



© reineg - Fotolia.com

## Fingerabdrücke des Stoffwechsels *Fingerprints of Metabolism*

Werner Schandor

**M**etabolomics befasst sich mit dem analytischen Nachweis von Stoffwechselzwischenprodukten, den Metaboliten. Anhand des Metabolitenspiegels lassen sich Abläufe im Stoffwechsel auf niedermolekularer Ebene nachzeichnen, aber auch Abweichungen vom Sollzustand erkennen, etwa bei Krebszellen. Eine Forschungsgruppe der TU Graz widmet sich seit 2011 der Metabolit-Bestimmung und kooperiert dabei mit Joanneum Research und der MedUni Graz.

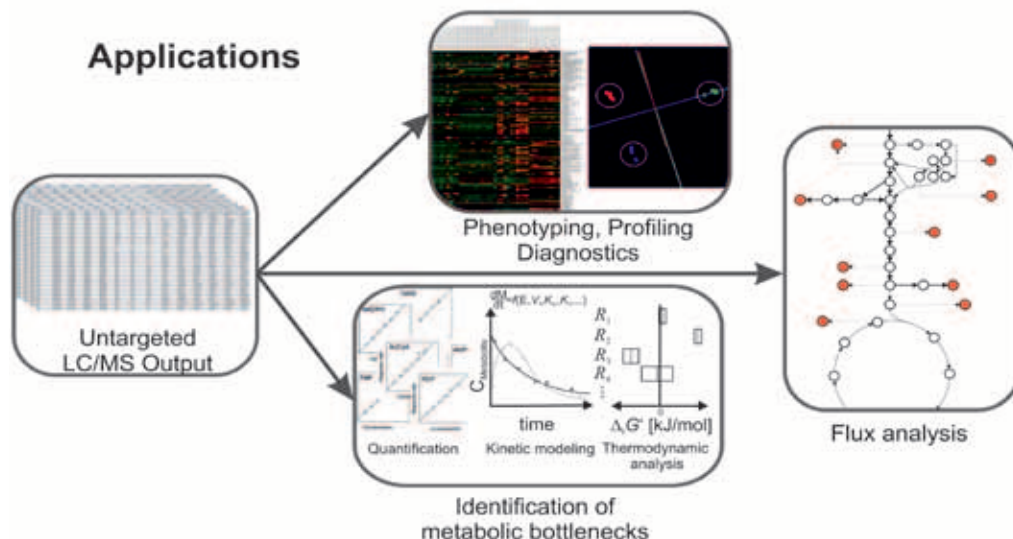
Die Zeitschrift „The Scientist“ beschreibt Metabolomics als „systematische Erhebung der individuellen chemischen Fingerabdrücke, die spezifische Zellabläufe des Stoffwechsels hinterlassen“. Weit über 1000 Metaboliten lassen sich als Zwischenstufen des Stoffwechsels in einer einzigen Zelle erkennen. Weltweit wurden bisher mehrere Hunderttausend Metaboliten analysiert und in internationalen Metabolit-Datenbanken erfasst. Die TU Graz gehört zu den wenigen Einrichtungen in Österreich, die sich mit dem noch jungen Forschungszweig Metabolomics befassen. Am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik möchte man sich mit verbesserter Methodik und neuen Anwendungen profilieren: einerseits in der Stammoptimierung für die Biotechnologie, andererseits im Bereich der Biomarker-Forschung. Hier wird die TU Graz in Kooperation mit dem Institut für Molekularbiologie und Biochemie der Medizinischen Universität Graz Glioblastomzellen (Hirntumorzellen) untersuchen. Die Metabolomics-Aktivitäten an der TU Graz werden von Mario Klimacek geleitet. Er kam während eines Postdoc-Aufenthaltes an der ETH Zürich mit dem Forschungsfeld in Kontakt. Um Metabolomics zu erklären, muss er >

**M**etabolomics deals with the analytical proof of metabolic intermediate products known as metabolites. Using metabolite levels, metabolic processes can be traced at a submolecular level, as can also deviations from the normal state, such as with cancer cells. A research group at Graz University of Technology is dedicated to detecting metabolites and has been working jointly with Joanneum Research and the Medical University of Graz since 2011.

