchen Schadens einsetzen. Wann immer ein plausibler Schaden für die Gesellschaft oder die Umwelt zu erwarten ist, sollte das Vorsorgeprinzip angewandt werden. Oft ist jedoch nicht klar, ob eine geplante Maßnahme der Öffentlichkeit oder der Umwelt schaden wird oder nicht, da die möglichen Auswirkungen menschlichen Handelns auf die Umwelt oder die menschliche Gesundheit oft von der Dynamik komplexer Systeme abhängen, so dass die tatsächlichen Folgen von Maßnahmen unvorhersehbar sein können. Daher ist weitere wissenschaftliche Forschung erforderlich - aber auch Vorsicht, wenn eine aktuelle Maßnahme in komplexe (menschliche oder natürliche) Systeme eingreift.

Heutzutage ist das Vorsorgeprinzip in vielen europäischen und internationalen Verträgen und Abkommen verankert. So beschreibt die deutsche Bundesregierung in ihrem Umweltbericht 1976 das Vorsorgeprinzip wie folgt: Umweltpolitik beschränkt sich nicht auf die Abwendung drohender Gefahren und die Beseitigung bereits eingetretener Schäden. Vorsorgende Umweltpolitik verlangt darüber hinaus, die natürliche Umwelt zu schützen und pfleglich zu behandeln. Das Vorsorgeprinzip ist in einer Reihe von Umweltvorschriften verankert und umfasst neben der Risikovorsorge auch den Ressourcenschutz.

Besonders wichtig ist das Vorsorgeprinzip bei gesetzlichen Regelungen und Entscheidungen, die potentielle Risiken für die öffentliche Gesundheit betreffen, wie z.B. das Inverkehrbringen von gentechnisch veränderten Lebensmitteln, die Verwendung von Wachstumshormonen in der Rinderzucht oder Maßnahmen zur Verhinderung des Rinderwahnsinns.

In der Praxis haben die politischen Entscheidungsträger jedoch oft mit einem Mangel an gültigen wissenschaftlichen Informationen oder mit unlösbaren Konflikten zwischen den Interessen der verschiedenen Interessengruppen zu kämpfen. Manchmal ist es sehr schwierig, den potenziellen Schaden abzuschätzen oder zu bewerten und einen akzeptablen politischen Kompromiss zu finden. Dennoch sollte eine rigorose Anwendung des Vorsorgeprinzips vermieden werden, wenn keine ausreichenden Kenntnisse darüber vorliegen, ob von einem innovativen Produkt oder einer Tätigkeit tatsächlich ein potenzielles Risiko ausgeht oder nicht. In diesem Fall könnte das Prinzip unangemessen als absolutes Verbot aller Maßnahmen aufgefasst werden - was jegliche technologische Innovation und jeglichen Fortschritt zum Stillstand bringen könnte.

## VERURSACHERPRINZIP (VERSUS GEMEINSCHAFTSPRINZIP)

Das Verursacherprinzip besagt, dass derjenige, der die Umweltbelastung verursacht, grundsätzlich für den Schutz der Umwelt verantwortlich gemacht wird - materiell und finanziell - und verpflichtet ist, diese Belastung zu vermeiden, zu korrigieren oder finanziell auszugleichen. Ein Problem ergibt sich jedoch in Fällen von Altlasten, in denen die verantwortlichen Parteien oft nicht haftbar

gemacht werden können und - wenn keine andere Partei verantwortlich gemacht werden kann - die Allgemeinheit die Kosten tragen muss. In solchen Fällen würde das Verursacherprinzip durch das Verursacherprinzip ersetzt werden.

Im Umweltrecht wird das Verursacherprinzip angewandt, um die für die Verschmutzung verantwortliche Partei für die Schäden an der natürlichen Umwelt haftbar zu machen. Es gilt als allgemeiner Brauch, da es in den meisten Ländern der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) und der Europäischen Gemeinschaft (EG) starke Unterstützung gefunden hat. Im internationalen Umweltrecht wird sie in Grundsatz 16 der Erklärung von Rio über Umwelt und Entwicklung (1992) erwähnt.

Das Verursacherprinzip ist ein wichtiges Element der Umweltpolitik und beeinflusst z. B. politische Maßnahmen zur Verringerung der Treibhausgasemissionen. Häufig wird dieses Prinzip als so genannte "erweiterte Verursacherverantwortung" (EPR) angewandt. Dieses Konzept wurde wahrscheinlich erstmals 1975 von der schwedischen Regierung formuliert. EPR kann beispielsweise dazu beitragen, die Verantwortung für die Abfallentsorgung von den Regierungen und Steuerzahlern auf die eigentlichen Abfallerzeuger zu verlagern. Die OECD definiert EPR als ein Konzept, bei dem die Hersteller und Importeure von Produkten ein erhebliches Maß an Verantwortung für die Umweltauswirkungen ihrer Produkte während des gesamten Produktlebenszyklus tragen sollten, einschließlich der vorgelagerten Auswirkungen, die sich aus der Auswahl der Materialien für die Produkte ergeben, der Auswirkungen des Produktionsprozesses der Hersteller selbst und der nachgelagerten Auswirkungen der Verwendung und Entsorgung der Produkte. Die Hersteller akzeptieren ihre Verantwortung, wenn sie ihre Produkte so gestalten, dass die Umweltauswirkungen während des gesamten Lebenszyklus so gering wie möglich gehalten werden, und wenn sie die rechtliche, physische oder sozioökonomische Verantwortung für Umweltauswirkungen übernehmen, die durch die Gestaltung nicht beseitigt werden könnenysical or socio-economic responsibility for environmental impacts that cannot be eliminated by design.

