

systembiologie.de scholae

ARBEITS- UND INFORMATIONSMATERIAL FÜR SCHULEN (OBERSTUFE)
ÜBER DIE SYSTEMBIOLOGISCHE FORSCHUNG IN DEUTSCHLAND

Einführung in die Systembiologie

Seite 7

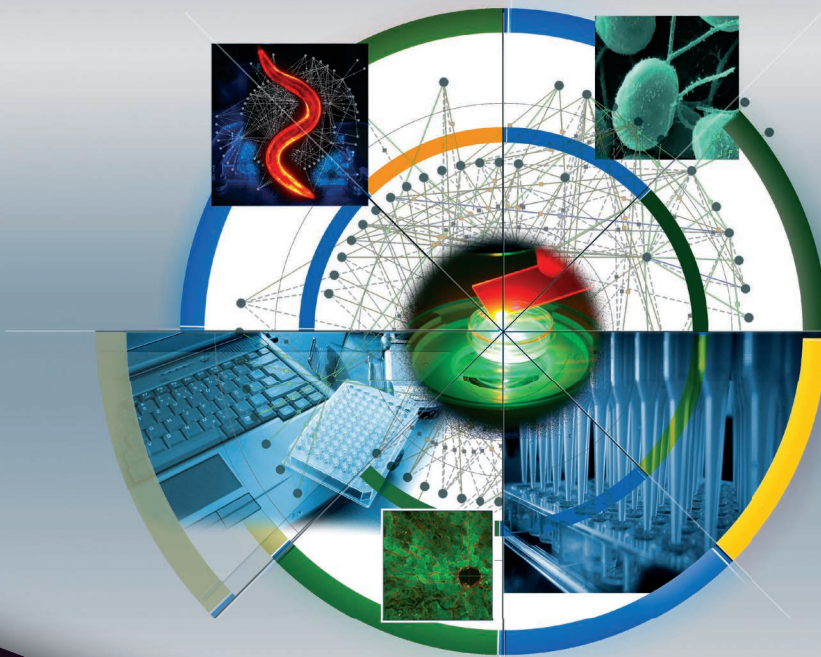
Beispiele aus der
systembiologischen
Forschung

Seite 15

Wo kann ich in Deutschland
Systembiologie studieren?

Seite 45





Systembiologie – Systeme des Lebens

Die Systembiologie ist ein interdisziplinärer Forschungsansatz, der darauf abzielt, das funktionierende Zusammenwirken einzelner Bausteine des Lebens mit Hilfe computer-gestützter mathematischer Modelle in ihrer Gesamtheit zu erfassen.

Dieser ganzheitliche Ansatz erfordert die Zusammenarbeit der Forscher verschiedener Disziplinen, um die komplexen Lebensprozesse besser verstehen und nutzen zu können. Die Systembiologie verfügt über ein vielfältiges Anwendungspotenzial, insbesondere in der Biomedizin, der gezielten Pflanzenzüchtung und in der industriellen Nutzung biologischer Systeme.

Das Ziel dieser Sonderausgabe ist es, Schülern Einblicke in die Möglichkeiten dieses neuen technologischen Ansatzes (Systembiologie) anhand ausgewählter Forschungsergebnisse zu vermitteln, den Erkenntnisgewinn im Biologieunterricht der Abiturstufe zu fördern und das Interesse für diese Studienrichtung zu wecken.

Inhalt

Grußwort	4	
Prof. Dr. Johanna Wanka, Bundesministerin für Bildung und Forschung		

Vorwort	5	
Prof. Dr. Roland Eils, Chefredakteur		

Wie kann systembiologie – scholae den Unterricht bereichern?	6	
---	---	--

1. Einführung in die Systembiologie	7	
--	---	--

1.1 Systembiologie – eine Lebenswissenschaft mit Blick aufs Ganze	7	
--	---	--

1.2 Einführung in die Methoden der Systembiologie	11	
--	----	--

1.3 Die Rolle der Mathematik in der Systembiologie	13	
---	----	--

2. Beispiele aus der systembiologischen Forschung	15	
--	----	--

2.1 Stammzellen – Regulation der Zelldifferenzierung von Stammzellen zu Körperzellen	15	
---	----	--

2.2 Krebs – aus systembiologischer Sicht	19	
Brustkrebs – personalisierte Therapieansätze		
Darmkrebs – mit Modellen für eine bessere Diagnostik		
Lungenkrebs – moderne Methoden unterstützen die Forschung		

2.3 Epigenetik – wie Gene reguliert werden	27	
---	----	--

2.4 Wie aus Hautzellen Leberzellen werden	32	
Neue Wege zur Reprogrammierung von Körperzellen		
(Prof. Dr. med. Ralf Mrowka, 4. Ausgabe systembiologie.de, Seite 44 ff.)		

2.5 Wie Blut entsteht	37	
Modellierung von Differenzierungsdynamiken der Blutbildung auf mehreren Skalen		
(Prof. Dr. Dr. Fabian Theis, 5. Ausgabe systembiologie.de, Seite 81 ff.)		

3. Interview mit Prof. Dr. Dr. Fabian J. Theis	42	
Leiter des Instituts für Computational Biology am Helmholtz Zentrum München		

4. Wo kann ich in Deutschland Systembiologie studieren?	45	
Liste der Universitäten mit Studiengang Systembiologie		

Impressum	48	
------------------	----	--

Grußwort

Liebe Leserinnen und Leser,



im globalen Wettbewerb um gute Ideen zählt Deutschland zu den führenden Nationen. Beim Export von forschungsintensiven Gütern gehört Deutschland mit einem Anteil von rund 12 Prozent am Welt-handelsvolumen zu den Spitzenreitern. Um diese Position zu sichern, brauchen wir auch künftig qualifizierten Nachwuchs in Wissenschaft, Forschung und Technologie. Das gilt besonders für die sogenannten MINT-Fächer Mathematik, Informatik, Naturwissenschaften und Technik. Beispielhaft für diese Disziplinen steht das Forschungsfeld der Systembiologie. In ihr arbeiten Experten dieser Fachrichtungen interdisziplinär zusammen.

Die Systembiologie ist eine junge Forschungsdisziplin, die das Potenzial hat, die Lebenswissenschaften grundlegend zu verändern. Warum entsteht Krebs? Welcher Organismus produziert den Treibstoff der Zukunft? Hinter diesen Fragen verbergen sich komplexe, biologische Rätsel. Wo die klassischen Methoden und Verfahren der Biologie an ihre Grenzen stoßen, setzen die Systembiologen an. Sie übertragen die Ergebnisse aus modernen Experimenten am Computer in mathematische Modelle. Auf dieser Grundlage machen die Forscher Vorhersagen und überprüfen diese erneut im Labor. Komplexe dynamische Vorgänge in Zellen, Organen und Organismen werden nachvollziehbar gemacht. Der systembiologische Forschungsansatz liefert damit neue Erkenntnisse für die Biomedizin, aber auch für Biotechnologie und andere Felder. Insbesondere die Gesundheitsforschung hat sich zu einem zentralen Anwendungsbereich der Systembiologie entwickelt.

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) hat das Innovationspotenzial der Systembiologie frühzeitig erkannt. Seit 2004 unterstützen wir systembiologische Projekte in vielfältigen Anwendungsfeldern. Das BMBF hat bisher mehr als 470 Millionen Euro in die Förderung dieser Schlüsseltechnologie investiert. Unser Ziel ist es, eine große Zahl junger, innovativer und kompetenter Forscher auszubilden, die gelernt haben, interdisziplinär zu denken. Mittlerweile werden an etwa 20 Universitäten in Deutschland Studiengänge mit dem Schwerpunkt Systembiologie angeboten.

Welche Chancen die Systembiologie für Sie bereithält, erfahren Sie in dieser Ausgabe von systembiologie.de.

Prof. Dr. Johanna Wanka

Bundesministerin für Bildung und Forschung

Vorwort

Liebe Leserinnen und Leser,



warum sollte Sie die Systembiologie interessieren?

Die Systembiologie betrachtet biologische Organismen, wie Pflanzen oder den Menschen, als Ganzes. Dabei werden nicht nur einzelne Moleküle des Organismus untersucht, sondern die verschiedenen regulatorischen Elemente einer Zelle, wie etwa das Genom, also die Gesamtheit aller Gene, oder auch die Stoffwechselprozesse und Organellen, gemeinsam analysiert.

Die Systembiologie ist ein noch junges Wissenschaftsgebiet mit enormem Potenzial. Sie hat sich innerhalb weniger Jahre als eigenständige Forschungsdisziplin international etabliert. Vor allem deutsche Forscher und der Wissenschaftsstandort Deutschland haben hier eine weltweite Führungsrolle übernommen. Um diese Vorreiterrolle in der Systembiologie zu erhalten, brauchen wir in Deutschland Nachwuchswissenschaftler und Nachwuchswissenschaftlerinnen, die diese spannende Disziplin weiter vorantreiben. Hier wollen wir ansetzen und in Ihnen das Interesse an der Systembiologie wecken.

In meiner Schulzeit hatte ich große Vorbehalte gegenüber der Biologie, ich konnte nie den Sinn darin verstehen, Details von Mäusegebissen oder Blütenstengeln auswendig zu lernen. Dabei gibt es hochspannende Themen wie die Molekularbiologie, Genetik oder Evolutionsbiologie. Interessant ist vor allem der Bereich der modernen Biologie, der in der Systembiologie eine Schnittstelle zwischen der Mathematik und der Biologie darstellt. Gefordert sind in der Systembiologie nicht nur Kenntnisse der Biologie, sondern vielmehr auch der Nachbardisziplinen Mathematik und Physik. Erst im Studium eröffnete sich für mich dieser spannende Bereich; ich hätte mir gewünscht, dass mich meine Lehrer in meiner Schullaufbahn schon viel früher an dieses Thema herangeführt hätten.

Die Schülers Ausgabe des systembiologie.de-Magazins soll Ihnen helfen, frühzeitig einen Einblick in das vielfältige Forschungsfeld der Systembiologie zu gewinnen. Hierfür haben Mitarbeiter des Deutschen Krebsforschungszentrums und des Forschungszentrums Jülich gemeinsam mit dem Team des Gläsernen Labors ausgewählte Forschungsbeiträge aus den Magazinen von systembiologie.de für die Schule aufbereitet, so dass Sie als Schüler, aber nicht zuletzt auch Ihre Lehrer, den systembiologischen Ansatz aus verschiedenen Blickwinkeln betrachten und verstehen können. Dabei wurden Inhalte ausgesucht, die auch lehrplanmäßig im Biologie-Unterricht eine Rolle spielen, wie etwa Krebs, Stammzellen und Epigenetik.

Warum also sollte Sie die Systembiologie interessieren? Ich denke, dass diese junge Disziplin wie bald kein anderer Bereich der modernen Biologie die Chance bereitet, unser grundsätzliches Verständnis von Lebensprozessen nachhaltig zu verändern. Wenn Deutschland als Wissenschaftsstandort in einem Feld der Lebenswissenschaften ganz vorne mitspielen kann, dann ist dies die Systembiologie. Lassen Sie sich beim Lesen dieses Schülermagazins anstecken von der Begeisterung, die wir alle für die Systembiologie hegen. Begeistern Sie, liebe Schülerinnen und Schüler, im Gegenzug Ihre Lehrer für diesen spannenden Wissenschaftszweig, so dass dieser moderne Arm der Biologie Einzug in den Unterrichtsalltag hält.

Ich wünsche Ihnen ganz viel Spaß beim Lesen!

Ihr Roland Eils

Chefredakteur systembiologie.de

Wie kann systembiologie.de scholae den Unterricht bereichern?

In der vorliegenden Broschüre **systembiologie.de scholae** wurden aktuelle Forschungsartikel aus früheren Ausgaben der **systembiologie.de** ausgewählt und für Unterrichtszwecke aufgearbeitet.

Die unterschiedlichen Kapitel des Heftes stellen Informationsangebote für Lehrer/innen und Oberstufenschüler/innen dar. Sie bauen nicht aufeinander auf, können also je nach Situation frei in den Unterricht integriert werden. Neben der Einführung in die Systembiologie werden die Bereiche Stammzellen, Krebs sowie epigenetische Aspekte in Bezug auf die Systembiologie betrachtet. Originalartikel sowie ein Interview vervollständigen das Informationsangebot.

Im Lehrerheft befinden sich didaktische Hinweise, die die nach dem Rahmenlehrplan geforderten Kompetenzen aufzeigen. Das Lehrerheft bietet dem Lehrer Anregungen, mögliche Lösungsvorschläge und ergänzende Informationen zu den entsprechenden Themen.

Jeder Abschnitt beginnt mit einführenden Texten, Abbildungen und/oder Grafiken zum jeweiligen Fachgebiet (Arbeitsmaterialien). Diese Artikel stellen eine fachliche Grundlage zum Thema dar und dienen als Basis für die Bearbeitung der am Ende des Artikels stehenden Arbeitsaufträge. Die Aufgabenvorschläge für die Schüler (Arbeitsaufträge) dienen der vertiefenden Analyse der Materialien, der zusätzlichen Recherche und dem Diskurs in der Gruppe.

Wir wünschen Ihnen viel Freude und Erfolg mit dieser Ausgabe **systembiologie.de scholae**!

Die Koordinierungsstellen Projektträger Jülich, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg sowie das Team des Gläsernen Labors Berlin-Buch



1. Einführung in die Systembiologie

1.1 Systembiologie – eine Lebenswissenschaft mit Blick aufs Ganze

Zellen wachsen, teilen und spezialisieren sich, sie kommunizieren mit anderen Zellen, reagieren auf Umgebungsreize, altern und sterben. Dabei steht jede einzelne Zelle ständig in Wechselwirkung mit anderen Zellen, der Umwelt oder anderen äußeren Einflüssen, die über das Schicksal dieser Zelle mitentscheiden. So teilt sich beispielsweise eine Blutvorläuferzelle nicht ungehemmt, wenn eine optimale Menge an Blutzellen vorhanden ist. Kommt es jedoch aufgrund von Blutverlust zu einer Abnahme von Blutzellen, werden Vorläuferzellen so lange zur Teilung angeregt, bis der Optimalzustand wiederhergestellt ist.

All dies passiert, weil innerhalb jeder einzelnen Zelle ein hochkomplexes System aus Interaktionen besteht, das die Entwicklung dieser Zelle unter gegebenen Bedingungen optimal steuert. Die Teilung und Differenzierung von Blutvorläuferzellen ist beispielsweise vom Wachstumshormon „Epo“ abhängig, das von außen ein Signal an die Zelle gibt. Dem gegenüber stehen Zellen, bei denen dieses System der Signalübertragung gestört ist und die sich auch ohne Wachstumshormon ungehemmt teilen. Solche Zellen, die damit zu Tumorzellen werden, können zu schwerwiegenden Schäden im Gesamtsystem führen (siehe Kapitel 2.2), wenn sie nicht vom Organismus oder durch Medikamente rechtzeitig zerstört werden.

Ein Organismus wie der menschliche Körper setzt sich wiederum aus Billionen individueller Zellen zusammen, die dort auf hochkomplexe Art und Weise miteinander wechselwirken. Im gesunden Zustand funktioniert dieses aus optimal eingestellten Einzelkomponenten bestehende Gesamtsystem so gut, dass es über Jahrzehnte hinweg ein Gleichgewicht aufrechterhält, in dem wir wachsen, uns entwickeln und vermehren können. Ist dieses

Gleichgewicht gestört, sprechen wir von einer Erkrankung. Um dieser Erkrankung zielgerichtet entgegenzuwirken, muss man jedoch zuerst die Ursache erkennen – möglichst bis ins kleinste zelluläre Detail. Ist so etwas überhaupt möglich?

Wohl kaum. Denn was wir so unbedacht als „Leben“ bezeichnen, ist kein einfach zu durchschauender statischer Zustand, sondern ein komplexer, sich ständig wandelnder dynamischer Prozess, in dem alles mit allem verknüpft ist. Wollen wir verstehen, wie eine einzelne Zelle funktioniert, müssen wir wissen, welche molekularen Prozesse innerhalb dieser Zelle vor sich gehen. Genau so wichtig ist es allerdings zu wissen, in welches System, welche Umgebung die Zelle eingebettet ist, weil die inneren Aktionen der Zelle prinzipiell nur Reaktionen auf äußere Einflüsse sind – die wiederum ebenso nur Reaktionen auf andere äußere Einflüsse darstellen. Wollen wir hingegen verstehen, wie das gesamte System funktioniert, ist ein Wissen um die Einzelkomponenten unabdingbar.

Was wir also benötigen ist ein Blick auf das Ganze mit Einbeziehung möglichst vieler Einzelkomponenten. Bei mehreren Billionen Zellen in unserem Körper ist das jedoch ein ambitioniertes Unterfangen. Die **Systembiologie**, eine neue Fachrichtung der modernen Naturwissenschaften, hat sich dieser Herausforderung angenommen. Unter dem Credo „Everything is connected“ versucht sie, die lebenden Systeme als ein komplexes zeitlich-räumliches Zusammenwirken von molekularen Einzelkomponenten darzustellen und damit biologisch oder medizinisch relevante Fragestellungen zu untersuchen. Die Schwierigkeit der systembiologischen Forschung liegt vor allem in der beinahe unendlichen Menge an Daten, die ausgewertet und verknüpft werden müssen, was mit den herkömmlichen Methoden wegen

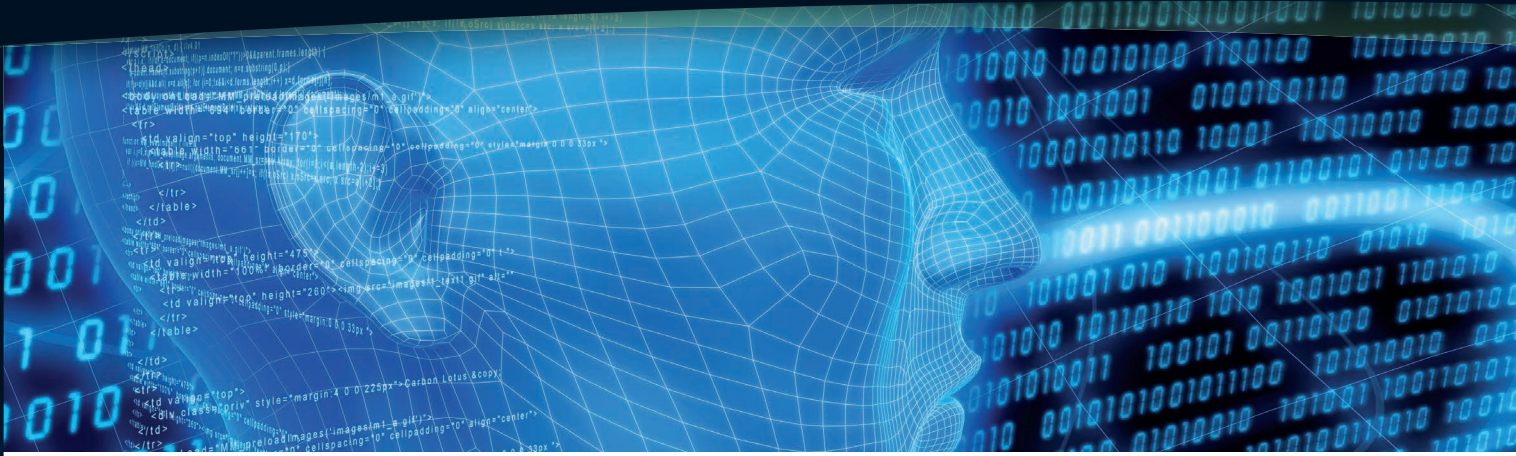


Foto: Sebastian Kaulitzki – Fotolia.com

der großen Menge schlichtweg unmöglich ist. Deshalb ist ein interdisziplinärer Forschungsansatz wichtig, der die Biologie mit Methoden aus der Mathematik, Informatik und den Ingenieurwissenschaften verbindet. Daten werden im Experiment erhoben und in mathematische Modelle übertragen. Diese werden im Idealfall zur Simulation und Vorhersage biologischer Prozesse genutzt. So sind Systembiologen im Stande, komplexe dynamische biologische Prozesse vereinfacht als **Modelle** im Computer abzubilden und dadurch Zusammenhänge zu verstehen, die der klassischen Biologie bisher verborgen blieben. Durch solche Modelle kann man nicht nur besser verstehen, wie ein Organismus funktioniert, sondern auch, wie bestimmte Erkrankungen entstehen oder sich auf den Organismus auswirken und wie man beispielsweise mit Medikamenten auf diese einwirken kann.

Wie aber können wir uns die heutige Erforschung solcher komplexer dynamischer Systeme vorstellen?

Versetzen wir uns doch in die Lage eines Ingenieurs, der mit seinem Team die Entwicklung eines neuen kraftstoffsparenden, schnellen und kostengünstigen Autos vornimmt. Die Ingenieure müssen am Computer nicht nur die ausgewählten Einzelteile zu einem Auto zusammenfügen, sondern durch Messungen und Berechnungen das günstigste Zusammenspiel aller Einzelteile zum Gesamtsystem finden, um mathematisch genau u. a. den Kraftstoffverbrauch, die Maximalgeschwindigkeit und den Produktionspreis des Fahrzeugs nennen zu können. Hierzu haben die In-

genieure mit Hilfe der Mathematik Computermodelle entwickelt, mit denen sie z. B. das Verhalten eines Autos simulieren können.

Ähnlich wie dem Auto-Entwicklungsingenieur geht es dem Systembiologen: Auch lebende Organismen bestehen aus vielen Einzelteilen (Komponenten), die sich gegenseitig beeinflussen. Die Erkenntnis, dass nicht nur der Aufbau, also die einzelnen Bausteine, sondern darüber hinaus insbesondere das Zusammenspiel der Einzelkomponenten die Funktion des Systems bestimmt, hat den neuen Forschungsansatz der Systembiologie hervorgebracht: Der Systembiologe will die dynamischen Prozesse wie Regulation, Signalübertragung, etc. in Zellen verstehen und in mathematische Modelle übertragen. Mit Hilfe dieser Modelle werden dann am Computer Simulationen durchgeführt, die präzise Vorhersagen beispielsweise über das Verhalten bestimmter dynamischer Zellprozesse ermöglichen, die anschließend im Experiment überprüft werden können.

Zu diesem Zweck vereint die Systembiologie die Ansätze aus etablierten Spezialgebieten der Lebenswissenschaften wie Biochemie, Molekularbiologie, Genetik, Physiologie und Medizin mit Methoden aus Ingenieurwissenschaften, Mathematik, Physik, Informatik und Chemie (BMBF, 2009).