“The Scientist” journal describes metabolomics as a “systematic survey of individual chemical fingerprints which leave behind traces of specific cell processes of metabolism”. More than 1,000 metabolites have been detected as intermediate metabolic stages in a single cell. Worldwide, up to several hundred thousand metabolites have been analysed up till now and entered in international metabolite databases. Graz University of Technology is one of the few institutions in Austria which deals with the still young research branch of metabolomics. At the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering, scientists want to raise the profile of their improved methodology and new applications specifically in two areas: the optimization of microbes for biotechnology and the field of biomarker research. Here, Graz University of Technology in cooperation with the Institute of Molecular Biology and Biochemistry at the Medical University of Graz will investigate glioblastoma cells (brain tumour cells). The metabolomics activities at Graz University of Technology are led by Mario Klimacek. He came into contact with this research field during a post-doc stay at ETH Zurich. Explaining metabolomics involves explaining how everyday reality extends >

**Abbildung 1:**  
Mögliche Applikationen der  
Metabolitanalyse im Bereich der  
Biotechnologie und Biomedizin

**Figure 1:**  
Potential applications of  
metabolite analysis in  
biotechnology and biomedicine.



ausholen, wobei der Weg von der lebensweltlichen Realität auf die molekulare Ebene führt: von der Nahrung, die wir zu uns nehmen, zum Zucker, der in unseren Zellen im Rahmen des Stoffwechsels weiterzerlegt wird. „Die Metabolitpiegel, die sich während dieses Prozesses ergeben, sind typisch für die Eigenschaften einer Zelle“, erläutert Klimacek: „Ein Beispiel ist der Blutglukosespiegel, der auch ein Metabolit ist: Ist dieser zu hoch, ist das ein Hinweis auf Diabetes.“

### Metabolitprofile als Indikatoren

Je besser man die komplexen Abläufe im Metabolismus kennt, desto zuverlässiger lassen sich auch Abweichungen erkennen, zum Beispiel im Metabolitpiegel von gesunden Zellen im Vergleich zu Tumorzellen. „Unterschiede in den Metabolitprofilen können in Folge wertvolle Hinweise für Therapieansätze liefern“, sagt Klimacek. „Oder sie könnten in der Stammoptimierung für die Biotechnologieforschung, die immer auf der Suche nach Stämmen ist, die schneller, besser und effizienter arbeiten, Hinweise darauf geben, wo die Flaschenhalse sitzen.“ (Siehe Abb. 1.) Auf dem langen Weg zu diesen Zielen sind mehrere große Hürden zu bewältigen. Zu den größten zählen: 1.) die aufwendige Aufbereitung der Proben, 2.) die Probenauswertung inkl. Verfügbarkeit bzw. Kostenintensität der dazu nötigen Instrumente und 3.) die riesigen Datenmengen, die bei der Analyse anfallen. Die Bewältigung aller drei Punkte verlangt unterschiedliche Kompetenzen, die nur durch Kooperationen erfüllt werden können. Die Basis für die erfolgreiche Implementierung von Metabolomics an der TU Graz war die Kooperation mit dem Institut HEALTH von Joanneum Research (JR). Die JR-Forschungsgruppe Bioanalytik und Metabolomics unter der Leitung von Christoph Magnes stellt in dieser Kooperation nicht nur das Massenspektrometer zur Verfügung, sondern brachte in hohem Ausmaß auch ihre Fachkenntnis in Sachen Analytik und primäre Datenauswertung ins Projekt ein. Dadurch ließ sich für Mario Klimacek und sein Team, das derzeit aus drei Master-Studierenden besteht, Hürde Nr. 2 problemlos meistern.

to the molecular level: from the nourishment we take, to the sugar which is further metabolically broken down in our cells. “The levels of metabolites which exist during this process are typical for the properties of a cell,” explains Klimacek. “An example of this is the blood glucose level, which is also a metabolite. If it’s too high, this is an indication of diabetes.”

### Metabolite profiles as indicators

The better we know the complex processes of metabolism, the more reliably we can detect deviations – for instance, in the metabolite level of healthy cells in comparison to tumour cells. “Differences in metabolite profiles can consequently provide valuable pointers for therapeutic approaches,” says Klimacek. “Or regarding the optimization of microbes in biotechnology research, which is always on the look for strains which are faster, better and work more efficiently, clues can be given as to where the bottlenecks are.” (See Figure 1.) But there are many hurdles to overcome on the way to these goals. As regards the big figures: 1.) The elaborate preparation of samples. 2.) The evaluation of samples including availability and costs of the necessary instruments. And 3.) the huge amounts of data that accrue during analysis. Accomplishing all three points demands different sets of expertise, which can only be fulfilled in co-operation projects. The basis for the successful implementation of metabolomics at Graz University of Technology was the co-operation with Joanneum Research’s “Institute HEALTH”. The Joanneum Research (JR) research group Bioanalytics and Metabolomics headed by Christoph Magnes doesn’t only make their mass spectrometer available in this co-operation project, but also contributes expertise in the fields of analysis and primary data evaluation to a high degree. This means that for Mario Klimacek and his team of three master’s students, hurdle number two has been mastered smoothly. And hurdle number one has also been managed: the preparation of samples, whose method of handling yeasts, bacteria and glioblastoma cells first has to be established in Graz. Expressed in simple terms, to be able to rep-