## DER GRUNDSATZ DER NACHHALTIGKEIT (NACHHALTIGE ENTWICKLUNG)

Ein weiteres wichtiges Prinzip ist das Prinzip der nachhaltigen Entwicklung, das als eine Art Anwendung des Vorsorgeprinzips auf Ressourcen betrachtet werden kann. Dieses Prinzip ist ein Muster der Ressourcennutzung, das darauf abzielt, die menschlichen Bedürfnisse zu befriedigen und gleichzeitig die Umwelt so zu erhalten, dass diese Bedürfnisse nicht nur in der Gegenwart, sondern auch für künftige Generationen erfüllt werden können. Zum ersten Mal wurde der Begriff "nachhaltige Entwicklung" von der Brundtland-Kommission (1987) verwendet, die die bekannteste Definition von nachhaltiger Entwicklung als eine Entwicklung gegeben hat, die "die Bedürfnisse der Gegenwart befriedigt, ohne die Fähigkeit künftiger Generationen zu gefährden, ihre eigenen Bedürfnisse zu befriedigen" (Vereinte Nationen 1987).

Der Begriff "nachhaltige Entwicklung" zielt darauf ab, die Ressourcen und Prozesse der natürlichen Systeme mit den menschlichen Bedürfnissen und wirtschaftlichen Aktivitäten der sozialen Systeme zu verbinden. Bereits in den 1970er Jahren wurde der Begriff "Nachhaltigkeit" für eine Wirtschaft "im Gleichgewicht mit den grundlegenden ökologischen Stützsystemen" verwendet. Auf der Grundlage der Idee der Nachhaltigkeit und entsprechend den alarmierenden Thesen von "Die Grenzen des Wachstums" versuchten viele Ökologen, das neue Konzept einer "stabilen Wirtschaft" zu schaffen, insbesondere im Hinblick auf Umweltbelange. In diesem Zusammenhang bezieht sich der Begriff "nachhaltige Entwicklung" nicht nur auf Umweltfragen, sondern berücksichtigt auch soziale und wirtschaftliche Erwägungen: die Lösung von Konflikten zwischen verschiedenen konkurrierenden Zielen und Interessengruppen sowie die Harmonisierung von Wirtschaftswachstum und sozialem Wohlergehen mit der Umweltqualität. Das Konzept der nachhaltigen Entwicklung - sowohl der Natur als auch der Gesellschaft - weist darauf hin, dass das Überleben der Menschheit im Wesentlichen vom Überleben der Natur (oder der natürlichen Umwelt) abhängt, da das wirtschaftliche und soziokulturelle Wohlergehen direkt mit dem Wohlergehen der Natur - Ressourcen, Pflanzen, Tiere usw. - verbunden ist. Die Ausbeutung und Schädigung der Natur kann letztlich dazu führen, dass das menschliche Leben nicht mehr aufrechterhalten werden kann und die Menschheit sogar ausstirbt. Die Theorie der nachhaltigen Entwicklung basiert daher auf der Annahme, dass Gesellschaften drei Formen von nicht austauschbarem Kapital verwalten müssen: wirtschaftliches, soziales und natürliches Kapital.

Es mag sein, dass wir Wege finden können, einige natürliche Ressourcen zu ersetzen, aber es ist unwahrscheinlich, dass wir jemals in der Lage sein werden, die vom Ökosystem erbrachten Leistungen zu ersetzen: z.B. uns mit einer intakten Ozonschicht vor gefährlicher kosmischer Strahlung zu schützen oder uns mit ausreichend Sauerstoff zu versorgen, wie es die tropischen Wälder oder die Algen der Ozeane tun. Die Multifunktionalität vieler natürlicher Ressourcen und auch die biologische Vielfalt sind unersetzlich. Darüber hinaus sind die Verschlechterung der natürlichen Ressourcen und der Verlust natürlicher Dienstleistungen (z. B. die Aufnahme von Nährstoffen durch einen See) oft unumkehrbare Prozesse - ebenso wie der Verlust ethnischer und kultureller Vielfalt (z. B. indigener Sprachen). Daher kann nur eine nachhaltige Entwicklung beides sichern: den Schutz.

## KOOPERATIONSPRINZIP

Das Kooperationsprinzip unterstreicht, dass Umweltschutz eine gesamtgesellschaftliche und nicht nur eine staatliche Aufgabe ist: Dementsprechend sind alle Teile der Gesellschaft und des Staates zur Kooperation aufgerufen" (Knopp 2008: 49) Das Kooperationsprinzip ist das schwächste der vier Umweltprinzipien und wird den Anforderungen an ein Leitprinzip des Rechts kaum gerecht.

### WEITERE PRINZIPIEN IM NATIONALEN UND INTERNATIONALEN UMWELTRECHT

Neben den vier Grundprinzipien gibt es eine Reihe weiterer Prinzipien, die das nationale und internationale Umweltrecht leiten, wie z.B. das "Bestandsschutzprinzip" oder der "Grundsatz, dass Maßnahmen nicht zu einer erheblichen Verschlechterung der Umweltbedingungen führen dürfen". Nicht zuletzt ist auch der Grundsatz des grenzüberschreitenden Umweltschutzes zu nennen: Dieser Grundsatz spiegelt die Einsicht wider, dass Umweltprobleme nicht an nationalen Grenzen Halt machen. Dieses Prinzip liegt beispielsweise einem Großteil der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union zugrunde, in der es um die grenzüberschreitende Bewirtschaftung von Wasserressourcen in natürlichen Flusseinzugsgebieten geht.

Sowohl nationale als auch internationale Umweltgesetze beruhen häufig auf den oben genannten Grundsätzen, insbesondere auf dem Grundsatz der Grenzüberschreitung. Dies ist wichtig, da viele Umweltprobleme grenzüberschreitend sind, z. B. Klimawandel, Meerwasser- und Luftverschmutzung.