Verfolgen wir die Zusammenarbeit der Biologen mit den Modellierern an dem vereinfachten Beispiel der Signalweitergabe von der Zelloberfläche bis in den Zellkern. Das Signal wird vom Zelloberflächenrezeptor zum Zellkern durch wenige Proteine vermittelt, um z. B. Zielgene zu aktivieren (s. Kapitel 2.2, Abb. 7). Aufbauend auf den Messwerten der biologischen Laborexperimente erarbeitet das Modelliererteam (u. a. Mathematiker, Physiker, Informatiker) die mathematischen Gleichungen (u. a. Differentialgleichungen) mit Computerhilfe und entsprechender Software, denn der Rechenaufwand für die mathematischen Modelle ist sehr groß. Aus den Ergebnissen der vielfach wiederholten Versuchsreihen, Messdaten und Berechnungen können durch die datenbasierte mathematische Modellierung von bestimmten Signalwegen (u. a. JAK-STAT-Signalweg) neue Erkennt-

WAS IST SYSTEMBIOLOGIE?

Systembiologie ist definiert als quantitative Analyse der dynamischen Interaktionen zwischen den Komponenten eines biologischen Systems mit dem Ziel, das Verhalten des Systems als Ganzes zu verstehen und Vorhersagen zu ermöglichen. Dazu werden mathematische Konzepte auf biologische Systeme angewendet. Dabei findet ein iterativer Prozess statt zwischen Laborexperiment und Modellierung im Computer (BMBF/Pt Jülich-Broschüre, 2008).



nisse gewonnen werden, die durch die biologischen Experimente nicht möglich sind (Klingmüller und Timmer, 2014).

Das Konzept der wissenschaftlichen Untersuchungen biologischer Systeme mit Hilfe weiterer mathematisch-naturwissenschaftlicher Disziplinen ist nicht neu. Die Systemtheorie, auf die sich der Wortteil „System“ bezieht, hat ihren Ursprung bei Karl Ludwig von Bertalanffy (1901 – 1972), der 1949 einen Aufsatz „Zu einer allgemeinen Systemlehre Biologia Generalis“ veröffentlichte. Oberster Grundsatz der Systemtheorie nach von Bertalanffy ist es, allgemein gültige Gesetzmäßigkeiten in Systemen zu finden und diese wissenschaftlich exakt zu formulieren.

Die Neurophysiologen und Nobelpreisträger Alan Lloyd Hodgkin und Andrew Fielding Huxley schufen mit dem mathematischen Modell einer Nervenzelle die Grundlagen für die mathematische Simulation von Lebensprozessen auf der Basis von Differentialgleichungen (Hodgkin-Huxley-Modell, Hodgkin und Huxley, 1952).

Aufsehen erregte Denis Noble 1960 mit der Veröffentlichung des ersten mathematischen Modells eines schlagenden Herzens in der wissenschaftlichen Zeitschrift *Nature* (Noble, 1960). Dieses Modell wurde in den letzten Jahrzehnten vor allem mit Hilfe der Computertechnologie verfeinert, so dass es heute von Pharmafirmen als Plattform verwendet wird, um im Computer die (Neben-) Wirkung von bestimmten Medikamenten auf bestimmte Vorgänge im Herzen zu simulieren.

Seit dieser Zeit ist der Begriff Systembiologie unmittelbar mit der mathematischen Modellierung dynamischer biologischer Prozesse gekoppelt, die im Idealfall auch eine Vorhersage von Prozessabläufen erlaubt (Wolkenhauer und Klingmüller, 2004).

Der Durchbruch zur modernen Systembiologie geht um die Jahrtausendwende unter anderem auf die Entschlüsselung des menschlichen Genoms (Humangenomprojekt) zurück, verbunden mit anderen technologischen Fortschritten, zum Beispiel in den Hochdurchsatz-Analysen, der Computertechnik und dem Internet.

Mit Hilfe dieser Technologien wurde eine Vielzahl von Daten erhoben, deren funktionelle Bedeutung bislang nur zum Teil bestimmt werden konnte. Hier setzt nun die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Forscherinnen und Forschern aus den Bereichen Biologie, Chemie, Medizin, Informatik sowie System- und Ingenieurwissenschaften an, um das Potential der vorhandenen Daten vollständig zu nutzen.

Was ist das Besondere an der systembiologischen Forschung?

Die Systembiologie vereint die Durchführung komplexer Experimente mit der mathematischen Modellierung der gewonnenen Daten und ermöglicht im Ergebnis die Formulierung voraussagender (prädiktiver) Modelle zu komplexen biologischen Vorgängen – von der Zellebene bis hin zum ganzen Organismus.

Leroy Hood, der Gründer des weltweit ersten Instituts für Systembiologie in Seattle, USA, nannte sechs Merkmale, die das Besondere der systembiologischen Forschung aufzeigen:

- 1. Umfassende Messungen:** Wissenschaftler messen die dynamischen Veränderungen aller Gene, RNAs und Proteine, anstatt diese nur einzeln zu betrachten.
- 2. Integration verschiedener Datentypen:** Informationen über DNA, RNA, Proteine und deren Interaktionen werden computergestützt und mathematisch zusammengefasst.
- 3. Statische Messungen** (über verschiedene Zeitpunkte) erfolgen in verschiedenen Bereichen wie z. B. Entwicklung, Physiologie, Krankheit und Umwelt.
- 4.** Forschung insgesamt wird getrieben von **Entdeckungen und Hypothesen**, nicht nur von einem der beiden.
- 5.** Die durchgeführten **Messungen sind quantitativ**, nicht nur qualitativ (man möchte zum Beispiel wissen, wie viel mehr eines Proteins unter bestimmten Bedingungen produziert wird, nicht nur, dass mehr Protein vorhanden ist).
- 6.** Ein **iterativer** (mehrfach wiederholender) **Ablauf** der Datenerzeugung: Daten – Modell – Vorhersage – Bestätigung – Modifizierung – Daten.

(nach „SCIENCE IN SCHOOL“, 2013)

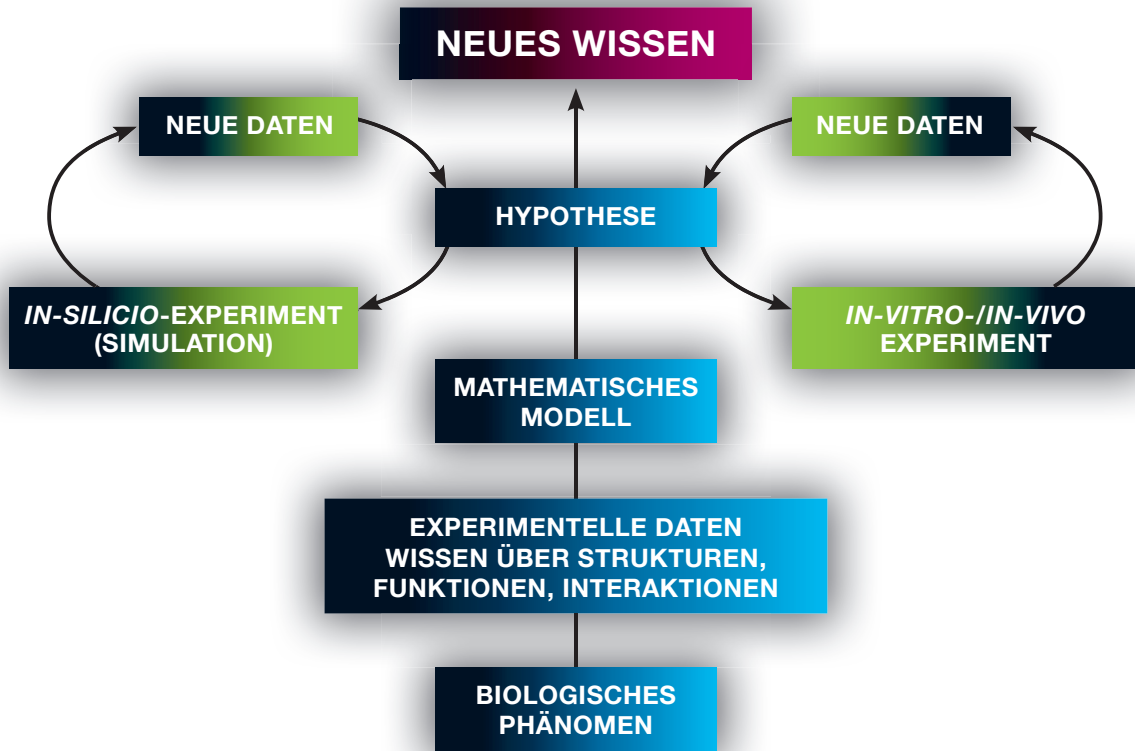


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Gewinnung von neuem Wissen (Quelle: BMBF 2008).

War bisher in der Biologie das verfügbare Wissen vorwiegend qualitativer und beschreibender Natur, was zum Verständnis der molekularen Details beispielsweise der Gene und Enzyme wichtig ist, erforscht die Systembiologie quantitativ, wie diese Einzelteile zusammenarbeiten und sich wechselseitig beeinflussen. Bei den umfassenden Analysen der Datenmengen des Genoms, des Transkriptoms, des Proteoms und des Metaboloms geht es also dem Systembiologen um die mit den Einzelementen verbundenen komplexen Prozesse, um zum ganzheitlichen Verständnis eines Organismus zu gelangen. Kern dieses systembiologischen Forschungsansatzes ist ein sich mehrfach wiederholender Zyklus zwischen Laborexperimenten und mathematischer Modellierung (Zyklus *in silico* – *in vivo/vitro*). Ergebnis dieses Prozesses ist ein optimiertes mathematisches Modell, mit dem sich das Verhalten eines gegebenen biologischen Systems in einem definierten Umfeld beschreiben lässt (Abb. 1).

Abbildung 1 zeigt den Systemansatz auf: Aus dem Wissen über die Funktion eines biologischen Merkmals (Phänomen) und dessen Zusammenhänge im betrachteten biologischen System (z. B. Regulationsnetzwerk in einer Zelle) wird ein mathematisches Modell entwickelt. Aus diesem Modell werden Hypothesen zu Systemeigenschaften und Systemverhalten abgeleitet, die in Laborexperimenten (*in vitro/in vivo*) getestet werden. Die

Auswertung dieser Ergebnisse führt wiederum zu neuen, erweiterten oder korrigierten Hypothesen, die zur Verbesserung und Erweiterung des Modells führen. Am Computer (*in silico*) wird mit Hilfe des mathematischen Modells eine Simulation durchgeführt, die neue Daten liefert und eine Überprüfung der Hypothese erfordert. Entweder trifft die Hypothese zu oder das Modell muss nochmals erweitert werden. Durch diesen sich vielfach wiederholenden Prozess aus modellbasierten Computersimulationen und Laborexperimenten (Abb. 1) kommt es zu einer Datenmenge, die über spezielle Computer-Programme ausgewertet wird und zu neuen Erkenntnissen führt. Letztlich entsteht ein Gesamtbild der zellulären Interaktionen beispielsweise innerhalb der Signalübertragungen von dem Membranrezeptor zum Zellkern. Entsprechende Experimente *in vitro* bestätigen entweder die Erkenntnisse aus der am Computer erfolgten Simulation oder es sind neue biologische Daten hinzugekommen, anhand derer die Übereinstimmung mit den entwickelten Hypothesen überprüft werden kann.

1.2 Einführung in die Methoden der Systembiologie

Um die systembiologische Forschung noch schneller zu entwickeln, hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) viel Geld für Forschung, den Aufbau von Forschungszentren, in die Entwicklung von neuen Methoden in der Systembiologie sowie in die Ausbildung von systembiologischen Forschern investiert.

Mit der Methodenentwicklung soll der Zugang zu neuen Daten über dynamische biologische Prozesse verbessert werden. Angestrebt wird ein optimales Verständnis elementarer Zellfunktionen, zum Beispiel die Dynamik membranständiger Proteinkomplexe, die Zell-Zell-Kontakte oder die Signalvermittlung zwischen Zellmembran und Zellkern sowie die epigenetischen Effekte (Abschnitt 2.3) zur An- und Stummschaltung von Genen.

Eine wesentliche Methode der Systembiologie ist der Einsatz von computerbasierten Techniken zur Datengewinnung und Datenverarbeitung. Experimentell gewonnene Messdaten fassen die Systembiologen vorzugsweise in Differentialgleichungen zusammen, um daraus das entsprechende Computermodell zu entwickeln. Bei den besagten Messdaten handelt es sich natürlich nicht um kleinzählige Stichproben, sondern um Datensätze, die „im großen Stil“ aufgenommen wurden. Denn nur so können statistisch einwandfreie Ergebnisse erzeugt werden, die den Realzustand zutreffend beschreiben. Für diese Datenerfassung verwendet man deshalb die so genannten „Hochdurchsatzmethoden“. Dabei handelt es sich um wissenschaftliche Methoden, mit denen man eine hohe Anzahl an individuellen Messdaten in kürzester Zeit aufnehmen kann.

Mit dem Einsatz moderner Hochdurchsatztechnologien wird zum Beispiel eine stetig steigende Anzahl verschiedener Genome sequenziert und analysiert.

An der ersten Entschlüsselung des menschlichen Genoms durch das Humangenomprojekt arbeiteten rund 1000 Forscherteams aus mehr als 30 Ländern ca. 10 Jahre. Die Kosten wurden mit über drei Milliarden Dollar angegeben (NGFN, 2010). Heute stehen mit den Hochdurchsatz-Sequenzierungsgeräten Technologien zur Verfügung, die das menschliche Genom in ein bis zwei Tagen zu wesentlich günstigeren Kosten (geplant sind 1000 \$ pro Genom) entschlüsseln können.

Das Methodenspektrum moderner Hochdurchsatztechnologien umfasst auch beispielsweise Hochdichte-Spotting-Roboter (Abb. 2a), hochauflösende Mikroskopietechniken (Abb. 2b) und die Verknüpfung dieser mit massenspektrometrischen Technologien. Durch die Massenspektroskopie (MS), einer Methode zum Messen der Masse von Atomen und Molekülen, kann mit Hilfe eines Gaschromatografen die exakte Analyse der Zusammensetzung einer Verbindung erfolgen (z. B. Proteinbestimmung in Blut oder anderen Körperflüssigkeiten).

Dadurch ist die Einrichtung von Datenbanken (Datenbibliotheken) möglich. Hochleistungsrechner mit Rechenkapazitäten im Peta-FLOPS-Bereich kommen zum Einsatz, wodurch mehr als eine Billion Rechenoperationen pro Sekunde ausgeführt werden können (FLOPS: Floating Point Operations Per Second).

Mit dem Hochdichte-Spotting-Roboter, der parallel mit 384 Nadeln und bildverarbeitungsgestützter Steuerung arbeitet, werden Microarrays, z. B. mit nichtkodierender RNA (ncRNA), hergestellt und für die Analyse ihrer Funktion bei der Regulierung zellulärer Vorgänge genutzt (Erfle, 2013). Ein Microarray („kleines Feld“) ist die Sammelbezeichnung für ein molekularbiologisches Untersuchungssystem, das auf einem 1cm² großen beschichteten

Abbildung 2a: Hochdichte-Spotting-Roboter zum Drucken identischer Hochdichtezellarrays

(Quelle: Holger Erfle, systembiologie.de 06 2013, S. 47-48)

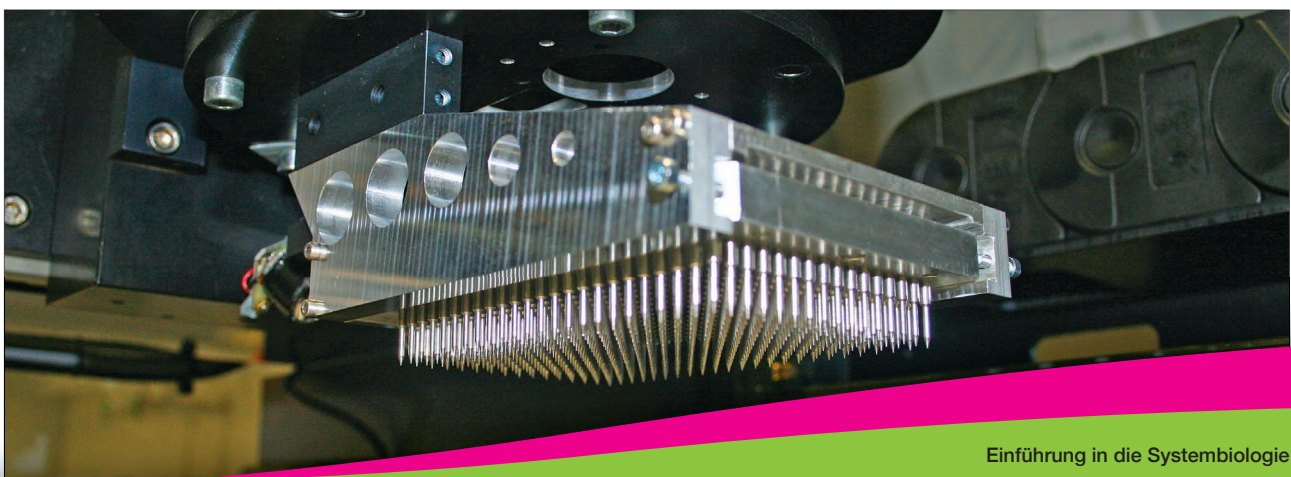


Foto: Jürgen Reymann



Foto: Nina Beil

Abbildung 2b: Automatisches konfokales Mikroskop „TCS SP5“ (Quelle: Holger Erle, systembiologie.de, 06 2013, S. 47-48).

Glas- oder Kunststoffträger, z.B. mit Proben-Nukleinsäuren bedruckt (spotted) wird und eine parallele Analyse z.B. von mehreren tausend DNA-Fragmenten erlaubt. Weiter nutzt die Systembiologie Microarrays zur Anwendung in der Proteinanalyse und der Proteindiagnostik.

Ohne ausreichend große Datenbanken wäre Systembiologie nicht machbar. Die molekularbiologischen Datenbanken wie z. B. die GenBank, eine der drei großen DNA-Sequenzdatenbanken, enthalten u. a. Informationen über die Nukleotid-Sequenz von Genen oder die Aminosäure-Sequenz von Proteinen sowie andere Informationen, die der Systembiologie für die Computermodellierung abrufen kann.

Für die Lösung der vielfältigen Aufgabenstellungen in der Systembiologie nutzen die Forscher zwei sich ergänzende Ansätze: einen Top-down- und einen Bottom-up-Ansatz (Abb. 3).

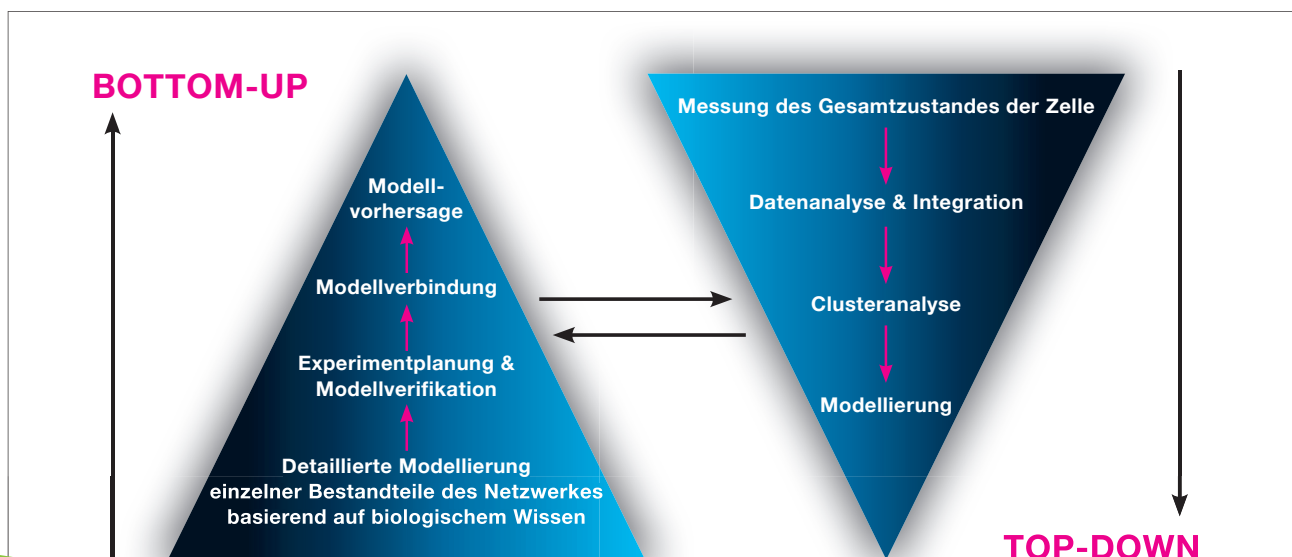
Wie aus Abb. 3 ersichtlich, geht der Bottom-up-Ansatz von dem biologischen Detailwissen der Einzelkomponenten und deren molekularen Wechselwirkungen aus, um mit geeigneten Modellen den Gesamtüberblick zu erhalten.

Ist der Top-down-Ansatz die gewählte Methode, liegt ein Gesamtüberblick z. B. der zellulären Aktivität durch experimentelle Daten vor. Nach Datenanalyse, Formulierung von Hypothesen und mathematischer Modellierung sollen neue molekulare Mechanismen entdeckt werden.

Bei der Modellierung kommt es darauf an, dass das Modell für die vorliegenden Daten eine Erklärung gibt oder auch Vorschläge für weitere Experimente liefert. In diesem Zusammenhang ist für die Forschung von großer Bedeutung, dass sie Zugang zu den Forschungsdaten anderer Forschungsteams erhält (s. Big Data in der Pflanzenforschung, GXP-S, 2015). Ein Systembiologe aus Heidelberg oder Berlin kann zum Beispiel auf die Daten eines französischen oder amerikanischen Forschers zugreifen. Um den Austausch der Forschungsdaten und deren Vergleichbarkeit sowie Übertragbarkeit zu verwirklichen, wurden einheitliche Regeln in der Klassifizierung dieser Daten – sogenannte Standards – eingeführt. Die BMBF-Fördermaßnahme „Neue Methoden in der Systembiologie“ hebt hervor, dass „allen methodischen und technologischen Entwicklungen der Gedanke einer standardisierten Datenerhebung zugrunde gelegt werden muss“ (BMBF 2008).

Abbildung 3: Verbindung von Bottom-up- und Top-down-Ansätzen in der Systembiologie

(Quelle: ZSB Stuttgart 2006, geändert)






Foto: zphoto – Fotolia.com

1.3 Die Rolle der Mathematik in der Systembiologie

Jede der angeführten Technologien trägt mit ihren Methoden zur Aufklärung von Struktur und Funktion der einzelnen Systeme bei. Doch erst die mathematische Formulierung der beobachteten Phänomene erlaubt es, Voraussagen über die Prinzipien zellulärer Organisation und Funktion zu machen.