### Literatur/References

- <sup>1</sup> Datentabellen und principal component analysis, G. Libiseller (JR, HEALTH); Heatmap, E. Zügner (JR, Health; TU Graz, IBB; MedUni Graz, IMBB).  
Tables and principal component analysis, G. Libiseller (JR, HEALTH); heatmap, E. Zügner (JR, HEALTH; TU Graz, IBB; MedUni Graz, IMBB).
- <sup>2</sup> Massenspektren, G. Libiseller (JR, HEALTH); Inserts: *S. cerevisiae*, <http://foodists.ca/wp-content/uploads/2009/10/budding.yeast.jpg-460x460.jpg>; *E. coli*, [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/32/EscherichiaColi\\_NIAID.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/32/EscherichiaColi_NIAID.jpg); Glioblastomazellen, E. Bernhart (MedUni Graz, IMBB).  
Mass spectra, G. Libiseller (JR, HEALTH); Inserts: *S. cerevisiae*, <http://foodists.ca/wp-content/uploads/2009/10/budding.yeast.jpg-460x460.jpg>; *E. coli*, [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/32/EscherichiaColi\\_NIAID.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/32/EscherichiaColi_NIAID.jpg); Glioblastoma cells, E. Bernhart (MedUni Graz, IMBB).

Geschafft ist auch Hürde Nr. 1: die Probenaufbereitung, deren Protokolle für Hefe, Bakterien und Glioblastomzellen in Graz erst etabliert werden mussten. Um ein Metabolitprofil abbilden zu können, muss, vereinfacht gesprochen, der Metabolismus der Zelle gestoppt, die Zellen aufgebrochen und Enzyme deaktiviert werden. – Insgesamt ein komplexer Prozess, der in Sachen Temperaturkonstanz und Proben-Empfindlichkeit herausfordernd für Klimacek's Team war. Als Spin-off dieser Tätigkeiten ist am TU Graz-Institut für Medizintechnik eine Bachelorarbeit zur Entwicklung von automatisierten Probennahmesystemen in Arbeit.

### Durchblick im Datenwust

Ist die Zellprobe aufbereitet, werden die chemischen Bausteine im Massenspektrometer erhoben, wodurch sich derzeit in Graz pro Messung beachtliche 200 bis 250 Metaboliten eindeutig bestimmen lassen. Die eigentliche Messung ist relativ rasch erledigt: Die Daten liegen innerhalb weniger Stunden vor und stellen die Forscherinnen und Forscher vor die nächste Aufgabe – nämlich, sie auszuwerten (Abb. 1 und 2). „Am Anfang steht die Frage nach den Eigenschaften einer Zelle: warum sie etwas macht. Am Ende steht ein riesiger Datensatz mit ein paar Tausend Zeilen und Hunderten Kolonnen“, schildert Klimacek. „Erst aus der Analyse und dem Verständnis der Eigenschaften heraus, die in dieser Datenmenge abgebildet sind, lässt sich das System der Metaboliten verstehen.“ Aktuell arbeiten Klimacek und sein Team daran, die laufenden Aktivitäten zu finalisieren und die Ergebnisse zu publizieren. In einem nächsten Schritt soll eine Methodik entwickelt werden, mit der metabolische Flussverteilungen, basierend auf der zeitaufgelösten Inkorporation von  $^{13}\text{C}$ -markierten Substraten, gemessen werden können. Erste Aktivitäten dazu wurden im Mai 2014 gestartet. ■

*resent a metabolite profile, the cell metabolism has to be stopped, the cells broken open and enzymes deactivated. Altogether, this is a very complex process and was extremely challenging for Klimacek's team regarding temperature constancy and sample sensitivity. As a spin-off from these activities, a bachelor thesis is being written on the development of automated sampling systems at Graz University of Technology, Institute of Medical Engineering.*

### Keeping a perspective in the data jungle

*Once the cell sample has been prepared, the chemical building blocks are ascertained in the mass spectrometer. Currently in Graz, an astounding 200 to 250 metabolites are determined per measurement. The actual measurement is carried out rather quickly. The data become available within a few hours, and the researchers then brace themselves for the next task – which is to evaluate it (see Figures 1 and 2). “At the beginning, the properties of each cell are questioned. Why it does something in particular. At the end, there is a huge dataset with a couple of thousand lines and hundreds of columns,” reports Klimacek. “Only from the analysis and a knowledge of the properties which are depicted in the data can the system of metabolites be understood.” Klimacek and his team are currently working on finalising ongoing activities and publishing the results. The next step involves developing a methodology to be able to measure metabolic flow distributions based on the time-resolved incorporation of  $^{13}\text{C}$ -labeled substrates. The first activities in this direction were initiated in May 2014. ■*

**Abbildung 2:**  
Metabolome Analyse von *S. cerevisiae*, Glioblastoma und *E. coli* Zellen, gewachsen auf Glukose unter aeroben Bedingungen.

*Figure 2:*  
Metabolome analysis of *S. cerevisiae*, Glioblastoma and *E. coli* cells grown on glucose under aerobic conditions.