# REGULIERUNG DES UMWELTVERHALTENS

## 1. Instrumente zur Durchsetzung der Umweltpolitik (Planung)

Die Umweltpolitik hat sich in den Industrieländern vor allem als Reaktion auf das sehr intensive Wachstum der Umweltindustrie zu Beginn der 1970er Jahre zu speziellen Regierungsabteilungen entwickelt. Zunächst beschränkte sich die Politik hauptsächlich auf die Tätigkeit des Staates. Im Laufe der Jahre werden jedoch immer mehr Akteure mit Umweltinteressen (so genannte "Stakeholder") in Umweltangelegenheiten zur Verantwortung gezogen. Vor allem die Verantwortung der Verursacher von (potenziellen) Umweltproblemen gewinnt zunehmend an Bedeutung. Auch in anderen Ressorts müssen umweltpolitische Ziele und Strategien durchgesetzt werden, zum Beispiel in der Energie-, Verkehrs- und Industriepolitik, in der Landwirtschaft und im Bauwesen. Harte" umweltpolitische Instrumente (z.B. Gesetze und Verordnungen) stehen neben "weichen" Methoden der Verhaltenssteuerung (z.B. Ausbildung von Ingenieuren zum Umweltbewusstsein), z.B. bei Projekten, an denen viele private Akteure oder die Öffentlichkeit beteiligt sind.

Neben dem Umweltrecht sind die Formen der Umweltplanung insofern ein zentrales Instrumentarium, als die Umweltpolitik versucht, nicht nur als regulierendes, sondern auch als gestaltendes Instrument zu wirken. Umweltplanung kann als die Entwicklung nachhaltiger Umweltstrategien betrachtet werden, die das Erreichen regionaler oder sektoraler Umweltschutzziele innerhalb eines bestimmten Zeitrahmens ermöglichen sollen, z. B. die Reduzierung der CO2-Emissionen um 25 % innerhalb der nächsten zehn Jahre. In den 1980er Jahren spielte die Umsetzung der nationalen Umweltpläne in Dänemark, den Niederlanden und Finnland eine Vorreiterrolle. Wir werden daher zunächst auf die Möglichkeiten der Umweltplanung eingehen.

Um die Grundsätze und Ziele der Umweltpolitik durchzusetzen, werden im Rechtsrahmen vieler EU-Staaten zwei Instrumente eingesetzt: verschiedene Arten der Umweltplanung und verschiedene Maßnahmen zur Regulierung des Umweltverhaltens.

Die Umweltplanung ist ein wichtiges Instrument des vorsorgenden Schutzes. Die Planung erfolgt in einem mehrstufigen Prozess, der die Erfassung des Ist-Zustandes und die Vorhersage künftiger Entwicklungen beinhaltet und zudem mögliche Interessenkonflikte berücksichtigen muss.

Planungen können in Form von Gesetzen, Rechtsverordnungen, Satzungen, Verwaltungsvorschriften oder Verwaltungsakten erfolgen, die jeweils unterschiedliche Rechtsfolgen haben. Darüber hinaus kann es sich bei der Umweltplanung um eine umfassende Planung oder um eine sektorale Planung handeln. Zwei Formen der Umweltplanung sind vorherrschend, die umfassende Planung. Aufgabe der Gesamtplanung ist es, "die Flächennutzung für Siedlungs-, Wirtschafts- und Erholungszwecke für ein bestimmtes Gebiet vorausschauend, projektunabhängig und sektorübergreifend festzulegen" und die Fachplanung. Im Gegensatz dazu dient die Fachplanung der Aufstellung von Umweltschutzplänen für bestimmte Bereiche, vor allem Landschaft, Luftreinhaltung, Lärmschutz, Gewässerschutz und Abfallwirtschaft, die alle zusätzliche Durchsetzungsmaßnahmen erfordern.

Ein weiteres wichtiges Instrument zur Durchsetzung umweltpolitischer Forderungen ist die Umweltverträglichkeitsprüfung (UVP). Vorrangiges Ziel dieses Instruments ist es, "die Verwaltung rechtzeitig und umfassend über die Umweltauswirkungen umweltrelevanter Vorhaben zu informieren". Die UVP dient dazu, alle direkten und indirekten Auswirkungen eines geplanten Vorhabens auf die Umwelt, einschließlich der ökologischen Wechselwirkungen, rechtzeitig zu ermitteln, zu beschreiben und zu bewerten, so dass medien- und sektorübergreifend Vorsorgemaßnahmen getroffen und die Öffentlichkeit beteiligt werden kann.

## 2. Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens

Das Umweltverhalten ist vielleicht das wichtigste Ziel der Umweltpolitik und -erziehung. Es gibt verschiedene Instrumente zur Regulierung des Umweltverhaltens, die als direkte oder indirekte Formen der Regulierung unterschieden werden können: als (1) direkte Regulierung und (2) indirekte Regulierung des Verhaltens.

### DIREKTE VERHALTENSREGULIERUNG

Bei der direkten Verhaltensregulierung handelt es sich um rechtliche Maßnahmen, die das Umweltverhalten unmittelbar beeinflussen sollen. Das traditionelle Instrument dieser Art ist das Umweltordnungsrecht, "das seinen Ursprung im Polizei- und Ordnungsrecht hat und in der Regel Verstöße mit Sanktionen ahndet". Dementsprechend unterliegen Handlungen mit nachteiligen

Auswirkungen auf die Umwelt der Verwaltungskontrolle, die durch gesetzliche Anforderungen in Bezug auf Anmeldung, Registrierung, Lizenzierung, Genehmigung, Zulassung und andere Verfahren zur Erteilung der Erlaubnis zur Ausübung einer solchen Tätigkeit gekennzeichnet ist. Darüber hinaus erfolgt eine direkte Regulierung auch durch ausdrückliche gesetzliche Verbote oder Gebote bestimmter Verhaltensweisen.