Viele Naturgesetzmäßigkeiten, wie zum Beispiel das Gesetz des freien Falls oder der exponentiellen und linearen Wachstumsprozesse, können mit Hilfe der Mathematik formuliert werden. Vorwiegend geschieht dies durch Differentialgleichungen als wesentliches Mittel der Modellierung.

Wie eingangs erwähnt, erarbeiteten Hodgkin und Huxley gemeinsam das nach ihnen benannte Hodgkin-Huxley-Modell, um die Membranwiderstände für die Natrium- und Kalium-Ionenströme innerhalb einer Nervenzellmembran durch Simulation am Computer mit Hilfe von Differentialgleichungen darzustellen (Hodgkin und Huxley, 1952). Gut 50 Jahre später gelang es der systembiologischen Forschung, Funktionsweisen molekularer Interaktionsnetzwerke z. B. bei der Stammzellendifferenzierung (siehe Kapitel 2.1) oder Krebszellentstehung (siehe Kapitel 2.2) zu ergründen, wobei die verwendeten mathematischen Modelle neben den bereits angeführten Differentialgleichungen unter anderem auch Boolesche Netzwerke (siehe Interview mit F. J. Theis und Artikel von C. Marr / F. J. Theis) oder Monte-Carlo-Simulation beinhalten.

So können Systembiologen beispielsweise mit Hilfe eines computergestützten Zellregulationsmodells Signalwege bestimmter Tumorzellen identifizieren, deren Hemmung einen möglichst großen therapeutischen Erfolg verspricht (siehe Kapitel 2.2). Als Signaltransduktionsweg bezeichnet man den dynamischen Prozess der Signalübertragung z. B. vom Zellmembranrezeptor über

Signalübertragungsproteine bis zur DNA im Zellkern. Gegen diese Proteine lassen sich spezifische Wirkstoffe entwickeln, die nach umfangreichen bestandenen Testreihen als Medikament eingesetzt werden können. Dadurch kann unter anderem auch die Zahl der anfallenden Tierexperimente reduziert werden.

Auch in der Pflanzenzüchtung bietet der systembiologische Ansatz vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Eine der wesentlichen Herausforderungen ist die Entdeckung derjenigen Gene bzw. deren Proteine (Marker), die die gewünschten Leistungsmerkmale der Pflanze beeinflussen. Um beispielsweise eine effektivere Züchtung einer Kartoffelsorte mit gewünschten Eigenschaften zu ermöglichen, untersuchten die Forscher mit Hilfe eines systembiologischen Ansatzes Stoffwechselprozesse und entdeckten entsprechende Proteine als Marker. Damit lassen sich geeignete Testverfahren entwickeln, um bereits bei jungen Pflanzen das Vorhandensein bestimmter Merkmale zu überprüfen (BMBF, 2008).

Ebenfalls durch mathematische Modelle wurden Zusammenhänge zwischen Stoffwechselprozessen und Regelmechanismen und deren Einfluss auf die Biomassenproduktion in Maispflanzen untersucht. Es wurden dabei entscheidende Signalwegsketten und regulatorische Netzwerke entdeckt, die Einfluss auf die Biomassenbildung haben. Die Erkenntnisse erlauben unter anderem Vorhersagen über Wachstumsprozesse ausgewählter Maissorten unter optimalen, aber auch unter suboptimalen Bedingungen. Diese umfangreiche Datensammlung bietet dem Züchter ein enormes Potenzial bei der Züchtung neuer Maissorten. Außerdem können die so entwickelten Strategien zukünftig auch für andere Pflanzenarten angepasst werden (Schlüter und Sonnwald, systembiologie.de 02, 2010).

Systembiologie im Biologieunterricht

Schüler und Nachwuchsforscher, die Interesse an Life Sciences haben, sollten wissen, dass dieses Fachgebiet in den letzten Jahren eine enorme Veränderung erfahren hat. Mit der rapiden Entwicklung neuer Methoden und der Erzeugung von Daten im Hochdurchsatz benötigen Biologen heutzutage eine andere Denkweise als noch vor fünfzig Jahren: Detaillierte Kenntnisse über individuelle Zellbestandteile sind natürlich wichtig. Aber ebenso wichtig ist ein quantitatives Verständnis dieser Bestandteile und ihre Einbettung in ein sich ständig veränderndes System von Interaktionen, ein oftmals vermeintliches Chaos, das dann letzten Endes aber doch in übersichtliche Modelle strukturiert werden kann.

Durch diese neue Denkweise in der modernen Biologie ist es notwendig geworden, Lehrer/innen, die Interesse an mathematischen, informatischen und statistischen Methoden haben, auszubilden, besteht doch aus fachdidaktischer Sicht der „unveränderte Wunsch, Mathematik als ein mögliches Hilfsmittel auf dem Weg zur Erkenntnisgewinnung stärker in den Biologieunterricht zu integrieren“ (Universität Rostock, 2014). Zum anderen werden die Life Sciences und medizinische Forschung auch immer mehr bei Mathematikern, Informatikern und Physikern (siehe Interview F. J. Theis) beliebt, die festgestellt haben, dass ihre Kenntnisse in der Forschung und Entwicklung äußerst gefragt sind und zu neuen durchschlagenden Erkenntnissen führen können. Allerdings benötigt auch diese zweite Gruppe ein grundlegendes Verständnis und Interesse an den jeweiligen biologischen Fragestellungen.

Referenzen:

- BMBF (2002). Systeme des Lebens – Systembiologie, Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), S. 9
- BMBF (2008). Neue Methoden in der Systembiologie – SysTec – eine Initiative des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF), S. 1
- BMBF (2009). Impulsgeber Lebenswissenschaften – Forschung für die Innovationen der Zukunft, Bundesministerium für Bildung und Forschung, S. 11
- BMBF/PTJ (2008). Systembiologie – Ergebnisse, Fortschritte und Innovationen aus der BMBF-Forschung, Berlin, Jülich 2008, S. 6-9; 26; 53
- Bertalanffy von, KL (1949). General System Theory, *Biologica Generalis*, 1/1949, S. 114-129
- Erfle, H. (2013). fanci: Funktionsanalyse nichtkodierender RNAs in lebenden Zellen. *systembiologie.de*, Ausgabe 06, 2013, S. 47-48
- GXP, Scholae 4 (2015). „Datenmengen mit Potential für die Naturwissenschaften“ und „Interview mit Prof. B. Usadel, FZ Jülich“, 2015, S. 20-23
- Hodgkin, A.L. and Huxley, A.F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. of Physiology*, 1952, S. 500-544
- Klingmüller, U. und Timmer, J. (2014). Systembiologie im Doppelpack. *systembiologie.de*, Ausgabe 08, Mai 2014, S. 45
- NGFN (2010). Wenn die Welt an einem Strang zieht: Das Humangenomprojekt (HGP). Nationales Genomforschungsnetz, (NGFN), 2010
- Noble, D. (1960). Cardial action and pacemaker potentials based on the Hodgkin-Huxley equations. *Nature* 188, 1960, S. 495-497
- Schlüter, U. und Sonniewald, U. (2010). Wie wächst Mais? *systembiologie.de*, Ausgabe 02, Dezember 2010, S. 54-57
- SCIENCE in SCHOOL (2013). Systembiologie im Klassenzimmer? Ausgabe 11, 2013, S. 2-3
- Timmer, J. (2010). „Modelliert dynamische Prozesse in der Zelle“, BIOPRO Baden Württemberg GmbH, 2010, S. 1-2
- Universität Rostock (2014). Mathematisieren im Biologieunterricht, Forschungsbericht aus der Fachdidaktik Biologie, 28.05.2014
- Wolkenhauer, O. und Klingmüller, U. (2004). Systems Biology: From a Buzzword to a Life Sciences Approach, *BIOforum Europa* 04/2004, S. 22-23
- ZSB Stuttgart (2006). Zielvereinbarung eröffnet neue Perspektiven, Universität Stuttgart – Pressemitteilung Nr. 92/2005 und der Pressestelle v. 04. 06. 2006

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Lesen Sie den Einführungsartikel zur Systembiologie.
2. Warum ist die Systembiologie eine „Lebenswissenschaft mit dem Blick auf das Ganze“? Sammeln Sie dazu einige Stichpunkte/Argumente.
3. Erstellen Sie eine Mind-Map, in deren Mittelpunkt die „Systembiologie“ steht. Als wesentliche Unterpunkte könnten Ziele, Methoden und integrierte Teilbereiche dienen.
4. **Vorschlag für ein Referat:**
Erklären Sie die Abbildung: „Vom Schema des Signalwegs zu mathematischen Gleichungen“ (im Lehrerheft) und stellen Sie dar, wozu dieses Wissen eingesetzt werden kann.

2. Beispiele aus der systembiologischen Forschung

2.1 Stammzellen – Regulation der Zelldifferenzierung von Stammzellen zu Körperzellen

Die meisten Zellen des menschlichen Körpers müssen sich ständig erneuern, um ihre Funktion verlässlich ausüben zu können. Dabei entstehen im Rahmen der Zellteilung in der Regel aus einer Mutterzelle zwei identische Tochterzellen, die die gleiche Funktion ausüben (symmetrische Zellteilung). So bringen zum Beispiel Hautzellen nur Hautzellen hervor und aus Darmzellen entstehen nur Darmzellen.

Im Gegensatz dazu sind **Stammzellen** eine Art „Ursprungszellen“, aus denen heraus sich viele verschiedene Zelltypen entwickeln können (siehe Abb. 1). Die Zellteilung kann dabei auch asymmetrisch sein, d. h. Mutter- und Tochterzelle sind nicht unbedingt identisch. Stammzellen besitzen außerdem die Fähigkeit zu langfristiger Selbsterneuerung sowie Zellvermehrung und sorgen somit für „Nachschub“ im sich dauerhaft verändernden und regenerierenden Organismus.

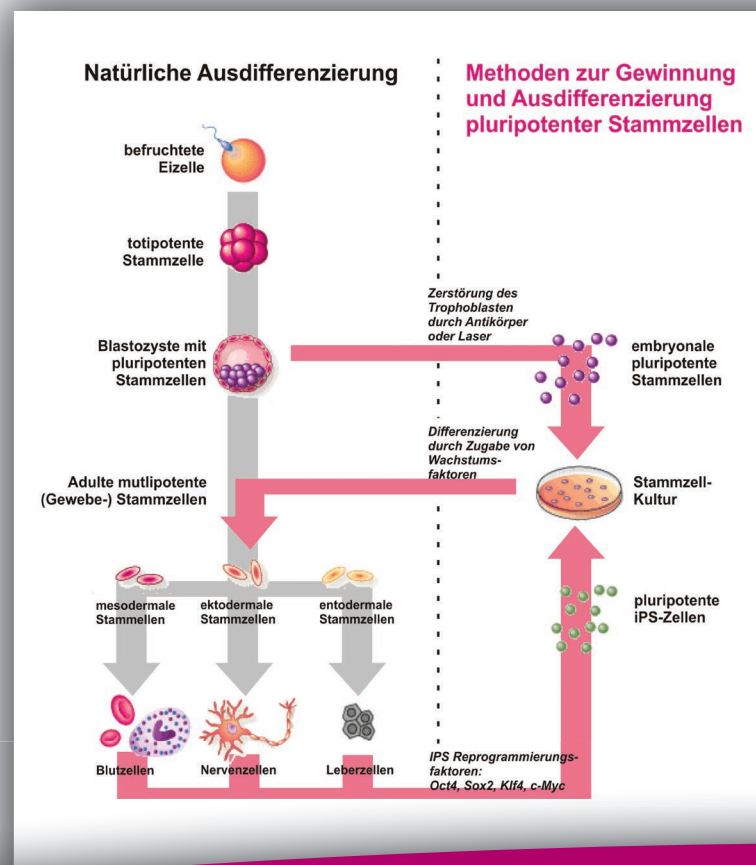
Je nach Herkunft und Entwicklungsstadium haben Stammzellen ein unterschiedliches Differenzierungspotential. Embryonale Stammzellen sind bis zum 8-Zell-Stadium **totipotent**, das heißt, dass sie sich in jeden Zelltyp des Körpers ausdifferenzieren können. Danach verlieren sie ihre Totipotenz und werden **pluripotent**; sie können sich zwar immer noch zu Zellen aller drei Keimblätter (Mesoderm, Ektoderm, Endoderm) ausbilden, jedoch nicht mehr in extraembryonales Gewebe. Schreitet die Entwicklung des Organismus weiter voran, überwiegen gewebespezifische Stammzellen,

die einem der drei Keimblätter angehören und sich nur noch innerhalb dieser Keimblätter ausdifferenzieren können – sie sind somit nur noch **multipotent**. So können beispielsweise aus neuronalen Stammzellen zwar sowohl Neurone als auch Gliazellen entstehen, jedoch keine Knochen- oder Hautzellen mehr (Abb. 1).

Stammzellen gelten als eines der vielversprechendsten Forschungsgebiete der modernen Lebenswissenschaften. Wissenschaftler hoffen, mit ihnen unheilbare oder schwer beeinflussbare Krankheiten therapieren zu können, Gewebe oder gar neue

Abbildung 1: Die Differenzierung von Stammzellen und die Gewinnung pluripotenter Stammzellen

iPS induzierte pluripotente Stammzelle; Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc sind Gene, mit deren Einsatz die Reprogrammierung einer Körperzelle zur pluripotenten Stammzelle (iPS) gelang (Quelle: Wikipedia, geändert B. Kachel, DKFZ).



Organe zu züchten, und natürlich grundlegende Erkenntnisse über die Entwicklung und Funktionsweise des menschlichen Organismus zu gewinnen. Auch die Heilung/Therapie von Krebs steht im Vordergrund der Stammzellforschung, da Krebszellen oftmals Stammzeleigenschaften besitzen (siehe 2.2 Krebs).

Dem gegenüber stehen ethisch-moralische Bedenken zur Stammzellforschung, die vor allem durch die Geburt des Klonchafs Dolly im Jahre 1996 auch in der öffentlichen Meinung zu einer sehr kritischen Einstellung gegenüber dieses gesamten Forschungszweiges geführt haben (Vollhard, 2013 und DRZE, Gesetze zur Stammzellforschung). Viele Laien gehen davon aus, dass die Stammzellforschung gleichbedeutend mit Experimenten an menschlichen Embryonen ist. Diese Annahme ist aber grundlegend falsch, sind doch die molekularen Mechanismen, die im Zusammenhang mit der Stammzellentwicklung stehen, über die Jahrtausende konserviert. Somit können auch Organismen wie der Zebrafisch, dessen evolutionärer Ast vor ca. 400 Mio. Jahren von dem der späteren Säugetiere teilte, als Modellorganismen herangezogen und untersucht werden. Viele Erkenntnisse aus dieser Spezies lassen sich ganz oder teilweise auf den Menschen übertragen.

Doch welche Erkenntnisse gewinnt man eigentlich durch die Erforschung an solchen Modellorganismen? Wie tragen sie zu unserem Verständnis von Stammzellen bei? Und wie können wir diese Erkenntnisse nutzen? Die Systembiologie gibt Antworten.

Mit der Modellierung der molekularen Netzwerke, die an der Steuerung der Stammzeleigenschaften beteiligt sind, wollen die Wissenschaftler herausfinden, weshalb sich Stammzellen überhaupt differenzieren, bzw., welche Faktoren für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz wichtig sind. Der Zebrafisch dient dabei häufig als Modellsystem, da sich aus seinen frühen, embryonalen Entwicklungsstadien ohne großen Aufwand viele pluripotente Zellen gewinnen lassen. Aufgrund der synchronen Entwicklung von mehreren hundert Zebrafischembryonen können die Forscher für die Modellierung präzise, verlässliche und zeitaufgelöste Daten erhalten (Driever u. Onichtchouk, 2010).

So können Zebrafischembryo-Zellen beispielsweise über einen Zeitraum vom frühen Embryonalstadium bis hin zur beginnenden Differenzierung untersucht werden (Abb. 2). Innerhalb weniger Stunden finden mehrere Zellteilungen statt, die mit der Ausdifferenzierung der einzelnen Zellen einhergehen. Das Differenzierungspotential sinkt mit steigender Anzahl an Zellen, wie bereits schematisch in Abb. 1 dargestellt.

Werden die Zellen auf einer genetischen Ebene untersucht, stellt man fest, dass das Gen Oct4 eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Pluripotenz spielt.

Eines der Zielgene des Proteins OCT4 im Zebraembryo ist der Genregulator Sox2, der mit Oct4 zusammen die Entwicklung des Embryos beeinflusst (Abb. 3). Die Forscher erkannten weiterhin,

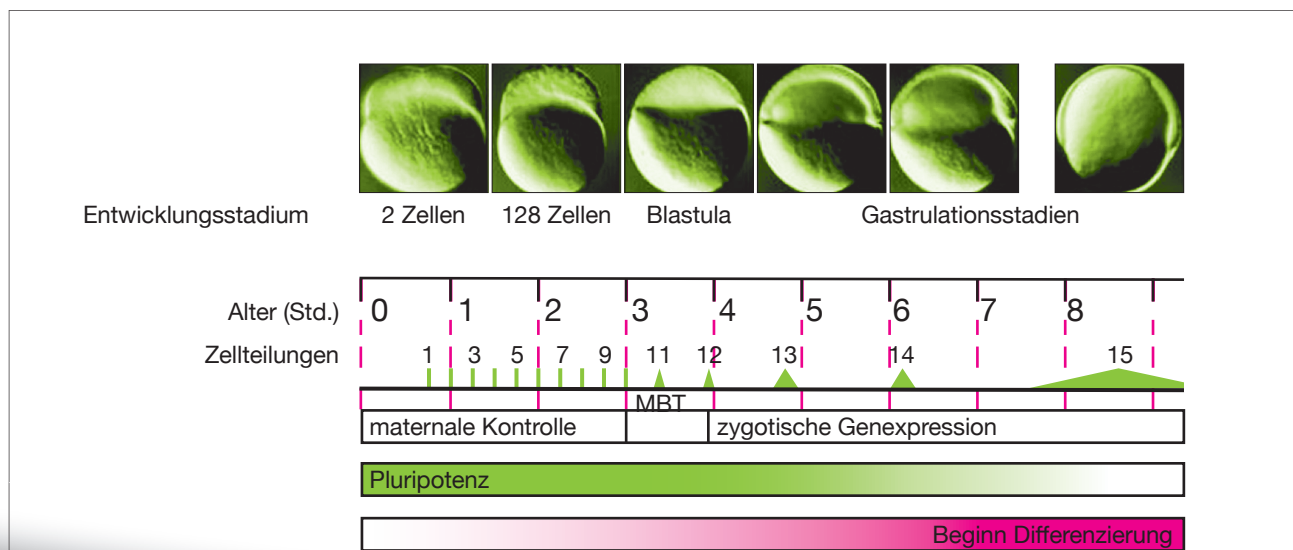
Abbildung 2: Entwicklung eines Zebrafischembryos bis zum Gastrulastadium

maternale Kontrolle: Embryonale Entwicklung bis 9. Zellteilung unter Kontrolle maternaler Faktoren (u. a. Mitochondrien-DNA),

MBT: Mid Blastula Transition = Mittlerer Blastula-Übergang zur zygotischen Genexpression,

zygotische Genexpression: Mit dem Blastulastadium (MBT) Übergang zur Expression zygotischer Gene (paternaler und maternaler Ursprung)

(Quelle: W. Driever, Inst. Biologie I, Univ. Freiberg, systembiologie.de, 01 Juni 2010, S. 66)



A Zebrafischembryo

B Mausembryo

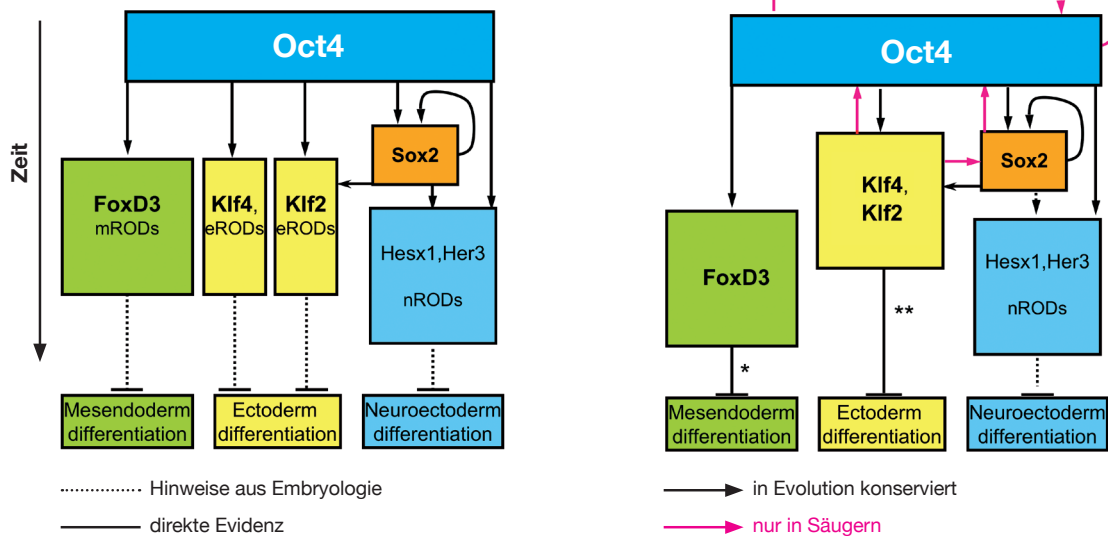


Abbildung 3: Modelle zur Organisation des früheren Stammzellennetzwerkes im Zebrafisch- (A) und Mausembryo (B)
(Quelle: Driever, W. u. D. Onichtchouk; systembiologie.de 01, 2010, S.69).

dass Oct4 direkt und zum Teil auch gemeinsam mit anderen Sox-Genen eine Gruppe von Repressoren (RODs) u. a. FoxD3, Klf4 und Her3 aktiviert, die die Expression von Differenzierungsgenen unterdrückt und damit die Pluripotenz aufrecht erhält.

Die funktionale Übereinstimmung des OCT4-Proteins im frühen embryonalen Regulationsnetzwerk der Zebrafischembryonen mit dem OCT4-Protein von Säugerembryonen (Maus) konnte im Experiment nachgewiesen werden. Damit wurde aufgezeigt, dass trotz des evolutionären Abstandes von über 400 Millionen Jahren von gemeinsamen Vorfahren der Knochenfische und Säuger große Teile des Oct4-Zielgenennetzwerkes evolutionär konserviert sind. Auch die „Pluripotenzgene“ FoxD3, Klf4, Klf2, Hesx1 und Hes3 im Mausembryo sind genetisch relativ identisch und somit über die Jahrmillionen in beiden Spezies erhalten geblieben. Aus diesen Gründen ist anzunehmen, dass die Forschungsergebnisse auch in bestimmtem Maße auf den Menschen übertragbar sind.

Doch was lernen wir letztlich aus solchen Forschungsergebnissen? Wie können wir das detaillierte Wissen über die Regelnetzwerke der Stammelldifferenzierung zum Nutzen der Forschung und Medizin einsetzen?

Wie aus den bisherigen Forschungsergebnissen zu pluripotenten Stammzellen hervorgeht, haben diese das Potential zur Bildung verschiedener Gewebe. Mit dem detaillierten Wissen über die Regulationsmechanismen der Stammelldifferenzierung gelang es 2006 einer japanischen Forschergruppe (Takahashi und Yamanaka, 2006) auch erstmalig, eine **Reprogrammierung** vorzunehmen, das heißt, bereits ausdifferenzierte adulte

Körperzellen in pluripotente Stammzellen umzuwandeln. Der Prozess ist dabei vergleichsweise einfach: Körperzellen werden mit einem „Pluripotenz-Cocktail“, bestehend aus den Faktoren Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc, inkubiert (siehe Abb. 1). Diese Pluripotenzfaktoren werden entweder per Gentransfer in das Genom der Körperzellen eingebaut oder als mRNA oder Proteine in die Zellen eingeschleust. Infolgedessen findet eine Re-Programmierung der Körperzelle statt – eine sogenannte induzierte pluripotente Stammzelle (iPS) entsteht, die dann mit weiteren Wachstumsfaktoren wieder in unterschiedliche Gewebezellen ausdifferenziert werden kann (siehe Originalartikel: Mrowka R. et al. (2012). „Wie aus Hautzellen Leberzellen werden“).

Dies bedeutete einen enormen Durchbruch für die Stammzellforschung, die bis zu diesem Zeitpunkt Embryonen im Blastozystenstadium verwenden musste, um nach Zerstörung des Trophoblasten pluripotente Stammzellen für die medizinische Forschung zu gewinnen (Vollhard, 2015).

Neben den relativ gut erforschten Genen der Transkriptionsfaktoren (Oct4, Sox2, Klf4, Klf2, c-Myc und viele andere), die mit der Stammelldifferenzierung und Reprogrammierung im Zusammenhang stehen, spielen jedoch auch die Mechanismen der Epigenetik eine wichtige Rolle (siehe Kapitel 2.3). Neue Forschungsergebnisse zeigten auf, dass es zu chemischen Veränderungen der Stammzell-DNA und der Histone bei ihrer Selbsterneuerung bzw. ihrer Differenzierung in verschiedene Körperzellen kommen kann. Dabei gelangten die Wissenschaftler zu der Erkenntnis, „dass die DNA-Methylierung eine entscheidende

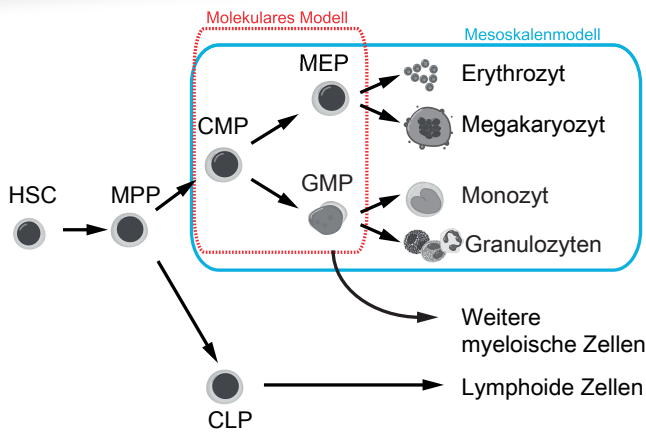


Abbildung 4: Entscheidungsmodell der Blutstammzell-Differenzierung über Vorläuferstadien bis zu den reifen Zellen des Blutsystems
HSC Hämatopoetische Stammzelle, **MPP** multipotente Vorläuferzelle, **CLP** lymphoide Vorläuferzelle, **CMP** myeloische Vorläuferzelle, **MEP** megakaryocytische und erythroide Vorläuferzelle, **GMP** granulocytische macrophagische Vorläuferzelle. Weitere Erläuterungen siehe Abb. 1, S. 37 (Quelle: Carsten Marr & Fabian Theis verändert nach A.Rad/Wikimedia unter Lizenz CCBY-SA 3.0, systembiologie.de Ausgabe 05 Juli 2012, S. 81).

de Rolle bei der Unterdrückung von Differenzierungsprogrammen in Stammzellen spielt und eine wichtige Voraussetzung zum Erhalt der Selbst-Erneuerung und Multipotenz darstellt“ (Andrade-Navarro *et al.*, 2010).

Ein weiteres Beispiel aus der Forschung des Helmholtz Zentrums München zu Zelldifferenzierungsprozessen der Blutstammzellen zeigt unterschiedliche Einblicke in die molekularen Prozesse der myeloischen Differenzierungsentscheidung (siehe Originalartikel von Marr und Theis (2012) „Wie Blut entsteht“). Täglich werden in einem gesunden Erwachsenen im roten Knochenmark fast eine Billion Blutzellen produziert und alte Zellen durch neue ersetzt, wobei das Zahlenverhältnis der reifen Blutzelltypen gewahrt bleibt. Gleichzeitig ist das System flexibel, um auf Veränderungen z.B. bei Infektionen, Blutverlust oder körperlichen Anstrengungen zu reagieren.

Wie entsteht das stabile Gleichgewicht? Einen Erklärungsansatz bietet das hierarchische Entscheidungsmodell der Blutstammzell-Differenzierung (Abb. 4).

Schrittweise spezifiziert sich eine hämatopoetische Stammzelle (HSC) über mehrere Differenzierungsschritte und Vorläufer-Stadien bis hin zu den reifen Zellen des Blutsystems. „Ist jedoch das Gleichgewicht der Entscheidungen durch veränderte Eigenschaften der Blutstammzellen gestört, sind Erkrankungen des Blutsystems, wie z. B. Leukämie die Folge“ (siehe 2.2). Wie die Forscher in ihrem Forschungsbericht abschließend hervorheben, wollen sie ihr Entscheidungsmodell „um weitere myeloische Zellen und den lymphoiden Ast der Hämatopoese erweitern, um krankhafte Veränderungen des Gesamtsystems umfassend zu beschreiben“ (siehe Originalbeitrag „Wie Blut entsteht“, Marr und Theis (2012) und Interview mit Prof. F.J. Theis).

Referenzen:

- Andrade-Navarro *et al.* (2010). Die Entwicklungsurh zurückdrehen. systembiologie.de, Ausgabe 02, S. 15-19
- Driever, W. und Onichtchouk D. (2010). Wie die Entwicklung von Stammzellen gesteuert wird. systembiologie.de, Ausgabe 01, S. 66-70
- DRZE (Deutsches Referenzzentrum für Ethik in den Biowissenschaften), 2013. Dossier Stammzellforschung, Gesetze und Regelungen (www.drze.de)
- Marr, C. und Theis F.J. (2012). Wie Blut entsteht - Modellierung von Differenzierungsdynamiken der Blutbildung. systembiologie.de, Ausgabe 05, S. 81-85
- Mrowka R. *et al.* (2012). Wie aus Hautzellen Leberzellen werden. systembiologie.de, Ausgabe 04, S. 44-48
- Schöler *et al.* (2009). Stammzellen ohne Gentransfer hergestellt. Pressemitteilung der MPG von 2009
- Takahashi K. und Yamanaka S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell, Bd. 126, Nr. 4, August 2006, S. 663-676
- Vollhard T. DRZE (2015). Forschungsklonen bzw. therapeutisches Klonen, Medizin.-Naturwissensch. Aspekte, S.1

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Wiederholen Sie die Vorgänge, die bei der Zellteilung (Mitose) ablaufen.
2. Beschreiben Sie stichwortartig die Entstehung von Körperzellen aus einer befruchteten Eizelle.
- 3.1 Erklären Sie den Begriff: Transkriptionsfaktor.
- 3.2 Stellen Sie dar, welche Arten der Stammzellgewinnung es gibt.
4. Entwickeln Sie eine Hypothese dazu, warum die Induzierung von Pluripotenz mit Hilfe von Proteinen vorteilhaft gegenüber einer Induzierung durch Gentransfer ist.
5. **Ethische Aspekte:**
 - 5.1 Darf in Deutschland mit Stammzellen experimentiert werden?
 - 5.2 Recherchieren Sie, wie die aktuelle Gesetzeslage zu Experimenten mit Stammzellen ist. Vergleichen Sie die Situation mit anderen europäischen Ländern.
 - 5.3 Diskutieren Sie mit Ihren Mitschülern das Ergebnis Ihres Vergleiches.

2.2 Krebs – aus systembiologischer Sicht

Krebs ist nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache in Deutschland (Abb. 1). Unter dem Sammelbegriff Krebs werden in der Medizin viele verschiedene Krankheitsbilder zusammengefasst, bei denen es sich um maligne Tumoren handelt. Ein Tumor (*lat.* Tumor = Wucherung, Geschwulst) ist eine Neubildung von Körpergewebe, das durch Fehlregulation des Zellwachstums entsteht. Diese Neubildungen der verschiedensten Gewebearten können gutartig (benigne) oder bösartig (maligne) sein. Nur die bösartigen Neubildungen werden als Krebs bezeichnet und nach den Geweben benannt, denen sie ursprünglich entstammen, wie z. B. Brustkrebs oder Lungenkrebs.

Krebs ist eine Erkrankung, die nicht spontan auftritt, sondern das Resultat von schleichenden genetischen Veränderungen ist, die über Jahre hinweg akkumulieren.

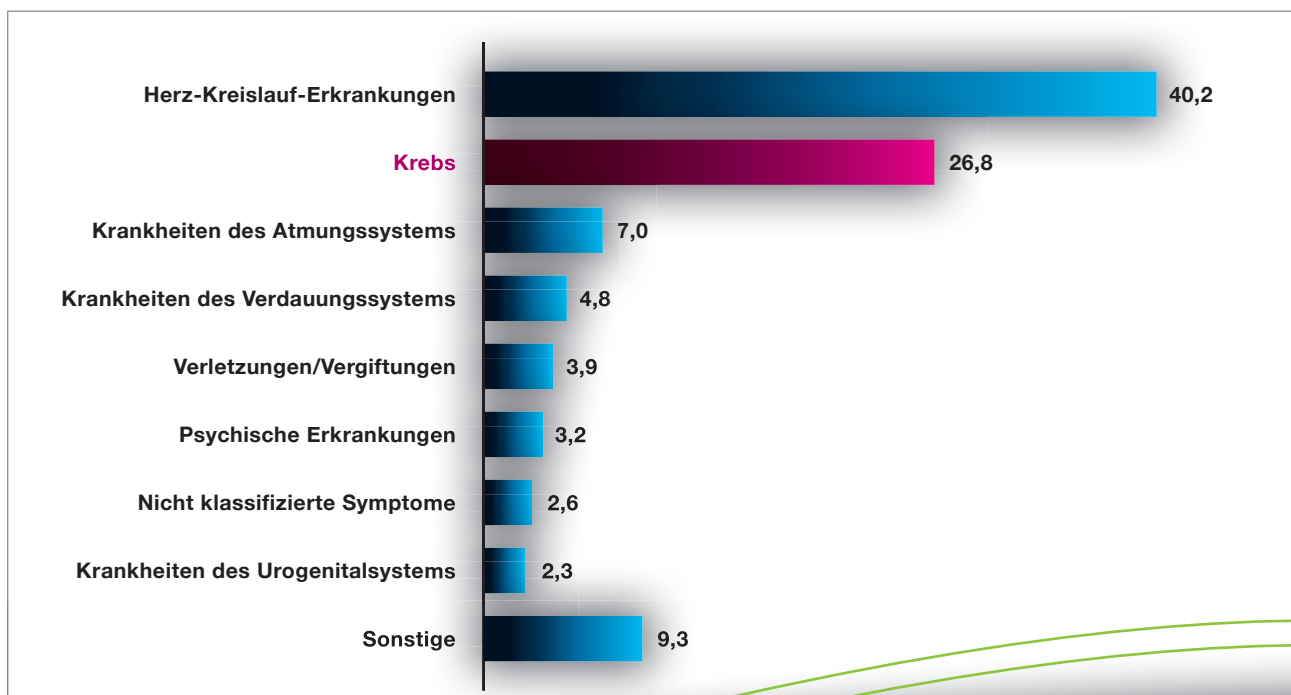
Doch was sind eigentlich die Ursachen, die zu einer Veränderung des Genoms und damit zu einer Krebserkrankung führen können?

Auslöser für die Entstehung von Krebs können u. a. Strahlung, Chemikalien, Viren und Bakterien sein (siehe Abb. 2), diese können zu verschiedenen genetischen und epigenetischen Veränderungen im Erbgut führen. Es häufen sich z. B. fehlerhafte DNA-Replikationen, DNA-Strangbrüche, Genmutationen, insbesondere Punkt- und Rastermutationen sowie epigenetische Veränderungen in den Zellteilung regulierenden Abschnitten der DNA an.

Solche Events sind häufig, allerdings werden plötzlich auftretende gravierende Veränderungen meist direkt vom Organismus „ausgemerzt“, der dafür spezielle Reparatur- und Kontrollmechanismen besitzt. Wenn eine Reparatur nicht möglich ist, werden die betroffenen Zellen im Normalfall durch Aktivierung der Apoptose-Mechanismen entfernt. Mit geringer Wahrscheinlichkeit bedeuten die Mutationen jedoch auch einen selektiven Vorteil für die veränderten Zellen, die sich daraufhin übermäßig im Organismus vermehren – ein Tumor entsteht.

Abbildung 1: Krankheitsbedingte Todesursachen in Deutschland 2011 (in Prozent)

(Quelle: Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2013)



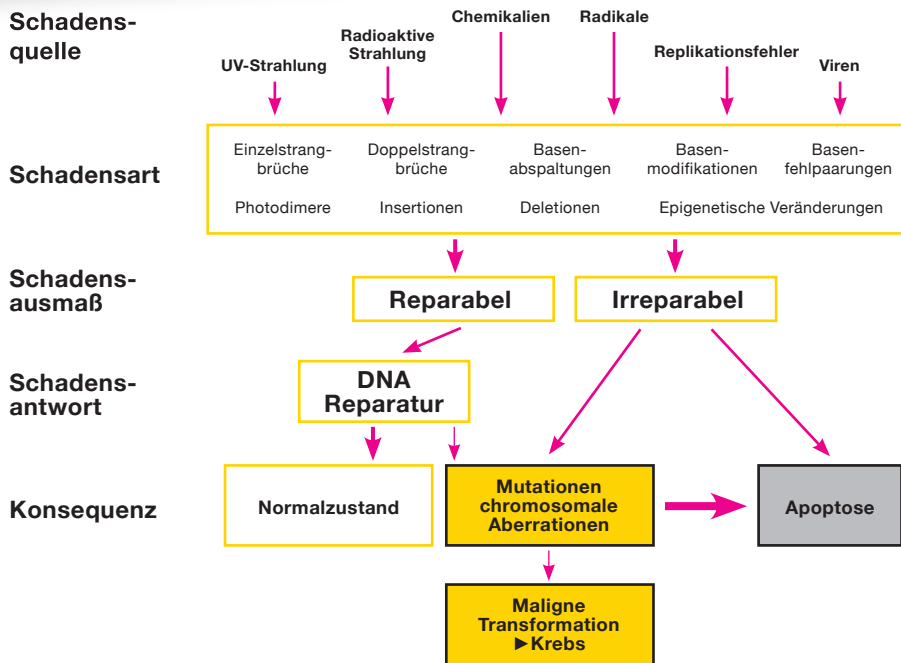


Abbildung 2: Von der Schadensquelle zum Krebs (Quelle: BMU-Broschüre 2007-707, verändert).

Analysiert man die genetischen Veränderungen bei Krebspatienten, dann stellt man fest, dass die betroffenen Gene oftmals die gleichen sind bzw. Genklassen angehören, die ähnliche Aufgaben in der Zelle übernehmen. Dabei wirkt sich hauptsächlich die Deregulation von drei Genklassen beschleunigend auf die Krebsentstehung aus:

Tumorsuppressorgene schützen die Zelle vor unkontrolliertem Wachstum, indem sie z. B. das Fortschreiten des Zellzyklus an bestimmten „Kontrollpunkten“ unterbinden. Der Zellzyklus stoppt üblicherweise an solchen Kontrollpunkten, beispielsweise wenn die DNA nicht korrekt repliziert oder repariert wurde. Somit wird die Vermehrung einer Zelle mit fehlerhaftem Genom verhindert. Werden Tumorsuppressorgene inaktiviert, ermöglicht dies die unkontrollierte Teilung solcher „entarteter“ Zellen.

Eine ähnliche Rolle spielen **DNA-Reparaturgene**, deren Funktionsverlust sich ebenfalls besonders nachteilig auf die Kontrolle des Zellzyklus oder des „programmierten Zelltods“ (z. B. Apoptose) auswirkt. Im Gegensatz dazu resultiert die Expression von **Onkogenen** in einer Stimulation des Zellwachstums. Zu dieser Klasse an Genen gehören beispielsweise solche, die direkt am Zellzyklus beteiligt sind. Diese Onkogene bewirken z. B. eine Aktivierung von Cyclin-Komplexen, die ein Fortschreiten des Zellzyklus an bestimmten Kontrollpunkten bewirken. Sind On-

kogene aktiviert, können sich Krebszellen unkontrolliert und zeitlich verändert teilen, ohne dass von Seiten des Gewebes oder Organs eine Notwendigkeit besteht.

Oftmals ist Krebs nicht das Resultat eines einzelnen Gens, sondern bedingt durch das Zusammenwirken von mehreren Onkogenen und dem gleichzeitigen Funktionsverlust von Tumorsuppressorgenen. Dabei können die Ursachen von Krebs von Mensch zu Mensch und von Gewebe zu Gewebe variieren. Im Gegensatz dazu gibt es Krebsarten, die bei verschiedenen Patienten mit hoher Wahrscheinlichkeit die gleichen Ursachen haben.

Zellwachstum und -differenzierung werden in der gesunden Zelle auch über Zell-Zellkontakte durch Membranrezeptoren reguliert. In einem Tumor ist die Zellvermehrung nicht gebremst. Außerdem produzieren die Tumorzellen zur Nährstoffversorgung des wuchernden Gewebes Wachstumsfaktoren, die die Heranführung von Blutgefäßen veranlassen. Daraus resultiert ein veränderter Stoffwechsel mit verstärkter Aufnahme von Glukose. Diese Veränderung kann zum Nachweis von Tumorzellen im Patienten verwendet werden.

Zusätzlich zur Strategie des vermehrten Wachstums können sich Tumorzellen durch Downregulierung von Apoptosefaktoren dem programmierten Zelltod entziehen. Außerdem kann durch vermehrte Telomerasebildung der Erhalt der Telomere gesichert werden, um dadurch „unsterblich“ zu werden. Telomere sind die Enden der Chromosomen, bestehend aus repetitiver DNA und assoziierten Proteinen und wichtig für deren Stabilität.

Krebsstammzellen

Ein Patient scheint von seiner Krebserkrankung geheilt, doch dann kehrt der gleiche Tumor nach Jahren oder sogar erst nach Jahrzehnten zurück.

Woher kommt das, wo doch der Tumor schon als vernichtet galt?

Wissenschaftler vom Deutschen Krebsforschungszentrum und Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen Heidelberg wiesen im Blut von Brustkrebspatientinnen erstmals Metastasen-auslösende Krebszellen nach, die drei Merkmale von **Krebsstammzellen** aufweisen: Die Oberflächenproteine CD44, CD47 und MET (Bacelli *et al.*, 2013). Solche Krebsstammzellen, die zunächst bei Leukämien, inzwischen aber auch bei anderen Tumorarten wie z. B. Darm-, Haut- und Lungenkrebs nachgewiesen wurden, überdauern, ähnlich wie normale Stammzellen, in einer speziellen Mikroumgebung, genannt Stammzellnische (wie z. B. im Knochenmark). Diese Krebsstammzellen liegen meist im Ruhezustand vor und teilen sich äußerst selten. Daher sind sie gegen Chemotherapien sehr widerstandsfähig, während die sich teilenden Zellen des Tumors zerstört werden (Abb. 3).

Experimentell wurde im Tierversuch nachgewiesen, dass die aus Krebspatienten isolierten und markierten Metastasen-induzierenden Krebsstammzellen nach Transplantation im Knochenmark von Mäusen erneut Metastasen produzierten. Metastasen, (von gr. metastasis, Wanderung) sind aus einem malignen Tumor abgelöste Krebszellen, die sich über den Ausbreitungsweg Blut oder Lymphe wieder in anderen Körpergeweben bzw. Organen ansiedeln und durch Vermehrung einen neuen Tumor bilden.

2013/2014 konnte auch anhand des Oberflächenmarkers CD133 ein bestimmter Krebsstammzelltyp isoliert und durch genetisch veränderte Masernviren im Tierversuch erfolgreich bekämpft werden (Buchholz, C *et al.*, 2013/2014). Außerdem wurden hohe Aktivitäten des Transkriptions- und Pluripotenzfaktors Oct4 (s. Kapitel 2.1) in verschiedenen Krebsstammzellen beobachtet, so dass Mechanismen der Selbsterneuerung, wie sie von pluripotenten Stammzellen bekannt sind, auch für Krebsstammzellen angenommen werden.

Die Krebsforscher ziehen neue Schlüsse aus den Modell-Tierversuchen und entwickeln wirkungsvollere Therapien, um das Überlebensprogramm der Tumorstammzellen für immer auszu-

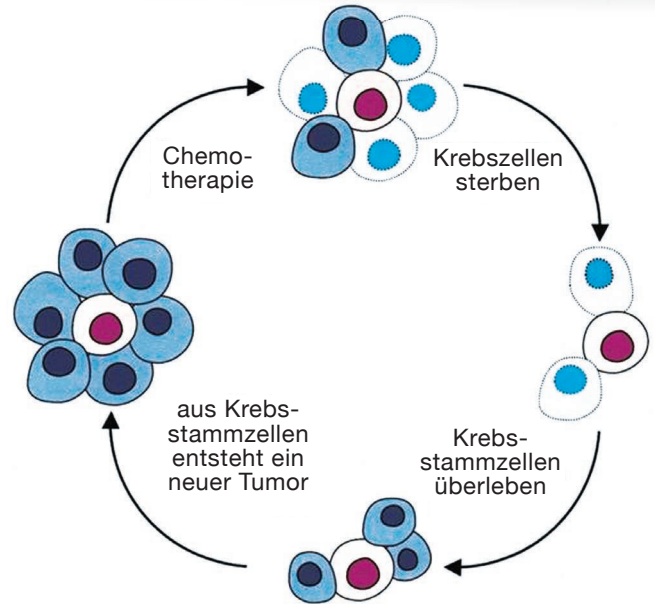


Abbildung 3: Überleben eines Tumors durch Fortbestand von Krebsstammzellen trotz Chemotherapie (Quelle: Wikipedia „Krebsstammzelle“, Jas, Juli 2006, Lizenz: Creative Commons-by-sa-2.0/de).

schalten. Das ist nicht so einfach, denn, wie schon beschrieben, finden die Tumorstammzellen durch einen zeitweilig extremen Ruhezustand bzw. den Rückzug in Körperräumen Schutz vor zirkulierenden Medikamenten und Strahlentherapie, so dass sie nur schwer zu vernichten sind.