Absolute gesetzliche Verbote (z.B. in Deutschland nach dem Bundesnaturschutzgesetz, 2002, §§ 23 [2], 42 [1] und [2]) verbieten unmittelbar bestimmte Verhaltensweisen mit negativen Auswirkungen auf die Umwelt. Der Gesetzgeber greift jedoch nur selten zu derartigen Maßnahmen. Dagegen sind Genehmigungsverfahren in vielen europäischen Staaten das zentrale Instrument des geltenden Umweltordnungsrechts. Genehmigungspflichtige Vorhaben sind ohne Genehmigung streng verboten. Die Errichtung oder der Betrieb einer umweltrelevanten Anlage, die Verwendung von Umweltmedien oder die Herstellung und der Vertrieb bestimmter Produkte können genehmigungspflichtig sein". Eine Genehmigung ist also ein konstitutiver Verwaltungsakt, der dem Antragsteller das Recht einräumt, eine ansonsten verbotene Tätigkeit rechtmäßig auszuüben. Das Umweltrecht enthält eine Reihe so genannter Umweltpflichten, von denen die Grundpflichten von besonderer Bedeutung sind. Sie verpflichten entweder jedermann oder einen bestimmten Personenkreis. In der Regel handelt es sich bei diesen Grundpflichten um vorbeugende und vorsorgende Maßnahmen, vor allem um die Erhaltung von Ressourcen (z. B. Wasser oder Boden). Neben diesen Grundpflichten gibt es "zahlreiche Nebenpflichten, die der Umwelt zugute kommen können, wie z. B. Förder- und Leistungspflichten, Überwachungs- und Schutzpflichten, Mitwirkungs- und ständige Informationspflichten, Organisationspflichten und Duldungspflichten.

## INDIREKTE REGULIERUNG DES VERHALTENS

Die indirekte Verhaltensregulierung stützt sich nicht auf Normen, die das Verhalten vorschreiben, sondern zielt auf die Beeinflussung der Motivation ab: Es werden Anreize für umweltfreundliches Verhalten geschaffen, wobei die Entscheidung dem Adressaten überlassen wird. Zu den Mitteln der indirekten Verhaltensregulierung gehören vor allem Informationsinstrumente, ökonomische Instrumente wie Abgaben, Zertifikate und Subventionen.

Information, Appelle und Warnungen bedeutet, dass nach dem deutschen Umweltinformationsgesetz (1994) der freie Zugang zu Umweltinformationen als Mittel zur Schärfung des Bewusstseins von Bürgern und Behörden für die Notwendigkeit eines wirksamen Umweltschutzes angesehen wird. Diese Mittel zur Schärfung des Umweltbewusstseins reichen von politischen und moralischen Appellen bis hin zu Warnungen, Empfehlungen und anderen Formen der Information, wie z.B. Kennzeichnungen, Produkt- und Gebrauchsinformationen. Das wichtigste Mittel zur indirekten Verhaltensregulierung sind Umweltabgaben. Sie belegen die Nutzung der Umwelt mit einem Preisschild und überlassen es den Marktteilnehmern, auf der Grundlage ihrer individuellen Kosten-Nutzen-Analysen zu entscheiden, ob und wie sie reagieren". In der Praxis kann die Unfähigkeit, das Verhalten über Umweltabgaben präzise zu beeinflussen, ein Problem darstellen. Sind sie zu niedrig angesetzt,

werden sich die Verursacher für die Zahlung der Abgabe entscheiden, anstatt ihr umweltschädliches Verhalten zu ändern. Sind die Abgaben zu hoch angesetzt, können sie die wirtschaftliche Wettbewerbsfähigkeit beeinträchtigen. In Deutschland werden 2012 beispielsweise folgende umweltrelevante Abgaben erhoben: Abwassergebühren, naturschutzrechtliche Ausgleichsabgaben und Waldschutzabgaben in verschiedenen Bundesländern, Wasserentnahmeentgelte in einigen Bundesländern ("Wasserpfennig") und die Abfalltransportgebühren (Verbraucherrecht).

Umweltabgaben können als Steuern, Gebühren und Beiträge für erbrachte Leistungen sowie als Sonderabgaben erhoben werden. Die Gewährung von Vorteilen für die Nutzer umweltfreundlicher Produkte, d. h. "Vorteile für die Nutzung" bezieht sich auf Bestimmungen, die die allgemeinen Beschränkungen für die Nutzung umweltschädlicher Produkte lockern oder aufheben, wenn die Produkte Normen erfüllen, die zwar nicht gesetzlich vorgeschrieben sind, aber als wünschenswert angesehen werden, so dass ein solches Produkt umweltfreundlicher ist als andere Produkte der gleichen Art. Obwohl dieses Instrument mittel- und langfristig keine finanziellen Anreize beinhaltet, sind Änderungen im Verbraucherverhalten zu erwarten, die dazu führen können, dass umweltschädlichere Produkte vom Markt verdrängt werden".

Oder die Subvention, d.h. die Bereitstellung finanzieller Unterstützung, ist eine Form der indirekten Verhaltensregulierung. Subventionen sind monetäre oder nicht-monetäre Leistungen, die vom Staat gewährt werden, ohne dass eine Gegenleistung in Form eines Produkts oder einer Dienstleistung erbracht wird. Subventionen werden im Allgemeinen mit Skepsis betrachtet, da sie als missbrauchsanfällig gelten und die Kosten des Umweltschutzes auf die Allgemeinheit abwälzen. In der Europäischen Union gibt es eine Tendenz zum Abbau von Umweltschutzsubventionen.

Und schließlich beruht die Idee der Umweltzertifikate auf einer marktgerechten Form der staatlichen Mengensteuerung. Zertifikatsbasierte Systeme gehen nicht von Preisen aus, sondern definieren ein zulässiges Maß für eine bestimmte zukünftige Umweltnutzung in quantitativer Hinsicht und überlassen die Gestaltung des Prozesses dem Markt. Dieses Instrument wurde im Rahmen des Kyoto-Protokolls für den Klimaschutz eingesetzt. Die zugeteilten Emissionszertifikate berechtigen den Inhaber, die Umwelt nur bis zu einem bestimmten Grad zu verschmutzen. Verschmutzt der Inhaber die Umwelt in geringerem Maße als erlaubt, kann er die ungenutzten Verschmutzungsrechte an einen anderen Verursacher verkaufen. Die Unternehmen können sich also dafür entscheiden, entweder die Emissionen ihrer Anlagen zu reduzieren oder zusätzliche Emissionszertifikate von anderen Unternehmen zu erwerben, die ihre Emissionen zu geringeren Kosten reduzieren konnten". Die künftigen Erfahrungen werden zeigen, ob sich dieses Instrument bei der Verringerung der Treibhausgasemissionen tatsächlich als erfolgreich erweisen wird. Wirtschaftliche Instrumente gewinnen als Ergänzung zum Umweltordnungsrecht zunehmend an Bedeutung. Es gibt keine einheitliche Antwort auf die Frage, was eigentlich die "richtige" Wahl der Instrumente ist, um einen angemessenen Ausgleich zwischen den verschiedenen Umweltnutzerinteressen, den Interessen der betroffenen Nachbarn, den Interessen der Allgemeinheit und dem Schutz der Umwelt zu erreichen. Gesetzgeber und Verwaltungen sind daher letztlich gezwungen, sich auf Versuch und Irrtum zu verlassen, um eine angemessene Entscheidung zu treffen.