Noch ist nicht eindeutig geklärt, ob Tumorstammzellen aus gesunden Gewebestammzellen entstehen oder aus bereits differenzierten Zellen, in denen Genomschädigungen eintreten.

Mit System gegen den Krebs – Systembiologie in der modernen Krebsforschung in Deutschland

Auf der Grundlage der 2010 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gestarteten Förderinitiative „Systembiologie in der Krebsforschung – CancerSys“ werden interdisziplinäre Forschungsverbünde unterstützt, die thematisch fokussiert systembiologische Fragestellungen in der Krebsforschung bearbeiten. Dabei geht es u. a. um die Kombination experimenteller Messverfahren mit mathematischen Modellen zur Aufklärung der komplexen molekularen Vorgänge bei der Krebsentstehung, der Entdeckung von weiteren Biomarkern zur Früherkennung und Diagnostik sowie der Entwicklung neuer Medikamente. Nachfolgend werden einige Forschungsprojekte vorgestellt. Dadurch wird verdeutlicht, mit welchen Fragestellungen und Methoden sich systembiologisch arbeitende Forschungsgruppen an das hochkomplexe Thema „Krebs“ heranwagen, welche Ergebnisse sie daraus ziehen – und weshalb das für uns wichtig sein kann.

2.2.1 Brustkrebs – personalisierte Therapieansätze

Brustkrebs ist die häufigste Krebserkrankung und Todesursache bei Frauen. Weltweit treten jährlich 1,68 Millionen Neuerkrankungen auf und 522.000 Todesfälle sind zu verzeichnen (IARC Welt-Krebsbericht 2014). Für Deutschland werden die Neuerkrankungen im Jahr 2014 auf 75.200 bei Frauen und 600 bei Männern geschätzt (Robert-Koch-Institut 2013).

Forschungsteams aus den Universitäten Göttingen, Freiburg, Penzberg und dem DKFZ Heidelberg arbeiten an der Aufklärung von Mechanismen der Medikamenten-Resistenz bei Brustkrebs (Korf *et al.*, 2013).

Neue Forschungsergebnisse zeigen, dass diese Unwirksamkeit besteht, weil es verschiedene Brustkrebs-Subtypen gibt, die unterschiedliche molekulare Ursachen haben. Ein Medikament, das gegen einen Subtyp funktioniert, kann eventuell gegen einen anderen nur schlecht wirksam oder sogar ganz unwirksam sein. Ziel der modernen Medizin ist es nun, diese Subtypen individuell festzustellen und zielgerichtet mit den jeweiligen Subtyp-spezifischen Medikamenten zu bekämpfen. Wirkt diese „personalisierte“ Therapie wie erhofft, kann beispielsweise auch der Einsatz von Chemotherapeutika reduziert und somit Nebenwirkungen bei Patientinnen verringert werden. Voraussetzung dafür ist allerdings die genaue Kenntnis über die Besonderheit der jeweiligen Subtypen: Der luminal Subtyp besitzt im Zellkern Rezeptoren für die Hormone Östrogen und Progesteron, der HER2-Subtyp hat den Wachstumsfaktor ERBB2-Rezeptor (auch als **HER2 Human Epidermal Growth Factor Rezeptor2** bezeichnet) auf der Zelloberfläche und der „basal-like“-Subtyp hat keine der beiden aufgeführten Rezeptoren, weshalb dieser Subtyp auch „triple negativ“ genannt wird.

In den Tumorzellen der ersten beiden Subtypen sind die Rezeptoren besonders zahlreich ausgebildet. Sie reagieren auf Signalmoleküle wie z.B. die Hormone Östrogen und Progesteron oder auf den epidermalen Wachstumsfaktor EGF (Epidermal Growth Factor). Damit werden anschließend in der Zelle die Signalwege aktiviert, die über Transkriptionsfaktoren entsprechende Gene, z.B. für Zellwachstum und Zellteilung, „anschalten“.

Aufgrund des unterschiedlichen molekularen Profils der Subtypen sind bestimmte Subtyp-spezifische Therapieansätze erforderlich.

Die Wissenschaftler interessieren sich besonders für den sogenannten HER2+-Subtyp, der bei 10-20% der Brustkrebs-Patientinnen vorkommt. Er zeichnet sich durch eine Überexpression des ERBB2-Rezeptors (entspricht dem HER2-Rezeptor) und einen relativ aggressiven Verlauf aus. Das Ziel ist es nun, genau diesen Oberflächenrezeptor und die zugehörigen Signalwege mit verschiedenen Medikamenten zu blockieren und dann zu messen, wie sich dies auf die Aktivierung der Rezeptoren auswirkt. Dadurch kann man letzten Endes Erkenntnisse über die Wirksamkeit der Medikamente gewinnen, Dosis und Dauer der Anwendung abschätzen und vieles mehr.

Die Wissenschaftler führen dazu eine zeitaufgelöste und quantitative Messung der Rezeptoraktivierungszustände in drei ausgewählten Brustkrebs-Zelllinien durch. Anhand der Rezeptoraktivierung kann man nämlich Rückschlüsse auf den Signalfluss in den molekularen Signal-Netzwerken der Brustkrebszellen ziehen und dadurch auch den Effekt verschiedener Medikamente testen.

Ganz konkret funktioniert das Experiment wie folgt: Die Forscher schalten die Membranrezeptoren mit verschiedenen Liganden (EGF, HRG) an, so wie es auch im lebenden Organismus der Fall wäre. Danach werden Wirkstoffe verabreicht (z.B. Trastuzumab, Pertuzumab, Erlotinib), die mit diesen Liganden konkurrieren, den Rezeptor allerdings deaktivieren (Abb. 4). Der Grad der Aktivierung/Deaktivierung wird quantitativ gemessen und die ermittelten Daten mit Hilfe der dynamischen Modelle und Booleschen Netzwerke (s. Kapitel 1.1 und Interview Theis) analysiert. Aus den Messverläufen eines iterativen systembiologischen Prozesses (s. Kapitel 1.1, Abb. 1) gelang es den Wissenschaftlern, ein detailliertes Modell der Wirkungsweise von Trastuzumab und Erlotinib zu erstellen.

Die Versuchsergebnisse ergaben, dass die therapeutischen Antikörper Trastuzumab und Pertuzumab eindeutig die Aktivität des Rezeptors ERBB2 verringern. Dadurch wird der durch ERBB2 eingeleitete AKT-Signalweg blockiert. Allerdings werden andere

für die Krebszelle lebensnotwendige Prozesse (Proliferation und Migration) über andere Signalwege reguliert (Erk1/2 und Stat3-Signalweg), die nicht von den beiden Antikörpern blockiert werden können. Zusätzlich hat man festgestellt, dass die Zellen bei einer Blockierung von ERBB2 plötzlich einen anderen Rezeptor (EGFR, epidermal growth factor receptor) stärker ausbilden, der ebenfalls für diese Prozesse notwendig ist. Die Krebszelle passt sich somit an die Therapie an und überlebt dadurch. Nur durch Gabe des dritten Wirkstoffs (Erlotinib) kann dies verhindert werden (Abb. 4). Für die Behandlung von HER2+-Brustpatientinnen, deren Tumoren eine erhöhte EGFR-Expression aufweisen, wird daher empfohlen, nicht nur ERBB2 zu hemmen, sondern auch Wirkstoffe gegen EGFR zu verabreichen (Korf *et al.*, 2013).

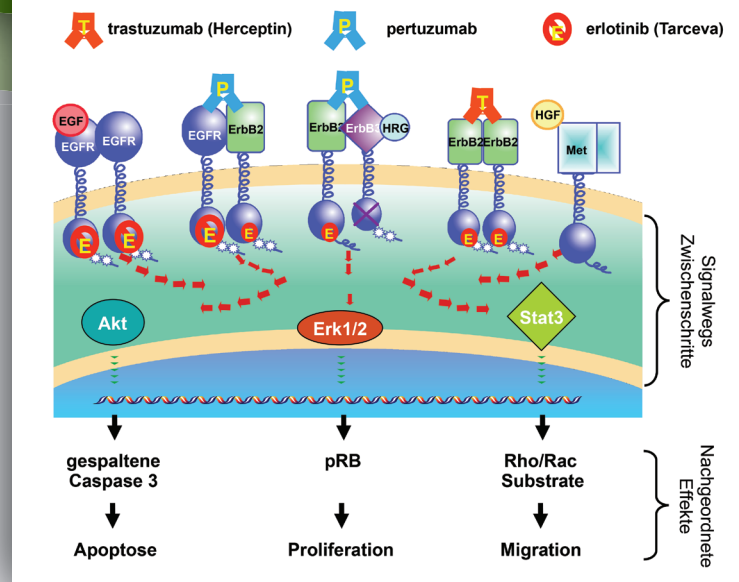


Abbildung 4: Schema von Signalwegaktivierungen in Brustkrebszellen nach Aktivierung mit Liganden und Einwirkung von verschiedenen Medikamenten EGF: Epidermaler Wachstumsfaktor; HRG: Heregulin; X in ErbB2: keine Tyrosin-Kinaseaktivität; AKT: ProteinkinaseB (PKB); ERK: Extra-cellular signal regulated Kinase; STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription (Quelle: Korf *et al.* BreastSys, systembiologie.de, Ausgabe 07, Oktober 2013).

2.2.2 Darmkrebs – mit Modellen für eine bessere Diagnostik

Darmkrebs, mit jährlich rund 1,5 Millionen Neuerkrankungen weltweit die dritthäufigste Krebserkrankung, ist eine der Hauptursachen krebsbedingter Todesfälle. Für Deutschland wird die Zahl der Neuerkrankungen im Jahr 2014 auf insgesamt 63.000 geschätzt.

Bei Darmkrebserkrankungen (Kolonkarzinome, von Kolon=Darm und Karzinom=Krebs) unterscheidet man erbliche und nichterbliche Erkrankungen.

Die meisten Darmkrebserkrankungen vor allem des Dick- und Mastdarms (vom Epithel des Kolons und Rektums ausgehende Kolonkarzinome) sind jedoch **nichterblich** (> 90%) und entstehen über Jahre durch verschiedene somatische Mutationen innerhalb des Genoms der Darmepithelzellen. Für die Entstehung der spontanen Darmkrebserkrankungen diagnostizierten die Wissenschaftler zu ca. 95% Mutationen im APC-Gen, das die Zellteilung kontrolliert und 30-40% im K-RAS-Proto-Onkogen, dessen Protein die Wachstumssignale vom EGF-Rezeptor in verschiedenen Signalwegen weiterleitet. Mutationen in diesem Gen

können zu einer Daueraktivierung führen. Rund 50% Mutationen entfallen auf das p53-Tumorsuppressor-Gen, dessen Protein wesentlich an der Beseitigung geschädigter Zellen beteiligt ist. Die Inaktivierung vom Gen p53 führt zum Ausbleiben des programmierten Zelltods und damit zum ungebremsten Wachstum der Adenomzellen – das Karzinom ist entstanden (Abb. 5).

Um das Verständnis der molekularen Netzwerke, die für die Entstehung und Therapieresistenz von Darmkrebs verantwortlich sind, zu vertiefen, wurde das Projekt ColoNet vom BMBF gefördert. Das Ziel besteht darin, Diagnostik und Therapie mit einer Kombination aus systembiologischen und molekularbiologischen Ansätzen zu verbessern.

Wissenschaftler der Charité-Universitätsmedizin Berlin erarbeiteten beispielsweise unterschiedliche Netzwerkmodelle, die für Darmkrebs relevante Signalwege wiedergeben (Sers *et al.*, 2013). Durch die Kombination von Experiment und theoretischem Modell konnten verschiedene therapeutische Eingriffe im

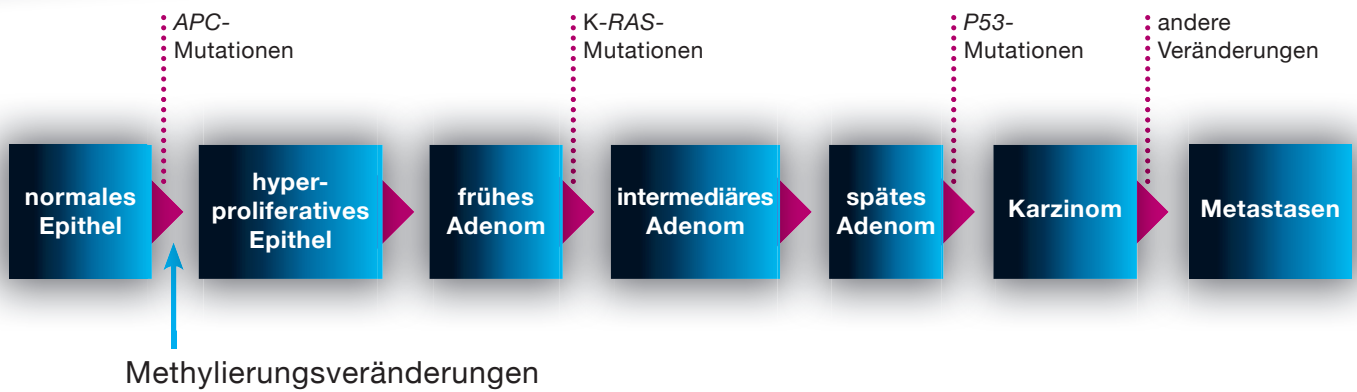


Abbildung 5: Vom gesunden Epithel über Adenom zum Karzinom

APC-Gen = Adematöse Polyposis Coli-Gen; **K-RAS-Gen** = Kirsten-Rat-Sarcoma-Gen; P53-Gen, genannt „Wächter des Zellzyklus“;

Adenom: Primäre gutartige Neubildung von Drüsengewebe;

Karzinom: vom Epithel ausgehender bösartiger Tumor (Krebs)

(Quelle: verändert nach C. Wagener, Roche 2001).

Darmkrebs simuliert werden. So wurde zum Beispiel die Wirksamkeit von Eingriffen in bestimmte Signalwege untersucht. Wie aus Abb. 5 ersichtlich, verursachen im Wesentlichen die Mutationen im KRAS-Gen die ständige Vermehrung der Zellen. Die Forscher kommen zu dem Schluss, dass Inhibitoren (Hemmer), die u. a. gegen mutierte KRAS-Proteine gerichtet sind, potentiell einen wichtigen Beitrag zur Krebstherapie leisten können.

Anhand erweiterter Modelle haben die Systembiologen die komplexen Vorgänge in Darmkrebszellen simuliert und die Reaktion der Tumorzellen auf Medikamenteneinwirkung abgeschätzt. So wurden wichtige Erkenntnisse gewonnen, die reale Experimente, beispielsweise in der Zellkultur oder an Mäusen, vereinfachen oder sogar teilweise ersetzen. Außerdem konnten anhand dieser theoretischen Modelle auch verschiedene therapeutische Maßnahmen zur Behandlung von Darmkrebs simuliert werden.

2.2.3 Lungenkrebs – moderne Methoden unterstützen die Forschung

Der Lungenkrebs, auch als Bronchialkarzinom bezeichnet, ist weltweit eine der häufigsten Krebserkrankungen und verursacht 13 % aller Todesfälle, die im Zusammenhang mit Krebserkrankungen stehen. Damit stellt Lungenkrebs eine der tödlichsten Krebsarten dar.

Etwa 85 % der Lungenkrebspatienten sind Raucher. Die Auswertung vieler Krankenstatistiken lässt erkennen, dass die Gefahr, an Lungenkrebs zu erkranken, für Raucher zehnmal (für Starkraucher über zwanzigmal) größer ist als für Nichtraucher. Außerdem haben andere inhalierte Umweltschadstoffe wie z. B. Fein- und Asbeststaub, Dieselruß sowie das radioaktive Edelgas Radon ebenfalls Anteil an der Entstehung von Lungenkrebs. Erbliche Faktoren scheinen eine gewisse Rolle zu spielen, allerdings ist noch nicht klar, wie bedeutsam sie für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms sind.

Die häufigste Art von Lungenkrebs ist das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom, das ungefähr 85-90 % der Lungentumore ausmacht, während 10-15 % zum kleinzelligen Lungenkrebs zählen (Abb. 6).

Wie auch bei anderen Lungenkrebsarten ist durch das Fehlen von Symptomen während der frühen Krankheitsstadien und Metastasenbildung das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom oft erst sehr spät zu erkennen. Im fortgeschrittenen Stadium gehört zur Behandlung eine Chemotherapie, in deren Verlauf sich häufig eine Blutarmut entwickelt. Um dieser sogenannten Anämie entgegenzuwirken, wird Erythropoietin (Epo) verabreicht, das die Bildung der Erythrozyten im Knochenmark induziert. Weil klinische Studien unterschiedliche Risiken für die Patienten bei der Epo-Behandlung zeigten, beschäftigt sich das vom BMBF geförderte Konsortium „Systembiologie des Lungenkrebs (LungSys)“ mit den Epo-Effekten auf mehreren Ebe-

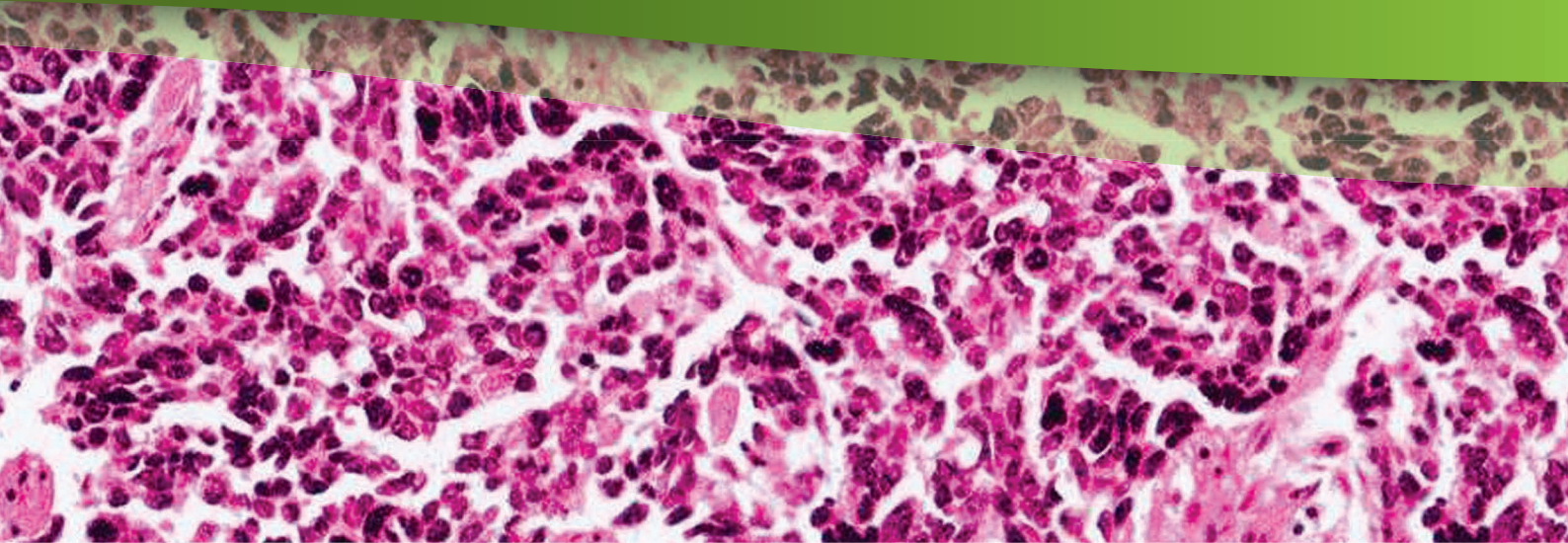


Abbildung 6: Kleinzelliger Lungenkrebs
(Quelle: KGH, 2006, GNU Free Dokumentation License).

nen des Krebsgeschehens. In vielfach wiederholten Prozessen haben die Forscher durch die Kombination von quantitativen Datenerhebungen und mathematischer Modellierung ein Modell für die Signalübertragung vom Epo-Rezeptor (EpoR) bis zu den Zielgenen im Zellkern erstellt: Der Zelloberflächenrezeptor EpoR wird durch Epo aktiviert und bewirkt die Expression bestimmter Gene im Zellkern (Abb. 7).

Dabei spielt der Transkriptionsfaktor STAT5 bei der Signalweiterleitung und dem Überleben der Krebszelle eine wesentliche Rolle. Die Wissenschaftler kamen durch die modellbasierte Erforschung des Signalwegs zu Einsichten, die ihnen die Laborexperimente nicht ermöglichten: „Der kontinuierliche Transport von STAT5 zwischen Zytoplasma und Zellkern koppelt als grundlegende Eigenschaft des Signalwegs das Geschehen an der Zelloberfläche ständig mit der Aktivierung von Zielgenen im Zellkern“ (Klingmüller und Timmer, 2014). Weiter wurde aufgezeigt, wie „bestimmte Moleküle (SOCS3 und CIS) den Signalweg bei unterschiedlichen EPO-Konzentrationen drosseln und so das Überleben von Zellen beeinflussen.“ Aus den Erkenntnissen entwickeln jetzt die Forscher einen Ansatz, der aus der jahrelangen Grundlagenforschung „in Richtung der medizinischen Anwendung führt und wirklich einem Patienten am Krankenbett hilft“ (Klingmüller und Timmer, 2014).

Weitere Forschungsergebnisse zur Rolle und Bedeutung einer langen, nicht-proteinkodierenden RNA (lncRNA), der sogenannten MALAT1 (Metastasis Associated in Lung Adenocarcinoma Transcript 1), weisen darauf hin, dass MALAT1 signifikant mit

der Metastasierung von Lungenkrebs verbunden ist (Diederichs, systembiologie.de, Ausgabe 08, 2014). „Je mehr MALAT1 die Tumorzellen bilden, desto wahrscheinlicher ist es, dass Metastasen auftreten und die Krankheit sehr ungünstig verläuft“, sagt Sven Diederichs, der das Molekül im Rahmen seiner Doktorarbeit entdeckt hatte.

Experimentell wurde in Kulturschalen diese lncRNA in humanen Lungenkrebszellen abgeschaltet und nachgewiesen, dass die Zellen, die MALAT1 quantitativ verloren haben, *in vitro* und auch im

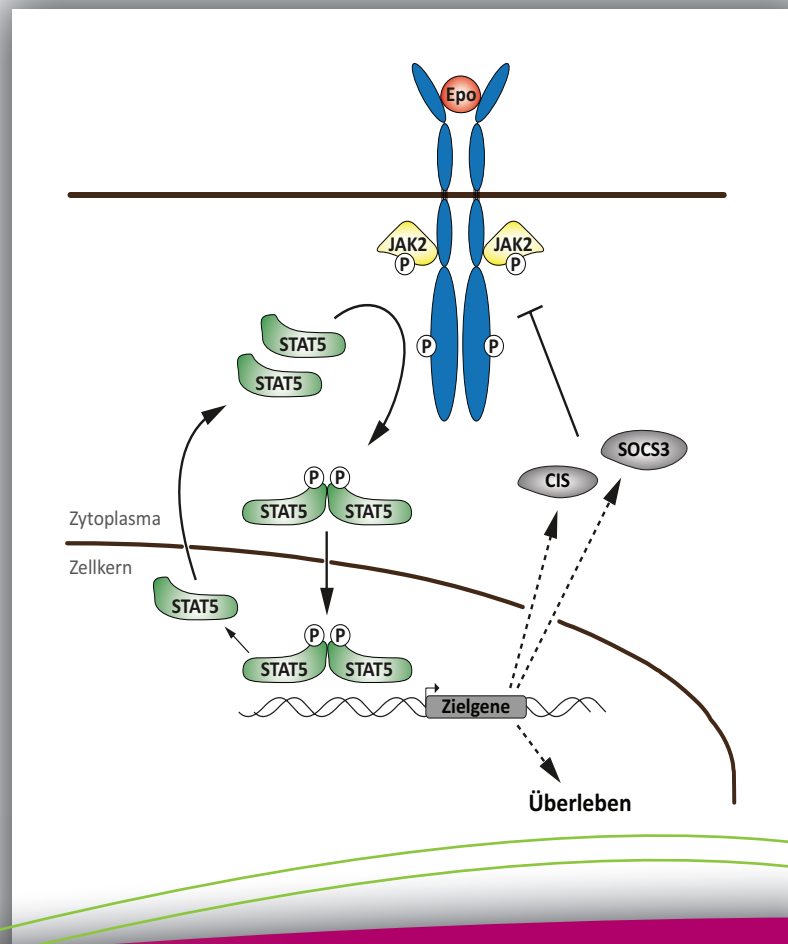


Abbildung 7: Schema der Epo-induzierten Signalübertragung (JAK2-STAT5-Signalweg) vom Epo-Rezeptor (blau) zur DNA im Zellkern
(Quelle: Adlung und Braun, 2014).

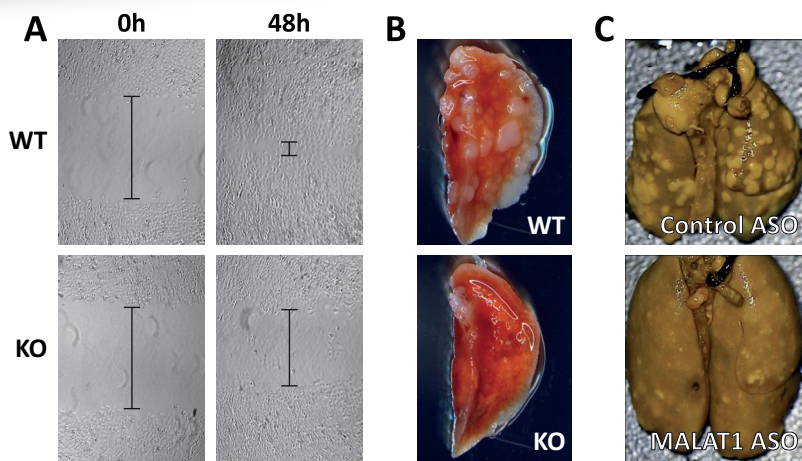


Abbildung 8: MALAT1 als essentieller Faktor in der Metastasierung von Lungenkrebs;

Verlust von MALAT1 in humanen Lungenkrebszellen (KO) führt zur epigenetischen Hemmung von metastatischen Genen, wodurch die Zellen weniger wandern (A) und weniger Metastasen bilden (B). Durch Antisense-Oligonukleotide (ASO) wird im Mausmodell MALAT1 ausgeschaltet und Metastasierung verhindert (C) (Quelle: Diederichs, adaptiert aus Gutschner *et al.*, 2013, *systembiologie* 08, 2014).

Mausmodell *in vivo* deutlich weniger Metastasen bilden (Abb. 8A-C). Auf molekularer Ebene beeinflusst das MALAT1 als epigenetischer Regulator (s. 2.3 Epigenetik) die Transkription einer Reihe von Zielgenen, die in der Metastasierung eine wesentliche Rolle spielen (Gutschner *et al.*, 2013).

Damit ist MALAT1 eine attraktive Zielstruktur für eine therapeutische Anwendung. Die Forscher stellen abschließend fest, dass MALAT1 als Marker für die Metastasierung von Lungenkrebs eine der wenigen lncRNAs darstellt, deren Identität, Expression, zelluläre Funktion und molekularer Mechanismus bereits untersucht sind. „Trotzdem hält diese lncRNA noch Überraschungen bereit“ und stellt als neue regulatorische Ebene im zellulären System noch „spannende Herausforderungen für die Zukunft dar“ (Diederichs, 2014).

Referenzen:

Adlung, L. und Braun, S. (2014). Abbildung 1, *systembiologie.de*, Ausgabe 08, S. 46
 Bacelli, I. *et al.* (2013). Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay. (2013). *Nature Biotechnology* 2013, Jun; 31 (6): S 39-44
 Buchholz, C. *et al.* (2013/2014). Erstmals onkolytische Viren zum Angriff an Krebsstammzellen erzeugt. Paul-Ehrlich-Institut, Jahresbericht 2013/2014, S. 24 - 25
 Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU)

(2007). Analyse von p53 abhängigen und p53 unabhängiger Reparatur strahleninduzierter DNA-Brüche während des Zellzyklus, BMU-Broschüre 2007-707, S. 13.

DESTATIS Statistisches Bundesamt (2013). Datenreport 2013. Ein Sozialbericht für die Bundesrepublik Deutschland, S. 34

Deutsche Kinderkrebsstiftung (2012). Bösartige Tumoren im Kindesalter, 2012, S. 36

Doleschel, D. *et al.* (2011). Targeted near-infrared imaging of the erythropoietin receptor in human lung cancer xenografts. *J. Nucl Med* 2012, 53: S. 1-8

Diederichs, S. (2014). Licht aus der dunklen Materie des Genoms. *systembiologie.de*, Ausgabe 08, S. 8-11

Gutschner, T. *et al.* (2013). The noncoding RNA MALAT 1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. *Cancer Res.*, 73 (3), S. 1180-9

Internationale Agentur für Krebsforschung – IARC - (2014). Welt-Krebsbericht 2014. Anzahl der Krebs-Kranken steigt weltweit rasant an, Link SPIEGEL ONLINE Gesundheit oder FOCUS ONLINE Special Krebs, 03.02.2014

Klingmüller, U. und Timmer, J. (2014). Systembiologie im Doppelpack. *systembiologie.de*, Ausgabe 08, S. 45-46

Korf, U., Timmer J., Beissbarth, T. *et al.* (2013). BreastSys - Medikamentenresistenz bei Brustkrebs verstehen. *systembiologie.de*, Ausgabe 07, S. 60-63

Robert-Koch-Institut Berlin (RKI) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2013). Krebs in Deutschland 2009/2010. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 9.Ausgabe 2013, S. 16-17

Sers, Ch., Schäfer, R. und Blüthgen, N. (2013). ColoNET - Darmkrebs systematisch untersucht. *systembiologie.de*, Ausgabe 07, S. 55-59

Wagner, C., (2001). Molekulare Onkologie: Perspektiven für Krebsdiagnostik und -therapie. Roche Diagnostics Penzberg, 2001, S. 10

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Wiederholen Sie die Abläufe eines normal ablaufenden Zellzyklus. Vergleichen Sie diesen mit der Zellteilung bei Krebszellen.
2. Werten Sie die Abbildungen 1 und 2 aus. Formulieren Sie auch unter Einbeziehung der Abb. 2 allgemeine Grundregeln zur Vorbeugung von Krebserkrankungen.
3. Genetische Ursachen der Krebserkrankungen - Erklären Sie, warum es nicht ausreicht, nur **eine** Mutation zu betrachten?
4. Wählen Sie eine der drei vorgestellten Krebsarten aus: Erarbeiten Sie dazu stichpunktartig wesentliche Inhalte und stellen diese Ihren Mitschülern vor.
5. **Vorschlag für einen Schülervortrag:**
„Systembiologie in der Krebsforschung - CancerSys“

2.3 Epigenetik – wie Gene reguliert werden

Lange Zeit hat man angenommen, dass allein die DNA den Bauplan des Lebens darstellt und dass eine Änderung der Genomfunktion ausschließlich auf eine Änderung in der DNA-Sequenz zurückzuführen ist. Heute weiß man allerdings, dass diese Annahme nicht ganz zutrifft. Denn wie sonst ist es möglich, dass sich zum Beispiel eineiige Zwillinge mit einem eigentlich identischen Erbgut oftmals so unterschiedlich entwickeln? Erklären lässt sich das mit der Epigenetik: Sie befasst sich mit den erblichen und nicht-erblichen Veränderungen in der Genomfunktion, die ohne eine Änderung der DNA-Sequenz auftreten. Auch liefert die Epigenetik Erklärungsmodelle, unter welchen Umständen welche Gene an- und wieder abgeschaltet werden. Und dabei gibt es offensichtlich Spielräume, die Organismen ausnutzen, um sich äußeren Einflüssen anzupassen und diese Anpassungen dann auch weiter zu vererben.

Forscher in Atlanta (USA) setzten Mäuse wiederholt Kirschblütenduft aus. Gleichzeitig bekamen sie Elektroschocks, sodass beide Ereignisse in einen Zusammenhang gebracht werden konnten und die Mäuse darauf konditioniert wurden. Erst nach diesen Versuchen wurden sie befruchtet. Überraschenderweise reagierten die Nachkommen dieser Mäuse ebenfalls mit Flucht, wenn sie dem Kirschblütenduft ausgesetzt wurden, obwohl sie nie einen Elektroschock erhalten hatten! Auch bei den „Enkeln“ der konditionierten Mäuse war die Angst vor dem Geruch noch vorhanden. Aber wie erklärt man dieses Phänomen? Die Analyse der DNA ergab **keine** Veränderung in der Sequenz einzelner Gene. Es liegt also keine Mutation im klassischen Sinne vor. Allerdings stellten die Forscher fest, dass epigenetische Veränderungen des Gens **Olfr 151 (Olfactory receptor151 - Rezeptor für den Geruchssinn)** vorlagen: Dieser Genabschnitt war nämlich sowohl bei den Elektroschock-Mäusen als auch ihren Nachkommen hypomethyliert. Aus der Hypomethylierung folgt eine verstärkte Expression des Gens, wodurch die Mäuse den Blütenduft besser wahrnehmen konnten. Wie die Angst vererbt wurde und welche Faktoren die Modifikationen herbeiführten, ist noch Gegenstand weiterer Forschungen (Dias, Ressler, 2014).

Um der Frage nachzugehen, welche epigenetischen Faktoren im Genom der menschlichen Zelle für die Genregulation, aber auch für die Entstehung von Krankheiten von Bedeutung sind, entschlüsselt und kartiert das International Human Epigenome Consortium (IHEC), dem auch Forschergruppen aus Deutschland angehören, bis 2017 rund 1.000 Epigenome von verschiedenen Zelltypen. Die Forscher hoffen, dass diese Untersuchungen das Verständnis zu bestimmten Volkskrankheiten, wie z. B. Krebs (siehe Kapitel 2.2), verbessern sowie „neue Möglichkeiten für eine individualisierte Diagnose und Therapie geschaffen werden“ (BMBF, 2011, S. 1).

Die Forschungsgruppen konzentrieren sich bei der Anfertigung der epigenetischen Karten auf die Gesamtheit der chemischen Veränderungen (Modifikationen) des Epigenoms gesunder und krankheitsrelevanter Zellen. Das heißt, die Wissenschaftler untersuchen die epigenetischen Faktoren, wie etwa DNA-Methylierungen, Histonmodifikationen und nicht-proteinkodierende RNAs (ncRNAs).

DNA-Methylierung

Die DNA ist kein unveränderliches Konstrukt, sondern, chemisch gesehen, „ein fadenförmiges Riesemolekül, das aus vier verschiedenen Einheiten, den Nukleotiden (Kurzwort für Desoxyribonukleotiden), aufgebaut ist“ (Janning, W. *et al.*, 2008, S. 7). Durch die Anheftung einer Methylgruppe zum Beispiel an bestimmte Cytosinbasen im Promotor eines Gens mit Hilfe eines Enzyms, der Methyltransferase, kommt es zur chemischen Veränderung der DNA (Abb. 1a). Durch diese **DNA-Methylierung** kann das Gen nicht abgelesen werden, d. h., die „Zugänglichkeit“ der DNA für regulatorische Proteine (z. B. Transkriptionsfaktoren) ist durch die Methylierung verhindert, ohne dass das Gen in seiner Sequenz beeinflusst wurde. Durch Methylierung des Genschalters (Promotor) kann also die Genexpression reguliert werden: In diesem Fall ist das betreffende Gen „abgeschaltet“, während dieses Gen nach dem Entfernen der Methylgruppe (Demethylierung) durch eine Demethylase wieder ablesbar, d. h. angeschaltet ist. Bei Säugetieren sind normalerweise 2-7% der Cytosinbasen einer Zelle methyliert. Häufig betrifft es diejenigen, die direkt auf die Base Guanin folgen und durch Phospho-

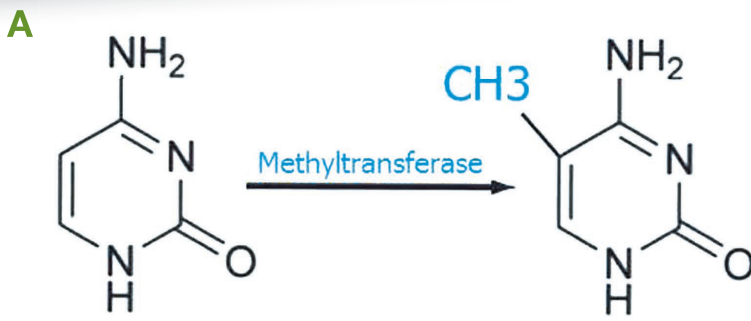


Abbildung 1a: Methylierung von Cytosin durch Methyltransferase
(Quelle: B. Kleine, 2009, Wikimedia Commons, lizenziert Creative Commons by-sa-3.0 de)

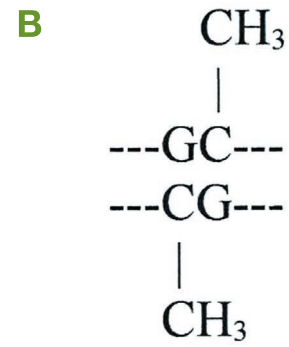


Abbildung 1b: Methylierte Cytosinbasen im CpG-Molekül

ter (p) mit Cytosin verbunden sind. Auf beiden komplementären DNA-Strängen tragen die Cytosinbasen je eine Methylgruppe (Abb. 1b). Solche sogenannten „CpG“ Moleküle findet man beispielsweise in Promotoren, wo sie in hoher Anzahl auftreten; man nennt sie deshalb CpG-Inseln.

Der Methylierungsgrad der CpG-Inseln innerhalb eines Promotors ist oft ein Maß für die Aktivität, mit der das zugehörige Gen transkribiert wird. Bei geringer Methylierung (**Hypomethylierung**) kann das zugehörige Gen abgelesen und exprimiert werden. Im Gegensatz dazu führt eine verstärkte Methylierung (**Hypermethylierung**) im Genpromotor zur Unterdrückung der Genexpression. So wurde zum Beispiel der unter „Krebserkrankungen“ (siehe Kapitel 2.2) genannte Ausfall des Tumorsuppressorgens p53 in Krebszellen überwiegend durch Hypermethylierungen verursacht. Welche Auswirkungen die erhöhte Mutation von 5-Methylcytosin in Thymin durch Desaminierung (siehe Kasten) hat, ist Gegenstand intensiver Forschungen.

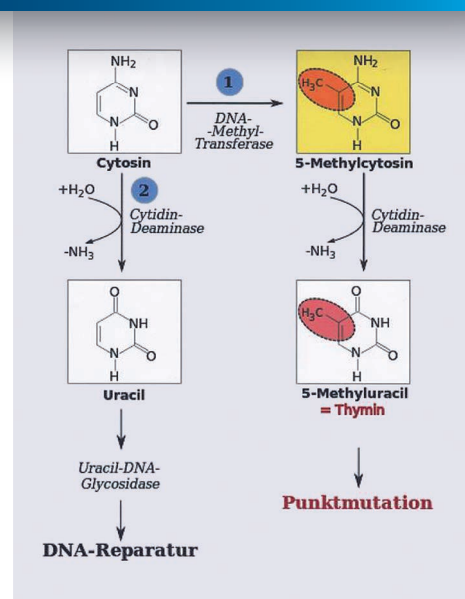
Mit Systembiologie können die epigenetischen Ursachen z. B. unserer Hautveränderungen erklärt und gegebenenfalls therapiert werden.

Epigenetische Veränderungen an CpG-Dinukleotiden der Hautzellgenome verschiedener gesunder Probandengruppen (18-jährige und 71-jährige) sind auch innerhalb des BMBF-Forschungsprogramms GERONTOSYS II untersucht worden. „Insgesamt wurden dabei Methylierungsveränderungen an mehr als 27.000 CpG-Dinukleotiden analysiert. Dabei zeigten 104 promotorassoziierte CpGs eine altersabhängige Zunahme der Methylierung, was eine verringerte Aktivität des Gens bewirken kann“ (S. Hagemann, M. Winnefeld, 2013, S. 28). Dabei spielen insbesondere äußere Faktoren wie z. B. UV-Strahlung (chronische Sonnenexposition) und Luftverschmutzung eine wichtige Rolle. Durch die systembiologische Zusammenführung der Untersuchung von rund 51 Millionen CpG-Dinukleotide und Analyse der gewonnenen Ergebnisse können neue Theorien und Modelle erarbeitet werden, um daraus weitere „Angriffspunkte zur Behand-

WIE EPIGENETISCHE MODIFIKATION ZU GENETISCHER VERÄNDERUNG FÜHREN KANN

Cytosine sind chemisch labil. Aus unmethyliertem Cytosin, z. B. in den CpG-Inseln, kann durch Desaminierung (Abspaltung von NH_3) Uracil, das von den DNA-Reparaturmechanismen sehr gut als nicht zur DNA gehörende Base erkannt und durch Cytosin ersetzt wird, entstehen. Jedoch verändert sich methyliertes Cytosin (5-Methylcytosin) durch Desaminierung zu Thymin (Abb. 2). Als eine in der DNA vorkommende Base wird die Thymin-Guanin-Fehlpaarung häufig nicht als „Fehler“ erkannt, sodass es zu einer dauerhaften Punktmutation kommt. Sind beide Allele von dieser Punktmutation betroffen, kann es z. B. bei einem proteincodierenden Gen zur Veränderung oder zum Ausfall des betreffenden Proteins kommen. Fällt aber z. B. das Tumorsuppressorgen p53 durch diese Punktmutation aus, sind wesentliche Voraussetzungen für eine Krebserkrankung (s. Darmkrebs) geschaffen.

Abbildung 2: Entstehung einer Punktmutation aus 5-Methylcytosin (Quelle: B. Kleine, 2009, Wikimedia Commons, lizenziert Creative Commons by-sa-3.0 de).



lung von altersassoziierten Erscheinungen und/oder Erkrankungen abzuleiten“ (systembiologie.de 07 Oktober 2013, S. 28).

Bisher war unbekannt, wie die Methyltransferasen die speziellen Gene zur Methylierung finden. Ein Forscherteam von Prof. Ingrid Grummt aus dem DKFZ Heidelberg entdeckte jetzt, dass bestimmte nichtkodierende RNAs dabei eine wichtige Rolle spielen: Die durch normale Transkription gebildeten „pRNAs“ beispielsweise lagern sich an der komplementären Sequenz eines bestimmten Promotors an (deshalb „p“RNA), sodass sich eine Dreifach-Helix, bestehend aus der normalen DNA-Doppelhelix und der pRNA, bildet. An genau diese Dreifach-Helix docken die Methyltransferasen an. Sie werden somit genau an die Stelle geleitet, an der ein Gen blockiert werden soll. Aus der Bindung der Transferase folgt die Methylierung des betroffenen Promoterabschnitts, wodurch das nachfolgende Gen in seiner Expression reduziert bzw. ganz abgeschaltet wird. Dieser Prozess kann im Labor einfach überprüft werden: Schleust man pRNAs künstlich in die Zelle ein, lagern sie sich ebenfalls an den passenden Gen-schalter an und unterdrücken die Expression des entsprechenden Gens.

Da über 50 Prozent unseres Erbguts in nichtkodierende RNA-Moleküle transkribiert werden, äußerten Wissenschaftler die Vermutung, „dass für alle Gene, die zeitweise stillgelegt werden, passgenaue nicht codierende RNA-Moleküle vorhanden sind. Das würde erklären, wie eine solche Vielzahl an Genen gezielt an- und abgeschaltet werden kann“ (DKFZ Pressemitteilung 2010, S. 1).

Histonmodifikationen

Nur durch eine zweckmäßige Verpackung kann die rund zwei Meter lange DNA-„Schnur“ im Zellkern untergebracht werden. Dazu werden 147 Basenpaare eines DNA- Strangs zunächst um einen Kern aus acht Histonproteinen gewickelt. Diese sogenannten Nukleosomen werden perlschnurartig aneinandergereiht und durch weitere Proteine weiter verpackt, sodass die DNA 10.000- bis 50.000-fach verdichtet wird. Dabei ragen die Enden der Histonproteine (Histonschwänze) heraus und können Ziel für epigenetische Modifikationen sein. Den Komplex aus DNA, Histonen und Nichthistonproteinen bezeichnet man als Chromatin.