# DIE MULTIDIMENSIONALE NACHHALTIGKEITSSTRATEGIE

Soziale Gerechtigkeit, Wohlstand und Frieden mit der Natur zur Überwindung globaler Krisen sind als drei miteinander verknüpfte und gleichgewichtige Ziele der Nachhaltigkeit zu sehen. Unklar bleibt jedoch, wie eine mehrdimensionale Nachhaltigkeitsstrategie in den einzelnen Ländern wie auch in der Weltgemeinschaft politisch durchsetzbar gemacht werden kann. Es besteht nämlich die große Gefahr, dass diese vielversprechende gesellschaftliche Strategie in die Nähe von Utopien und rein moralisch-normativ begründeten Wunschvorstellungen gerät.

Bei einer integrativen Nachhaltigkeitsstrategie im umfassenden Sinne geht es zunächst darum, die unterschiedlichen normativ begründeten Lebensperspektiven von Individuen, gesellschaftlichen Gruppen, Nationen, gegenwärtigen und zukünftigen Generationen zu koordinieren. Im Prozess der Suche und Gestaltung einer global nachhaltigen Entwicklung werden unzählige innergesellschaftliche und internationale Vereinbarungen zu treffen sein, die für alle beteiligten Akteure moralisch motivierend sein müssen. Und zwar so motivierend, dass diese Vereinbarungen einen Grad an Verbindlichkeit erlangen könnten, der es erlaubt, mögliche Verstöße gegen die Vereinbarungen mit Sanktionen zu ahnden. Der zu erzielende Konsens geht also über die bloße Koordinierung unterschiedlicher, normativ begründeter Perspektiven hinaus: Er setzt vielmehr einen allgemein akzeptierten ethischen Rahmen sowie Prinzipien und Normen voraus, die für alle Beteiligten ethisch gültig sind. Mit anderen Worten: Nachhaltigkeit braucht eine moralisch angemessene, politisch tragfähige und pluralistische Leitethik, die sozial und räumlich-zeitlich transzendent ist, die eine hohe, mit den Grundfreiheiten vergleichbare Akzeptanz hat und die es erlaubt, operationalisierbare und zielgerichtete, detaillierte Standards für ökologische, ökonomische, soziale, politische und kulturelle Nachhaltigkeitsdimensionen zu entwickeln. An einer solchen Ethik mangelt es jedoch bislang.

Gerade weil es an einer akzeptablen Ethik der Nachhaltigkeit fehlt, bleibt die Unsicherheit bei der Formulierung sozialer und ökonomischer Nachhaltigkeitsregeln und der Begründung moralisch konsensfähiger Handlungsschritte sehr hoch. Darüber hinaus begünstigt das Fehlen einer akzeptablen und umfassenden Ethik der Nachhaltigkeit die derzeitige Dominanz eindimensionaler, ökologisch-ökonomischer Betrachtungen in der Nachhaltigkeitsdebatte und behindert zugleich die Koordination, Kooperation und wechselseitige Anpassung vielversprechender, tatsächlich integrativer Nachhaltigkeitsansätze und ihrer jeweiligen Ziele.

Auch die ursprünglich unabhängig von der Nachhaltigkeitsdebatte geführte Ethikdebatte hat bisher keine entscheidenden Impulse gegeben, obwohl die unumkehrbaren Folgen der wissenschaftlich-technischen Entwicklung eine lebhafte ethische Debatte über die Verantwortung der Gegenwart gegenüber künftigen Generationen ausgelöst haben. An diese Debatte schloss sich die Diskussion über ökologische Gerechtigkeit und in jüngerer Zeit über Nachhaltigkeit an. Der erste Schritt in dieser Diskussion besteht verständlicherweise darin, zu prüfen, inwieweit die bisher akzeptierte Gerechtigkeitsethik auf die ökologische Gerechtigkeit übertragen werden kann. Das magere Ergebnis dieser Diskussion war jedoch vorprogrammiert. Die gängigen Gerechtigkeitsethiken kranken an der

Eindimensionalität ihres Bezugsrahmens. In ihnen ist die soziale Gerechtigkeit ein Parameter eines anderen übergeordneten Ziels.

- im Utilitarismus ist die soziale Gerechtigkeit von der Maximierung des Gesamtnutzens abhängig;
- im Marxismus ist soziale Gerechtigkeit nur in einer kommunistischen Gesellschaft möglich, d.h. wenn die Bedingungen für die Gleichheit aller Menschen historisch geschaffen wurden;
- und im Liberalismus ist die soziale Gerechtigkeit ein Parameter des Ziels der größtmöglichen Grundfreiheiten.

So gesehen sind diese Ethiken schon unzureichend, um soziale Gerechtigkeit als eigenständiges und unmittelbares gesellschaftspolitisches Ziel zu behandeln. Ihre Unzulänglichkeiten werden noch größer und ihre Verbindlichkeit für die Politik schwächer, wenn sie auch moralische Wertmaßstäbe für zusätzliche und qualitativ neue Gerechtigkeitsdimensionen wie die ökologische, die internationale und die intergenerationelle Gerechtigkeit liefern sollen.