Grundsätzlich unterscheidet man zwei Zustände des Chromatins: das locker verpackte Euchromatin und das dicht verpackte (kondensierte) Heterochromatin (Abb. 3). Während im Euchromatin die Gene für die Transkription zugänglich und somit aktiv sind,

werden die Gene des stark kondensierten Heterochromatins weitgehend abgeschaltet. Der Chromatinzustand eines bestimmten DNA-Abschnitts, sichtbar in Abb. 3 auch an der räumlichen Anordnung der Nukleosomen, hat also direkte Auswirkungen auf den DNA-Zugang z. B. von Transkriptionsfaktoren. Im Unterschied zur oben beschriebenen DNA-Methylierung erfolgen die epigenetischen Modifikationen also nicht durch eine Veränderung der DNA selbst, sondern durch Modifikationen der Histonproteine der Nukleosomen, die die Ablesbarkeit der im Bereich der Verbindungs-DNA liegenden Gene (Abb. 3) durch Änderungen in der Chromatinstruktur beeinflussen. Wegen der Vielfalt der Histonmodifikationen spricht man auch vom **Histoncode**, der Gegenstand intensiver Forschung ist. Zu diesen vielfältigen Änderungen der Chromatinstruktur gehört das Anlagern oder Entfernen chemischer Gruppen, zu denen unter anderem die Acetyl- ($-\text{CO}-\text{CH}_3$), Methyl- ($-\text{CH}_3$ -) und Phosphat- ($-\text{PO}_4$ -) Gruppe gehören.

Im BMBF-geförderten Verbundprojekt CancerEpiSys kartierten die Forscher die epigenetischen Modifikationen und Positionen der Nukleosomen in Tumorzellen von Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie, um Muster der deregulierten Chromatinanordnung mit Hilfe von Computersimulationen und Hochdurchsatzsequenzierungen zu identifizieren, die dem Stadium der Krebserkrankung zugeordnet werden können. Dabei erreichten die Forscher eine sehr gute Übereinstimmung zwischen experimentell unter dem Elektronenmikroskop untersuchten Nukleosomenketten und der durch die Monte-Carlo-Simulation vorhergesagten entsprechenden räumlichen Anordnung der Nukleosomen. (Monte-Carlo-Simulation ist ein computergestütztes Verfahren zur näherungsweisen Bestimmung von mathematischen Größen, die abhängig vom Zufall sind). Die bisherigen Ergebnisse lassen die Wissenschaftler darauf schließen, „dass die Einbeziehung der zahlreichen epigenetischen Signale des Genoms in Bezug auf die Veränderungen des DNA-Zugangs wertvolle Informationen für neue individualisierte Therapieansätze ergibt“ (Rippe, K. u. Wedemann, G., 2014, S. 71).

Nichtcodierende RNAs

In den Abschnitten der DNA, die lange Zeit als „Junk“ (Gerümpel) bezeichnet wurden, entdeckten Forscher immer mehr DNA-Sequenzen, die in RNA transkribiert, aber nicht in Proteine translatiert werden (ENCODE Project Consortium, 2007; 2012).

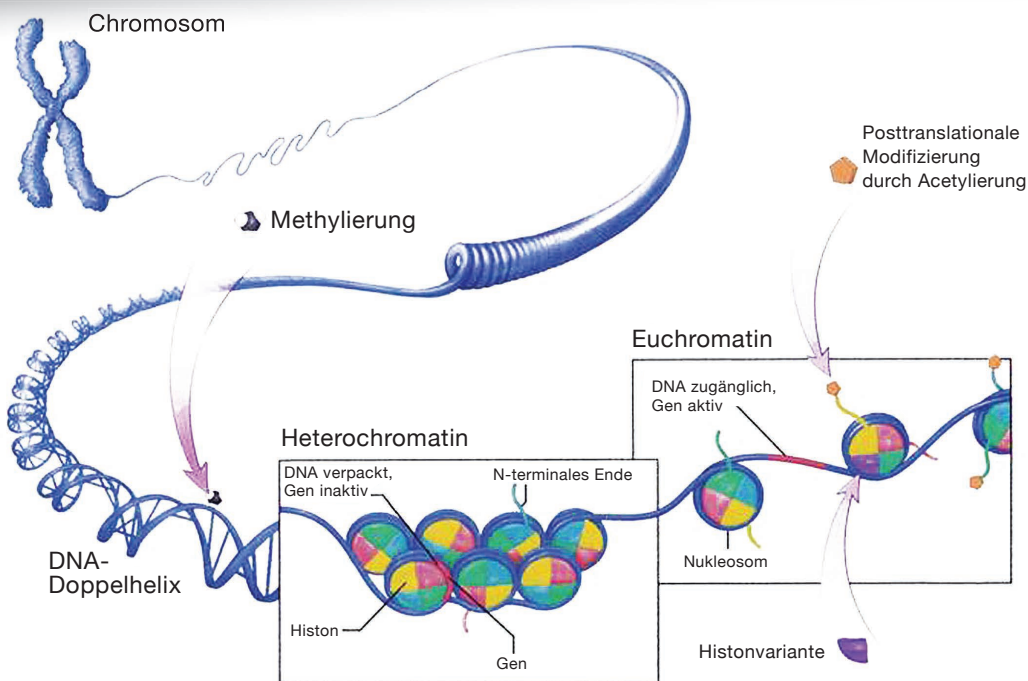


Abbildung 3: Organisation des Chromatins und epigenetische Modifizierungen (Quelle: Derryl Leja, National Human Genom Research Institute, modifiziert von R.A. Rotzinger, 2013).

Aus der Vielzahl der so genannten nichtkodierenden RNAs (non-coding RNAs, ncRNAs) ist die Mikro-RNA (miRNA) ein prominentes Beispiel. Sie ist ein wichtiger Regulator der Genexpression: Beim Ablesen der DNA entstehen kurze miRNA-Moleküle von 21-25 Basen, die mit der passenden mRNA-Sequenz eines transkribierten Gens eine doppelsträngige RNA bilden. Diese wird von der Zelle als Fremdkörper erkannt und zerstört, sodass die Translation der mRNA zum Protein nicht erfolgen kann. Fast alle tierischen und pflanzlichen Zellen nutzen diesen, als RNA-Interferenz (RNAi) bezeichneten Mechanismus, auch zum Schutz vor eindringender Fremd-RNA (z. B. Viren). C. Mello und A. Fire erhielten 2006 für die Entdeckung des RNAi-Mechanismus den Nobelpreis für Medizin und Physiologie. Mit dem RNAi-Prinzip kann die Genaktivität nicht nur an- und abgeschaltet, sondern auch stufenweise geregelt werden. Intensive Forschungen gehen beispielsweise in die Richtung, mit künstlichen Mikro-RNAs in der Zelle Gene gezielt abzuschalten. Auch wäre denkbar, mit Anti-Mikro-RNAs körpereigene Mikro-RNAs stumm zu schalten, um die Transkription von Genen zu sichern.

Weitere Möglichkeiten zur Krebstherapie erhofft man sich aus neuen ncRNA-Forschungsergebnissen, z. B. einer langen RNA, die als MALAT1 (siehe Abschnitt 2.2) bei der Metastasierung von Lungenkrebs eine wesentliche Rolle spielt. „Wie schon bei den microRNAs darf man auch für die lncRNAs erwarten, dass sich in jedem physiologischen oder pathologischen Prozess eine lncRNA finden lässt, die diesen beeinflusst“ (Diederichs, S. 2014). MALAT1 ist damit nicht nur ein Marker für metastasierenden Lungenkrebs, sondern auch als epigenetischer Regulator ein aktiver und essentieller Faktor in diesem Prozess.

Anhand zweier ausgewählter Beispiele wird nun erläutert, wie epigenetische Phänomene zur Regulation der Gene beitragen.

X-Chromosom-Inaktivierung und Genomische Prägung

Weibliche Individuen besitzen bekanntlich zwei X-Chromosomen, wodurch die Gene auf den Geschlechtschromosomen doppelt vorliegen. Damit es nicht zu einer „Überdosis“ in der Genexpression kommt, wird deshalb eines der beiden X-Chromosomen ausgeschaltet. Diese sogenannte **X-Chromosom-Inaktivierung** erfolgt zufällig und bereits bei der frühen Embryonalentwicklung zum einen durch Hypermethylierung von Genpromotoren auf DNA-Ebene, zum anderen durch Änderungen im Histoncode, vor allem durch Hypermethylierung und Hypoacetylierung (also einer starken Methylierung und einer geringen Acetylierung) bestimmter Histone. Auch verschiedene lange ncRNAs sind an der Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms in weiblichen Zellen beteiligt, wie neue Forschungsergebnisse zeigen (Diederichs, S. 2014; Froberg *et al.*, 2013). Es entsteht das stark verdichtete, als Barr-Körperchen bezeichnete ringförmige Heterochromatin, dessen Gene nicht abgelesen werden können, sodass in den somatischen diploiden Zellen der weiblichen Säuger jeweils nur ein X-Chromosom aktiv ist. Wie die Forschung ergab, ist die Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms jedoch nicht ganz vollständig und gleichartig (ca. 15% der X-gekoppelten Gene „entkommen“ der Inaktivierung, Graw, 2006), weshalb X-chromosomal-rezessiv vererbte Krankheiten nicht unbedingt ausbrechen müssen, wenn sie heterozygot vorliegen (z. B. Hämophilie A oder B).

Als **Genomische Prägung** (genomic imprinting) bezeichnet man die Abhängigkeit der Genexpression von der elterlichen Herkunft des jeweiligen Allels. Diese Prägung wird durch epigenetische Signale vermittelt und kann in direktem Widerspruch zur klassischen Mendelschen Vererbungslehre stehen, nach der nur die dominant-rezessiven Eigenschaften eines Allels für die Ausprägung entscheidend sind. Vereinfacht ausgedrückt ist die genomische Prägung die elternspezifische (maternale oder paternale) Ausprägung einer genetischen Anlage. Die Modifikation erfolgt während der humanen Keimzellenentwicklung (Spermatogenese und Ontogenese). Dabei kommt es zu der spezifischen Methylierung von CpG-Inseln bestimmter Gene, durch die entweder das mütterliche oder das väterliche Gen deaktiviert wird. Durch die Prägung, also einer spezifische Methylierung von CpG-Inseln der betreffenden Gene ohne Änderung der Basenfolge, wird eines der beiden Allele inaktiviert. Das bedeutet allerdings auch, dass, wenn das aktive Allel aufgrund einer Mutation fehlt, es nicht durch das homologe epigenetisch inaktivierte Allel ausgeglichen werden kann. So ist zum Beispiel beim Angelmann-Syndrom das mütterliche Allel auf Chromosom 15q nicht funktionstüchtig und das entsprechende väterliche Allel durch die epigenetische Modifikation stillgelegt. Dadurch fehlt das Genprodukt komplett, sodass es bereits im Kindesalter u. a. zu stark verzögerter bis ausbleibender Sprachentwicklung und psycho-motorischen Störungen kommt. Ist dagegen das väterliche Allel auf Chromosom 15q fehlerhaft und durch das stillgelegte mütterliche Allel nicht ersetzbar, führt dies zum Prader-Willi-Syndrom (u. a. Adipositas ab 1. Lebensjahr, Kleinwüchsigkeit und geistige Behinderung).

Noch sind viele Fragen zur Epigenetik unbeantwortet, deren Erforschung zum besseren Verständnis der Regulation vielfältiger Genaktivitäten und besonders zur Vorbeugung, Entstehung und Therapie menschlicher Erkrankungen führen werden. Nach 2017, wenn die Ergebnisse des International Epigenetic Consortiums (IHEC) vorliegen, werden mit den 1.000 Referenz-Epigenomen humaner Zellen weltweit standardisierte epigenetische Daten vorliegen, die umfassende vergleichbare Bewertungen epigenetischer Veränderungen ermöglichen. Es besteht dann

verstärkt die Aussicht, dass durch diese Untersuchungsergebnisse ein weiterer Schritt in Richtung der personalisierten Therapie von relevanten Krankheiten erfolgt ist.

Robert Goddard, ein amerikanischer Physiker, bringt mit seinem Zitat die Erforschung der Epigenetik auf den Punkt: „**Es ist schwer zu sagen, was unmöglich ist, denn der Traum von gestern ist die Hoffnung von heute und die Wirklichkeit von morgen**“.

Referenzen:

- Bernstein, B. E. *et al.* (2007). Epigenetics: A landscape takes shape. *Cell* 2007, 128: S. 635 – 638
- BMBF-Gesundheitsforschung (2011). Deutsche Beteiligung am International Human Epigenome Consortium (IHEC). Öffentliche Bekanntmachung vom 14.01. 2011 für den Förderzeitraum 2012 – 2017, S. 1
- Dias, B. und Ressler, K. (2014). Parental olfactory experience influences behaviour and neural structure in subsequent generations. *Nature Neuroscience*, 2014 Jan, 17 (1): S. 89-96
- Diederichs, S. (2014). Licht aus der dunklen Materie des Genoms. Die funktionelle Relevanz nicht-kodierender RNAs. *systembiologie.de*, Ausgabe 08, Mai 2014, S. 8-11
- DKFZ-Pressemitteilung Nr. 55 v. 18.10.2010, S. 1: Wie Gene gezielt abgeschaltet werden (Originalartikel: Grummt, I. *et al.* (2010). Interaction of noncoding RNA with the rDNA promoter mediates recruitment of DNMT 3b and silencing of rRNA genes. *Genes & Development*, 2010)
- Esteller, M. (2007). Cancer epigenomics: DNA methylomes maps. *Nat Rev Genet* 8 (4), S. 286 – 298
- Graw, J. (2006). *Genetik*. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, 4. Auflage, S. 268
- Goddard, R.: zitiert aus Jahresdokumentation der MolBioII, Heidelberg 2005/6, S. 1
- Gröniger, E., Lyko, F., Winnefeld, M. *et al.* (2010). Altern und chronische Sonneneexposition führen zu unterschiedlichen epigenetischen Veränderungen der menschlichen Haut. *PLoS Genetics* 6 e1000971
- Hagemann S. und Winnefeld, M. (2013). Mit Systembiologie die Haut verbessern. *systembiologie.de*, Ausgabe 07, Oktober 2013, S. 27-29
- Janning, W. *et al.* (2008). *Genetik*, S. 7, Thieme-Verlag
- Froberg, J. E. *et al.* (2013). Guided by RNA: X-inactivation as a model for lncRNA function. *PMID*, 2013: 23816838
- Mello, C. and Fire, A. (1998). Potent and specific genetic interference by double stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391, 1998, S. 806-811
- Rippe, K. und Wedemann, G. (2014). Das Nukleosom – Zugangskontrolle zum Genom? *systembiologie.de*, Ausgabe 08, Mai 2014, S. 71
- Rotzinger, R.A. (2013). Analyse von posttranslationalen Histonmodifikationen. Dissertation, LMU-München, 2013, S. 5

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Wiederholen Sie folgende Fachinhalte: Aufbau der Chromosomen, Bau der DNA, Genexpression und die Genregulation.
2. Erklären Sie kurz die drei möglichen Faktoren, die das epigenetische Programm der Zelle beeinflussen können.
3. Geben Sie eine Definition des Barr-Körperchens und erklären Sie seine Entstehung.
4. **Vorschlag für ein Referat:**
Erläutern Sie die Bedeutung der Epigenetik für die Erforschung von Krankheitsursachen und deren Vorbeugung sowie Therapie.

2.4 Wie aus Hautzellen Leberzellen werden

Neue Wege zur Reprogrammierung von Körperzellen

von Max Flöttmann, Till Scharp, Ying Wang, Katharina Drews, Xinlai Cheng, Stefan Wöflfl, Alexander Hahn, Sheraz Gul, Nancy Mah, Miguel A. Andrade-Navarro, Edda Klipp, Gunter Wolf, James Adjaye und Ralf Mrowka

Pluripotente Stammzellen sind die wahren Multitalente unter den Zellen. Sie besitzen die Fähigkeit, sich in jede andere Zellart des Körpers zu verwandeln und haben daher einen hohen Wert für die Forschung und für zukünftige Therapieansätze in der regenerativen Medizin. In den letzten Jahren sind Techniken entwickelt worden, um ausdifferenzierte Zellen in diesen pluripotenten Ausgangszustand zurück zu führen – zu „reprogrammieren“. Von dort können die Zellen dann wieder praktisch nach Belieben in andere Zellarten differenziert werden. Diese neue Methode bietet enorme Möglichkeiten für die Stammzellforschung, die patientenspezifische und die regenerative Medizin. Zudem umgeht sie die ethischen Probleme, die die Gewinnung von embryonalen Stammzellen aufwirft. Zurzeit ist die somatische Zellreprogrammierung allerdings noch weit von einer weitreichenden kommerziellen oder klinischen Anwendung entfernt, da die Reprogrammierung viele technische und biologische Hürden überwinden muss. Im Rahmen eines interdisziplinären Kooperationsprojektes erforschen wir neue, substanz-basierte Möglichkeiten, um eine verbesserte Reprogrammierung zu ermöglichen.

Reprogrammierung von Körperzellen hat entscheidende Vorteile

Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen), wie reprogrammierte Zellen genannt werden, bieten ein unschätzbare Potenzial für die Patientenspezifische Medizin. So erlauben sie beispielsweise, die Wirksamkeit eines Medikaments bei einem bestimmten Patienten mit einer zu Lebergewebe umprogrammierten kleinen Gewebeprobe aus der Haut zu testen. Die Hautzellen können zu iPS-Zellen reprogrammiert und dann wieder gezielt zu Leberzellen, sogenannten Hepatozyten, differenziert werden. Das Ansprechen dieser künstlichen Hepatozyten auf das Medikament kann dann getestet werden. Diese Technologie birgt

auch ein enormes Potential für die regenerative Medizin. Beispielsweise könnten zukünftig durch eine Eigenspende diverse Gewebe anderer Zelltypen hergestellt werden.

Zusätzlich zu diesen medizinischen Zukunftsvisionen lassen sich mit den iPS-Zellen bereits jetzt viele der ethischen Probleme umgehen, die mit embryonalen Stammzellen verbunden sind.

Die gezielte Reprogrammierung durch genetische Manipulation wurde im Jahr 2006 zum ersten Mal durchgeführt (Takahashi, K. und Yamanaka, S., 2006). Seitdem wurden die Methoden zur somatischen Zell-Reprogrammierung (SCR) vielfach modifiziert, und eine SCR lässt sich derzeit auf verschiedenste Arten durchführen. Alle Zell-Reprogrammierungen basieren jedoch, von wenigen Ausnahmen abgesehen, immer auf der Überexpression eines oder mehrerer Transkriptionsfaktoren – also Genen, die die Expression einer Vielzahl anderer Gene steuern. Sehr häufig wird in diesem Zusammenhang der sogenannte Yamanaka-Cocktail genutzt, der die 4 Gene Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc umfasst, die parallel künstlich überexprimiert werden. Diese Gene sind Teil eines autoregulatorischen Netzwerkes, dessen Aktivität die Differenzierung der Zellen verhindert und die ungehinderte Zellteilung ermöglicht.

Probleme durch virale Integration

Das Einschleusen von Genen, die sich dann fest im Erbgut der Zellen integrieren (Signatur), birgt ein hohes Krebsrisiko, was eine therapeutische Anwendung der heutigen Methoden unmöglich macht.

Ein anderer Ansatz ist die Reprogrammierung mittels Unterstützung durch chemische Substanzen. Kombiniert man die oben erwähnten Methoden mit bereits bekannten „kleinen Molekülen“ zur Steigerung der Effizienz, lassen sich schnellere Erfolge bei der Reprogrammierung erzielen. Zu den bekannten kleinen Molekülen, die zur Effizienzsteigerung beitragen können, zählt vor allem Valproinsäure (VPA). Auf dieser Beobachtung baut unser Projekt auf, indem es gezielt nach weiteren kleinen Molekülen sucht, um die Reprogrammierung voranzutreiben, oder sogar die Genintegration zu ersetzen.



Gruppenfoto von links nach rechts: Mei-Chih Liao, Ying Wang, Sheraz Gul, Nancy Mah, Jochen Supper, Miguel Andrade, Phil Gribbon, James Adjaye, Edda Klipp, Alexander Hahn, Frank Wenke, Stefan Wölfel, Axel Göhring, Ralf Mrowka (Foto: Ralf Mrowka).

Wir konnten im Experiment zeigen, dass eine Kombination des cAMP-Analogons 8-Br-cAMP mit VPA die Effizienz der Yamanaka-Reprogrammierung erhöht und dass dieser Effekt zum Teil durch die zeitweise Unterdrückung des p53-Signalweges verursacht wird (Wang, Y. und Adjaye, J., 2010).

Systematische Verbesserung durch gezielte Experimente

So vielversprechend die iPS-Technik zurzeit auch sein mag, ohne eine signaturfreie, vollständige und schnelle Reprogrammierung werden viele der Versprechungen dieser Methode nicht einlösbar sein. Die Reprogrammierung mit Hilfe kleiner Moleküle lässt sich nur durch ein besseres Verständnis der Prozesse in der Zelle während der normalen Differenzierung und der künstlichen Rückkodierung erreichen. Wir kombinieren in diesem Projekt daher verschiedene experimentelle Hochdurchsatzmethoden mit mathematischer Modellierung, um die einzelnen Ergebnisse in ein Gesamtbild einzufügen (Abb. 1).

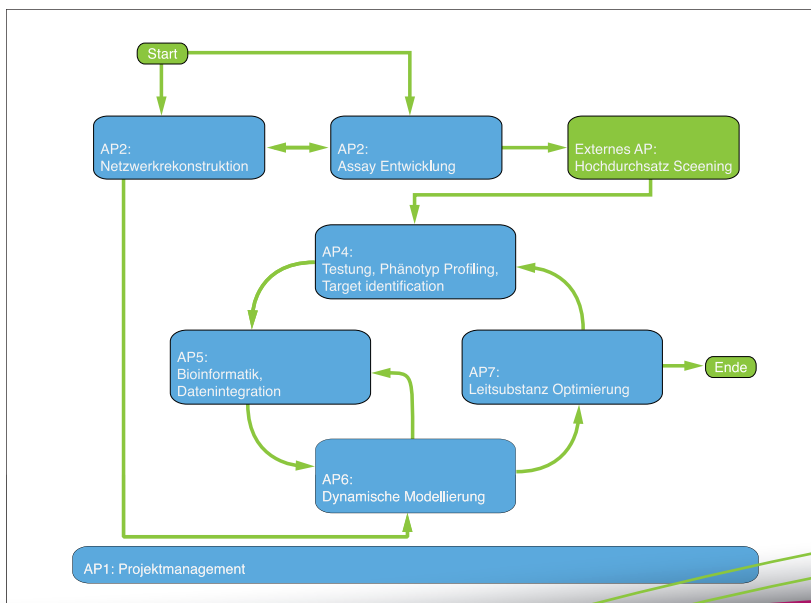
Vor der experimentellen Arbeit stand dabei eine bioinformatische Metaanalyse von Genexpressionsprofilen aus der Literatur,

die vor und nach der Reprogrammierung gemessen wurden. Diese Analyse zeigte, dass die mesenchymale epitheliale Transition (MET) die Pluripotenz der Zellen fördert (Wang, Y. *et al.*, 2010). Bei der MET handelt es sich um die Umkehrung eines Vorgangs aus der Embryonalentwicklung (Abb. 2).