# Chancengleichheit als universelle Ethik der global integrativen Nachhaltigkeit

Es stellt sich also die Frage, ob eine andere Ethik, die den Erfordernissen der integrativen Nachhaltigkeit Rechnung trägt, denkbar ist. Chancengleichheit als eigenständig konzipierte universalistische Ethik könnte nach Ansicht des Autors auf der Grundlage seiner bisherigen Erkenntnisse, die freilich vorläufigen Charakter haben, die nachweislich bestehende Orientierungslücke füllen. Kern seiner Überlegungen ist die Definition von Chancengleichheit als "gleiche Ausgangsbedingungen für Individuen, soziale Gruppen, Völker unterschiedlicher Hautfarbe, Religion, Kultur, Sprache, für Menschen unterschiedlichen Geschlechts und für verschiedene Generationen, ihre Bedürfnisse, Lebensstile und Möglichkeiten selbst zu bestimmen und gleichen Zugang zu natürlichen Ressourcen, Gütern und Positionen zu haben. Chancengleichheit ist eine Bedingung, die sowohl gegenüber historisch gewachsenen als auch gegenüber neu entstehenden Ungleichheitstrends immer wieder neu hergestellt werden muss".

Ob und in welcher Weise eine so verstandene Chancengleichheit als universelle Handlungsethik einen zentralen Beitrag zur Überwindung der oben skizzierten Defizite für eine Politik der inklusiven Nachhaltigkeit leisten kann, ist jedoch näher zu erörtern. Die folgenden Überlegungen dienen als

Ausgangspunkt: Die Schlussfolgerung der herrschenden liberalen Auffassung, dass die Verwirklichung von Chancengleichheit " gerade wegen der prinzipiellen Universalität des Individualbezugs inhaltlich nicht spezifizierbar" sei und dass "der Zauber und die Verlockung, die Verführbarkeit und die Vagheit" diesen Begriff "universell und allseitig als politischen Kampfbegriff verwendbar" mache, ist logisch keineswegs zwingend. Jede organisierte individualistische Gesellschaft muss im Interesse aller Individuen allgemeinen Normen und Regeln folgen. Die Universalität der Idee der Chancengleichheit besteht gerade darin, dass die Individuen sich gegenseitig zu Ansprüchen animieren und Verpflichtungen untereinander eingehen. Sie entspricht den moralischen Maßstäben und der begrifflichen Logik des Prinzips, dass kein Individuum die Chancen anderer Individuen beeinträchtigen darf, ganz im Sinne von Kants kategorischem Imperativ: "Handle so, dass die Maxime deines Willens jederzeit zugleich als Prinzip einer allgemeinen Gesetzgebung angesehen werden könnte." Darüber hinaus ist die wesentliche und unabdingbare Bedingung der Chancengleichheit die Gleichheit der Ausgangsbedingungen. Diese Bedingung ist sowohl moralisch als auch logisch integraler Bestandteil des Prinzips.

Der Ausschluss von historisch gewachsenen Ungleichheiten, Vermögen und Positionen, die nicht aus eigenem Verdienst, sondern durch Zuteilung entstanden sind, schließt die Verwirklichung von Chancengleichheit aus. Insofern ist die Annahme der Unbestimmtheit und völligen Offenheit des Prinzips für die politische Praxis willkürlich und ergibt sich vielmehr aus der Gerechtigkeitskonzeption des klassischen Liberalismus selbst. Chancengleichheit kann nicht nur intragenerativ, sondern auch in einem intergenerationalen Sinne universal interpretiert werden. Kants kategorischer Imperativ wird streng genommen erst durch eine Ethik der Chancengleichheit normativ folgerichtig und überwindet damit seinen Ruf eines bloß formalen Prinzips, mit dem keine Begründungen bestimmter Zwecke oder Maximen geliefert werden können. Im Hinblick auf ihre generationenübergreifende Universalität trägt die Idee der Chancengleichheit auch dem von Ethikern oft problematisierten, aber nicht gelösten Legitimationsdilemma Rechnung: Jede Gesellschaft hätte ihre eigenen Vorstellungen von Bedürfnissen und Wohlstand. Die heutigen Generationen hätten nicht das Recht, die Bedürfnisse künftiger Generationen zu definieren und ihnen zudem die technischen und sozialen Bedingungen vorzuschreiben. Diesem Einwand kann eine nachvollziehbare moralische Rechtfertigung nicht abgesprochen werden.

Die positive Wendung dieses Einwandes führt jedoch zu den moralischen Handlungsmaximen für die heutigen Generationen, die den künftigen Generationen die gleichen Chancen einräumen, die Natur nach ihren Vorstellungen von Bedürfnissen, Wohlbefinden und Glück zu nutzen. "Unsere Unwissenheit darf nicht als Rechtfertigung dafür dienen, die Lebenschancen der Nachgeborenen einzuschränken".

So verdichten und untermauern gewichtige Argumente die Auffassung, dass Chancengleichheit als Grundlage für eine raum- und zeitübergreifende Gesellschaftstheorie der integralen Nachhaltigkeit fruchtbar gemacht werden kann. Chancengleichheit als universelles Ethos und integrative Nachhaltigkeit als mehrdimensionaler Handlungsrahmen erfordern einen inter- bzw. transdisziplinären (sozioökonomischen, ökologischen, politikwissenschaftlichen, soziologischen und philosophischen) Ansatz.

Als grundlegend für die Konkretisierung und Verwirklichung der Chancengleichheit gelten die folgenden, noch vorläufigen Prinzipien

- Grundsatz der Freiheit: Jeder Mensch hat das gleiche Recht auf ein möglichst umfassendes Gesamtsystem gleicher Grundfreiheiten für alle. Eine weniger weitgehende Freiheit muss das Gesamtsystem der Freiheiten für alle stärken (Rawls' erstes Prinzip).
- Diversitätsprinzip: Jeder Mensch hat das Recht, eigene spezifische Eigenschaften wie Begabung, Lebensstil und Lebensplanung zu pflegen, zu erhalten und im Sinne der eigenen Selbstverwirklichung zu nutzen.
- Autonomieprinzip: Jeder Mensch hat das Recht auf die Früchte seiner eigenen Arbeit (Idee des Selbsteigentums nach dem klassischen Liberalismus und Marxismus).
- Prinzip der Zugangsfreiheit: Jeder Mensch hat das gleiche Recht auf Zugang zu natürlichen Ressourcen und zu gesellschaftlichen Positionen. Eine Einschränkung dieses Rechts muss zu einer Stärkung desselben für alle in der Gegenwart lebenden Menschen sowie für zukünftige Generationen führen.
- Grundsatz der Fürsorge: Jeder ist verpflichtet, für benachteiligte und abhängige Menschen zu sorgen. Die dabei in Kauf genommene Einschränkung der Autonomie muss das Gesamtsystem der Autonomie für alle stärken. Die Definition der Chancengleichheit und die Formulierung ihrer Grundsätze sind vorläufig. Es bleibt zu prüfen, inwieweit sowohl die Definition der Chancengleichheit als auch ihre einzelnen Prinzipien vollständig sind, jedes einzelne Prinzip in sich stimmig ist und diese in ein Gesamtkonzept integriert werden können, und schließlich, ob diese einzelnen Prinzipien auch anthropogen untermauert werden können nned.

Die Frage nach der Hierarchie dieser Prinzipien muss vorerst offen bleiben; ob eine wertende Hierarchie oder Gleichrangigkeit moralisch zwingend ist, bedarf einer eingehenden Untersuchung, obwohl bereits vieles dafür spricht, dass diese Prinzipien in einem unauflöslichen Verhältnis zueinander stehen müssten. Es gibt jedoch genügend Anhaltspunkte für die Hypothese, dass Chancengleichheit den Anforderungen einer mehrdimensionalen Ethik und der Politik der integralen Nachhaltigkeit viel stärker entspricht als die bisher bekannte Ethik der Gerechtigkeit. Sie ist als integrative Weiterentwicklung jener gängigen Gerechtigkeitsethiken konzipiert, in denen entweder das Prinzip der Gleichheit oder das Prinzip der Freiheit absolut dominant ist. Freiheit, Autonomie, Selbstverwirklichung und Fürsorge, Leistungsgerechtigkeit und Bedarfsgerechtigkeit verleihen der Chancengleichheit eine moralische Tauglichkeit und Politikfähigkeit höchsten Ranges.

# Verweise

Boldt et al. 2009. Synthetische Biologie - Eine ethisch-philosophische Analyse, p. 8.

Catenhusen WM. 2011. Simultanmitschrift der Tagung des Deutschen Ethikrates vom 23.11.2011, p. 85.

Charisius H., et al. 2012. Unser kleines Gen-Labor,

Cohen J. 2012. WHO Group: H5N1 Papers Should Be Published in Full, Science February 24, Vol. 335 no. 6071, pp. 899-900 DOI: 10.1126/science.335.6071.899.

Colussi IA. 2012. Synthetic biology, concerns and risks: looking for a (constitutionally oriented) regulatory framework and a system of governance for a new emerging technology, Trento.

Dederer HG. 2010. Neuartige Technologien als Herausforderung an das Recht - dargestellt am Beispiel der Nanotechnologie, in: Spranger/Tade, Aktuelle Herausforderungen der Life Sciences, p. 71 f.

Deutscher Ethikrat (German Ethics Council) (Friedrich, Bärbel 01/24/2010).

DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft (German Research Foundation) (2009): Synthetic Biology, Bonn.

Third Report of the Federal Government on Experience with the Genetic Engineering Act. .2008. Bt-Drs 16/8155, printed in: Eberbach et. al. (2012): Volume 2, Part I, B. I., p. 3.

Eberbach W. 2012. Gentechnik und Recht, in: Eberbach et al., Recht der Gentechnik und Biomedizin, 79th Ergänzungs - Lieferung, Vol. 1, Part A. I. p. 13 (12).

Engelhardt M. 2010. The Political Opinion, 493: 23.

Fouchier,RA. 2012. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. Science, 336 (6088): 1534-41.

Garfinkel MI, Endy D, Epstein GL, Friedmann RM. 2007. Synthetic genomics: options for governance. The J Craig Venter Institute, Rockville, Maryland, p. 38 ff.

Jarass HD. 2013. Charter of Fundamental Rights of the European Union.

Kluth W. 2012. Wissenschaftsfreiheit vs. Sicherheitsinteressen http://www.academics.de/wissenschaft/wissenschaftsfreiheit _vs_sicherheitsinteressen_52504.html.

Krämer L. 2013. Genetically Modified Living Organisms and the Precautionary Principle, http://www.testbiotech.org/node/904

Luttermann C. 2011. Synthetic Biology: Building Blocks for Life and Jurisprudence. JZ, 195.

Mooney P. 2010. Next Bang! Wie das riskante Spiel mit Megatechnologien unsere Existenz bedroht, Munich.

Nouri A, Chyba CF. 2009. Proliferation-resistant biotechnology: an approach to improve biological security. Nature Biotechnology, 27: 234 - 236.

Parliamentary Ethics Committee of 07/01/2009, 16/13780.

Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues. 2010. New Directions. The Ethics of Synthetic Biology and Emerging Technologies, Washington, p. 140 ff.

Robienski J, Simon J, Paslack R. 2016. Legal Aspects of Synthetic Biology. In: Joachim Boldt (Hg.): Synthetic Biology, Bd. 493. Wiesbaden, pp. 123–140

Sauter A. 2011. Synthetische Biologie: Finale Technisierung des Lebens – oder Etikettenschwindel. TAB-Brief, 39: 23.

Schmidt M. 2011. Biosicherheit und Synthetische Biologie. In: Pühler, A., Synthetische Biologie – Die Geburt einer Technikwissenschaf, p. 112 f.

Schmidt M, Giersch G. 2011. DNA Synthesis and Security, In: Marissa J. Campbell, DNA Microarrays, Synthesis and Synthetic DNA, Chapter 6.

Security and Defense Research - Working Group (2010): Guidelines and Rules of the Max Planck Society On A Responsible Approach To Freedom Of Research And Research Risks, 19. 3., www.mpg.de/232129/researchFreedomRisks.pdf - (accessed 11/17/2020).

Statement of NSABB. 2012. Meeting of the National Science Advisory Board for Biosecurity to Review Revised Manuscripts on Transmissibility of A/H5N1 Influenza Virus, oba.od.nih.gov/.../biosecurity/.../NSABB_Statem... (accessed 12/27/2020).

The European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission (cit. EGE). 2009. Ethics of synthetic biology, Opinion No. 25, Brussels, 17. November, p. 27 f.

Then C, Hamberger S. 2010. Synthetische Biologie, Teil 1: Synthetische Biologie und künstliches Leben – eine kritische Analyse, Testbiotech, June 2010.

World Health Organization, Statement (2011): WHO concerned that new H5N1 influenza research could undermine the 2011 Pandemic Influenza Preparedness Framework (11/30/2011), www.who.int/entity/.../news/.../index.html

ZKBS. 2012. Zwischenbericht der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit. Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland, p. 8.

Nida-Rümelin J (Hg.). 1996. Angewandte Ethik. Die Bereichsethiken und ihre theoretische Fundierung. Ein Handbuch, Stuttgart

Nida-Rümelin J, Von der Pfordten D, Tierethik II. 1996. Zu den ethischen Grundlagen des Deutschen Tierschutzgesetzes. ni: Nida-Rümelin, pp. 484-509

Niemann H. 1997. Vermehrung genetisch identischer Tiere durch Klonen. Manuskript und Beantwortung des Fragenkataloges zur Anhörung im Ausschuss für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten des Deutschen Bundestages am 11.6.1997.

Podschun TE. 1999. Sie nannten sie Dolly - Von Klonen, Genen und unserer Verantwortung, Weinheim.

Thomson JA, Marshall VS. 1998. Primate Embryonic Stem Cell Lines. Curr. Top. Dev. Biol., 38: 133-165

Tinneberg HR, Ottmar C. 1995. Moderne Fortpflanzungsmedizin - Grundlagen, IVF, ethische und juristische Aspekte, Stuttgart

Travis J. Human Embryonic Stem Cells Found?, in: ScienceNewsOnline,

Altner G. 1982. Grundlagen. In: Kalberlah, F., Michelsen, G. & Rühling, U. (eds), Der Fischer Öko-Almanach. Daten, Fakten, Trends der Umweltdiskussion, Frankfurt am Main, pp.13-50 (16).

Berkes F, Colding J, Folke C. 2003. Navigating social-ecological systems: building resilience for complexity and change, Cambridge University Press, Cambridge.

Bick H. 1987. Ökologie - Wissenschaft von den wechselseitigen Beziehungen zwischen Organismen und Umwelt. In: Calließ, J. &Lob, R.E. (eds), Handbuch Praxis der Umwelt- und Friedenerziehung. Vol. 1: Grundlagen, Düsseldorf, pp.16-27 (21).

Bückmann W, Leo YH, Simonis UE. 2003. Nachhaltigkit und das Recht, Bundeszentrale für politische Bildung, 1.7.2003, Aus Politik und Zeitgeschicht (B27/2003), Umwelt und Klimapolitik

Bundesregierung. 2002. Perspektiven für Deutschland. Unsere Strategie für eine nachhaltige Entwicklung, Berlin.

Enquete-Kommission des Deutschen Bundestages. 1994. Schutz des Menschen und der Umwelt, Die Industriegesellschaft gestalten. Perspektiven für einen nachhaltigen Umgang mit Stoff- und Materialströmen, Bonn.

Meadows DH, Meadows DL, Randers J, Behrens III, William W. 1971. The Limits to Growth; A Report for the Club of Rome's Project on the Predicament of Mankind, New York.

Partelow S. 2018. A review of the social-ecological systems framework: applications, methods, modifications, and challenges. Ecology and Society, 23(4): 36.

Paslack R. 1991. Urgeschichte der Selbstorganisation. Zur Archäologie eines wissenschaftlichen Paradigmas. Vol. 32, in series: Wissenschaftstheorie: Wissenschaft und Philosophie. Braunschweig/Wiesbaden.

Paslack R. 2012. The challenge to environmental ethics, in: Vromans, K., Paslack, R., Isildar, G. Y., deVrind, R. & Simon, J. W. (eds), Environmental Ethics – An Introduction and Learning Guide. Greenleaf Publishing, Sheffield, pp. 65-82.

Sandin P, Peterson M, Hansson SO, Rudén C, Juthe A. 2002. Five charges against the precautionary principle. Journal of Risk Research, 5 (4): 287-299.

Stivers PE. 1976. The Debate Goes On: Science and Policy; Policy and Science, April 1.

UBA. 2002. Nachhaltiges Deutschland. Wege zu einer dauerhaft-umweltgerechten Entwicklung, Berlin 1997; auch in Englisch: Sustainable Development in Germany. Progress and Prospects, Berlin 1998; vgl. auch UBA, Nachhaltige Entwicklung in Deutschland. Die Zukunft dauerhaft umweltgerecht gestalten, Berlin.

Van den Belt H. 2003. Debating the Precautionary Principle: “Guilty until Proven Innocent” or “Innocent until Proven Guilty”? pp. 1122-1126.

Weidner H. 1995. 25 Years of Modern Environmental Policy in Germany. Treading a well-worn path to the Top of the International Field, Wissenschaftszentrum Berlin für Sozialforschung, pp. 1-99.

***Project website: www.digit-biotech.eu***

***The European Commission's support for the production of this publication does not constitute an endorsement of the contents, which reflect the views only of the authors, and the Commission cannot be held responsible for any use which may be made of the information contained therein.***