Im Anschluss wurden Expressionsprofile somatischer Zellen zu verschiedenen frühen Zeitpunkten während der Yamanaka-Reprogrammierung mit Profilen der fertiggestellten iPS-Zellen sowie mit Profilen embryonaler Stammzellen verglichen (Abb. 3). Diese Experimente zeigten, dass die virale Induktion und die damit verbundene Immunreaktion die Effizienz der Reprogrammierung stark einschränkt (Mah, N. *et al.*, 2011).

Gleichzeitig wurde ein Screening mit einer Bibliothek von kleinen Molekülen auf die Aktivierung der Pluripotenzgene durchgeführt, um Kandidatenmoleküle zu finden. Parallel dazu haben wir Gennetzwerke und dynamische Modelle der Differenzierung und Reprogrammierung entwickelt (Kielbasa, S. M. *et al.*, 2010), um die Experimente mit bereits bestehenden Erkenntnissen verbinden zu können (Abb. 3B).

Abbildung 1: Organigramm des Projektablaufs



Die verschiedenen Arbeitspakete arbeiten parallel und versorgen sich gleichzeitig mit Daten. Zu Beginn standen die Netzwerk-Rekonstruktion aus Literaturangaben und die Entwicklung der Assays für das Screening. Daran schließt sich ein enger Kreislauf aus Experiment und Theorie an, der die Ergebnisse in jeder Iteration verbessert.

Grafik: Ralf Mrowka

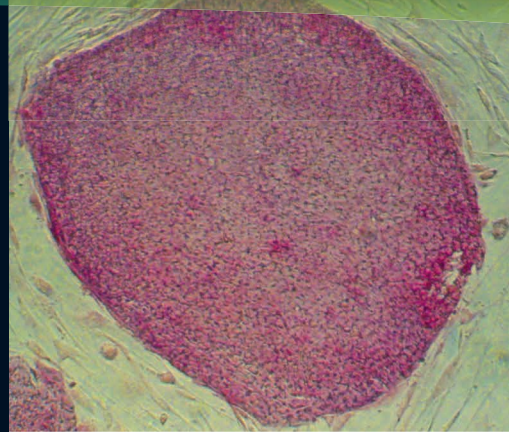
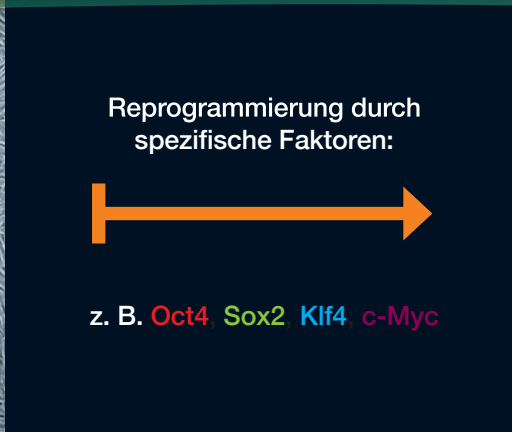
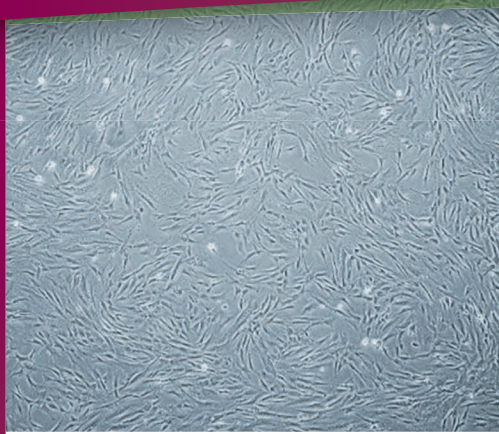


Abbildung 2: Mikroskopische Aufnahmen der Reprogrammierung von dermalen Fibroblasten

Hautfibroblasten (links) werden mit einer Kombination von Retroviren infiziert, die die Gene Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc einschleusen. Die forcierte Expression dieser Faktoren leitet den Prozess der Reprogrammierung in den Hautzellen ein, in dessen Verlauf sie ihr genetisches Expressionsmuster und ihre Morphologie verändern (Bild: Katharina Drews).

Der nächste Schritt befasst sich nun mit der Verifizierung und der Zusammenführung der verschiedenen Ergebnisse in ein kohärentes Modell der Wirkungsweise der gefundenen Moleküle.

Die Nadel im Heuhaufen

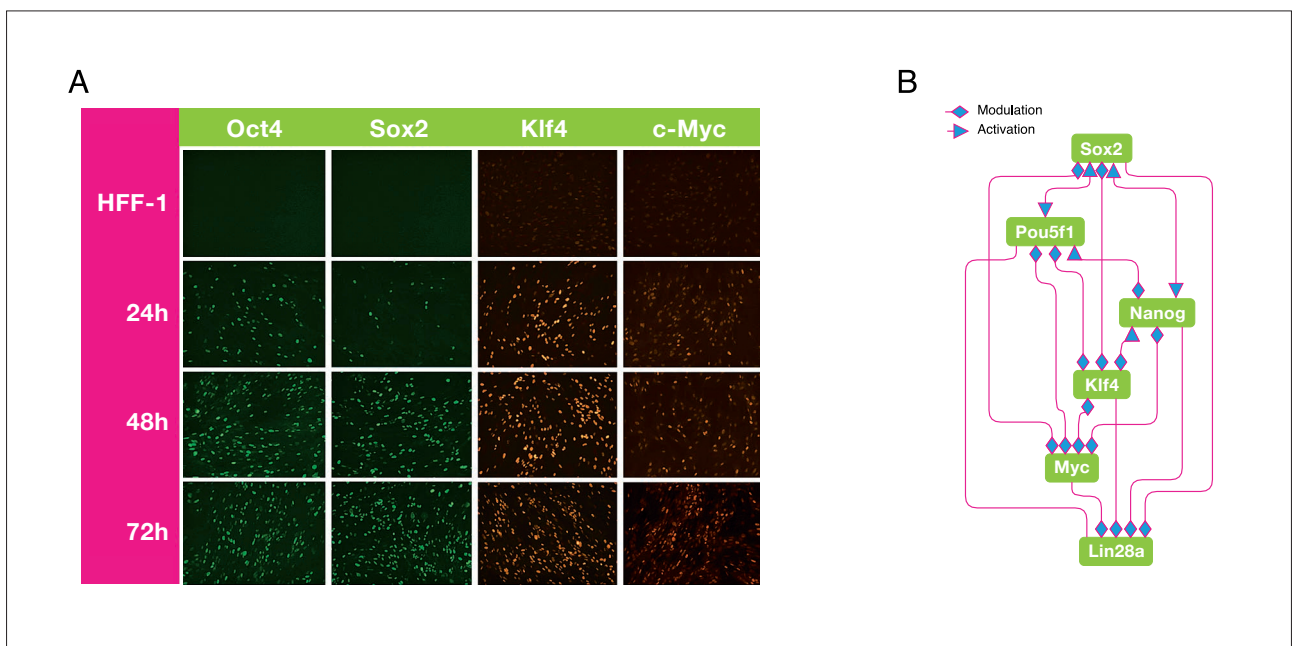
Die Suche nach kleinen Molekülen, die unser Gennetzwerk in der gewünschten Weise beeinflussen, gleicht der Suche nach der Nadel im Heuhaufen. Es gibt eine unglaubliche Vielzahl an Stoffen, die theoretisch für eine Rückkodierung in Frage kommen und die alle auf ihre Wirksamkeit getestet werden müssen.

Für das Screening nach Kandidatenstoffen mussten zunächst Reportersysteme für die Aktivierung der Stammzellgene etabliert werden.

Hierfür wurden eigens vier Luziferase-Reporterzelllinien etabliert, die jeweils ein Gen durch eine Leuchtreaktion detektierbar machen. Luziferase-Reporter kombinieren jeweils den Promotor eines Pluripotenz-vermittelnden Gens mit dem Gen für das Enzym Luziferase, das bei der Zugabe von Luziferin eine deutliche Leuchtreaktion auslöst, die sich sehr gut detektieren lässt (Abb. 4). Für das Screening wurden nun alle 250.000 Stoffe einzeln auf alle vier Reporterlinien gegeben und die jeweilige Leuchtreaktion gemessen.

Die Moleküle, die im Screening zu den Top-Treffen gehörten, werden zurzeit in weiteren Experimenten auf ihre Wirksamkeit überprüft. Hierbei steht vor allem die Dynamik der Genaktivierung im Vordergrund. Die Luziferase-Reporter liefern uns hier

Abbildung 3:



(A) Fluoreszenzbilder der Reprogrammierungsgene während der ersten 72 h der Reprogrammierung. Zu jedem dieser Zeitpunkte wurde ein DNA-Expressionsprofil der Zellen erstellt.

(B) Durch Data Mining gewonnenes Netzwerk der wichtigsten Pluripotenz-Gene während der Reprogrammierung.

Grafik: Ying Wang, Max Flöttmann

zeitlich hoch aufgelöste Daten der Antwort der Zellen auf die einzelnen Kandidatenstoffe und ihre Kombination.

Modellierung der beteiligten Prozesse

Die mechanistischen Erkenntnisse über den Reprogrammierungsvorgang sind zurzeit noch sehr begrenzt und es existieren keine umfassenden Modelle, die diesen ausreichend beschreiben würden. Zudem besteht noch immer Unklarheit über die Rolle einzelner Gene, die während der Reprogrammierung überexprimiert werden.

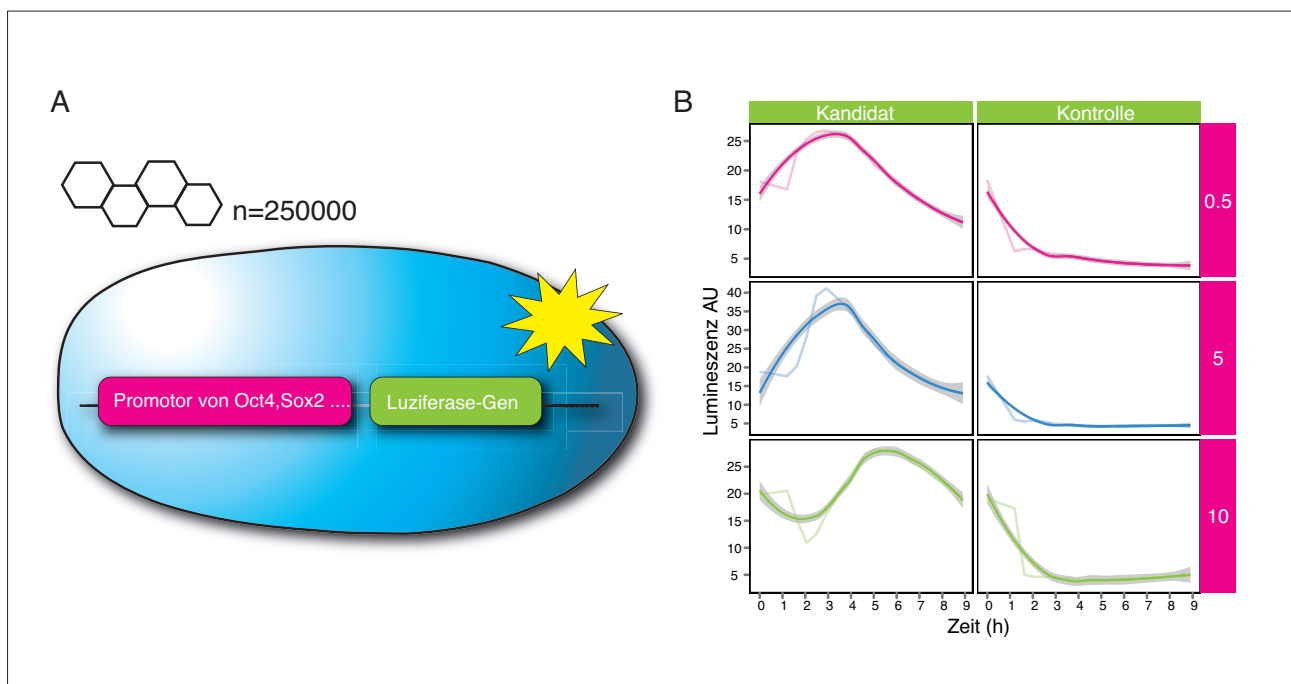
Bei der mathematischen Modellierung bereitet die Datenlage Schwierigkeiten. Die Literatur zu diesem Gebiet ist zwar inzwischen sehr umfassend, aber zum Teil sehr widersprüchlich. Die erste Aufgabe der Modellierer war also eine Bestandsaufnahme der vorhandenen Literatur und die Erstellung eines umfassenden Netzwerks für die spätere Verwendung in mathematischen Modellen der Reprogrammierung. Für diese Aufgabe wurde von der

Firma Genomatix die Software-Applikation GePS erstellt, die im Laufe des Projekts weiterentwickelt und zu einem äußerst hilfreichen Werkzeug wurde.

Die Modellierung der Netzwerke bestand zunächst in einer Booleschen Simulation (die jedem Gen die Werte „exprimiert“ oder „nicht exprimiert“ zuweist, welche entsprechend der logischen Beziehungen im Netzwerk aktualisiert werden) und dem Vergleich mit Daten aus den Expressionsmessungen zu Beginn der Reprogrammierung. Die derzeit laufenden Experimente werden jedoch ausreichend Daten für eine sehr viel detailliertere dynamische Modellierung der Genregulation liefern.

Nur ein besseres Verständnis der dynamischen Prozesse während der Reprogrammierung und die Identifikation der größten Hürden auf diesem Weg ermöglichen eine systematische Verbesserung der Reprogrammierungsmethoden. Die genaue Analyse der Abläufe in den wichtigsten Gennetzwerken der Differenzie-

Abbildung 4:



(A) Funktionsweise des Luciferase-Reportersystems. Vor das Luciferase-kodierende Gen wird der Promotor des zu detektierenden Gens kloniert. Dieses Konstrukt wird in das Genom der Reporterzellen integriert. Auf diese Weise kann die Aktivität des Promotors über die Stärke der Luciferase-Lichtreaktion ermittelt werden. Mit dieser Methode konnten 250.000 Stoffe auf ihren Einfluss auf die Genexpression getestet werden.

(B) Zeitreihen der Luciferase-Messung in Oct4-Reporterzellen. Die Zellen wurden mit einer der im Screening gefundenen Substanzen in unterschiedlichen Konzentrationen (μM) behandelt.

rung und Reprogrammierung gewährt uns einen Einblick in die Dynamik dieser Prozesse, und die Modellierung dieser Abläufe lässt Vorhersagen über Verbesserungen im Reprogrammierungsprozess zu.

Steckbrief Forschungsprojekt:

Projektname: drug-iPS

Das drug-iPS Projekt vereinigt ein Konsortium aus sieben deutschen Arbeitsgruppen und einem externen Industriepartner, gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen der dreijährigen Förderaktivität „Medizinische Systembiologie-MedSys“. Erforscht wird der Einfluss kleiner Moleküle auf die Reprogrammierung somatischer Zellen zu induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS Zellen), um neue therapeutische Ansätze zu entwickeln.

Beteiligte Partner (PI):

Universitätsklinikum Jena, Experimentelle Nephrologie,
Ralf Mrowka;

Max-Delbrück-Zentrum für Molekulare Medizin Berlin,
Miguel A. Andrade-Navarro;

Humboldt-Universität zu Berlin, Theoretische Biophysik,
Edda Klipp;

Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Molekulare Embryologie,
James Adjaye;

Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Institut für Pharmazie
und Molekulare Biotechnologie,

Stefan Wölfl;

Genomatix Software GmbH, München,
Alexander Hahn.

Screening Partner:

European Screening Port GmbH, Hamburg, ESP, (Phil Gribbon
and Sheraz Gul)

Referenzen:

Kiebaso, S. M., Blüthgen, N., Fähring, M., and Mrowka, R. (2010). Targetfinder.org: a resource for systematic discovery of transcription factor target genes. *Nucleic Acids Research* 38, W233–W238.

Mah, N., Wang, Y., Liao, M.-C., *et al.* (2011). Molecular Insights into Reprogramming-Initiation Events Mediated by the OSKM Gene Regulatory Network. *PLoS One* 6, e24351.

Takahashi, K. and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663–676.

Wang, Y., and Adjaye, J. (2010). A Cyclic AMP Analog, 8-Br-cAMP, Enhances the Induction of Pluripotency in Human Fibroblast Cells. *Stem Cell Reviews*.

Wang, Y., Mah, N., Prigione, A., Wolfrum, K., Andrade-Navarro, M. A., and Adjaye, J. (2010). A Transcriptional Roadmap to the Induction of Pluripotency in Somatic Cells. *Stem Cell Reviews*.

Kontakt:

Prof. Dr. med. Ralf Mrowka

Experimentelle Nephrologie

Universitätsklinikum Jena, KIM III

ralf.mrowka@med.uni-jena.de

Dr. James Adjaye

Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik,

AG Molekulare Embryologie

adjaye@molgen.mpg.de

Dr. Max Flöttmann

Theoretische Biophysik – Humboldt-Universität zu Berlin

max.floettmann@biologie.hu-berlin.de

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Nennen Sie die Vorteile des Einsatzes von reprogrammierten Körperzellen.
2. Stellen Sie das Grundprinzip der Zell-Reprogrammierung dar und erklären Sie kurz, was man unter dem „Yamanaka-Cocktail“ versteht.
3. Beschreiben Sie kurz die Vorgehensweise bei diesen Experimenten und geben Sie die Rolle der Luziferase-Reporter an.

2.5 Wie Blut entsteht

Modellierung von Differenzierungsdynamiken der Blutbildung auf mehreren Skalen

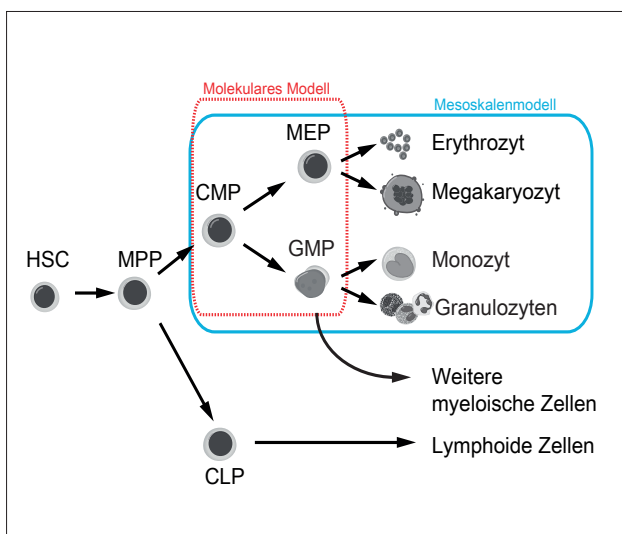
von Carsten Marr und Fabian J. Theis

In einem gesunden Erwachsenen werden täglich fast eine Billion Blutzellen produziert. Welche Prozesse ermöglichen die robuste Erneuerung des Blutes, ohne dass es zu kritischen Ungleichgewichten zwischen den mehr als 20 bekannten Blutzelltypen kommt? Die adäquate Beschreibung solcher Zellentscheidungen auf molekularer Ebene ist eine große offene Frage der Wissenschaft, deren Beantwortung stark von der räumlich-zeitlichen Skala, den möglichen Beobachtungsgrößen und natürlich den Zielen eines systembiologischen Modelles abhängt. Wir interessieren uns hier für Zelldifferenzierungsprozesse, die typischerweise Stunden bis Tagen dauern. Dazu wählen wir einen Zugang, der einerseits auf das genregulatorische Netzwerk (GRN) mehrerer Zelldifferenzierungsstufen führt, und andererseits die molekulare Dynamik einzelner Zellen während einer Linienentscheidung beschreibt.

Die Blutbildung (Hämatopoese): Dynamik und Gleichgewicht vereint in Perfektion

Unser Blut befindet sich in einem erstaunlich stabilen dynamischen Gleichgewicht. Ständig werden alte Zellen durch neue ersetzt, wobei das Zahlenverhältnis der reifen Zellen zueinander gewahrt bleibt. Gleichzeitig ist das System flexibel, um auf Veränderungen wie große körperliche Anstrengung oder eine Infektion angemessen zu reagieren. Wie entsteht dieses stabile Gleichgewicht? Einen Erklärungsansatz bietet ein hierarchisches Entscheidungsmodell (Orkin und Zon, 2008), das Paradigma der Blutstammzellendifferenzierung (siehe Abb. 1). Schrittweise spezifiziert sich demnach eine Stammzelle über mehrere Differenzierungsschritte und Vorläuferstadien (MPP, CLP, CMP, MEP, GMP in Abb. 1) hinweg bis hin zu den reifen Zellen des Blutesystems. So kann sich eine myeloische Vorläuferzelle (CMP) in die im Knochenmark reifenden Erythrozyten, Makrophagen, Monozyten und Granulozyten ausdifferenzieren. Ist das Gleichgewicht der Entscheidungen durch veränderte Eigenschaften der Vorläuferzellen gestört, sind Erkrankungen des Blutesystems, eine Leukämie oder Anämie, die Folge.

Abbildung 1: Das hierarchische Entscheidungsmodell der Blutstammzellendifferenzierung



Ausgehend von der hämatopoetischen Stammzelle (HSC) entstehen über mehrere Vorläufer-Zellstadien (MPP: multipotent progenitor, CLP: common lymphoid progenitor, CMP: common myeloid progenitor, MEP: megakaryocytic and erythroid progenitor, GMP: granulocyte macrophage progenitor) alle reifen Zellen des Blutesystems. Je tiefer im Differenzierungsbaum sich ein Zelltyp befindet, desto eingeschränkter ist sein Potential, sich in verschiedene Zelltypen auszuprägen. Die Zellen der myeloischen Linie (Erythrozyten, Makrophagen, Monozyten und Granulozyten) werden im Knochenmark gebildet und haben eine gemeinsame Vorläuferzelle (CMP). Wir betrachten verschiedene Aspekte der Differenzierung auf zwei Beschreibungsskalen: Die Stabilität des myeloischen Teilbaums mit einem Mesoskalenmodell und die Details einer einzelnen Linienentscheidung mit einem molekularen Modell.

(Quelle: Carsten Marr & Fabian Theis, verändert nach

A. Rad/Wikimedia unter Lizenz CC BY-SA 3.0)

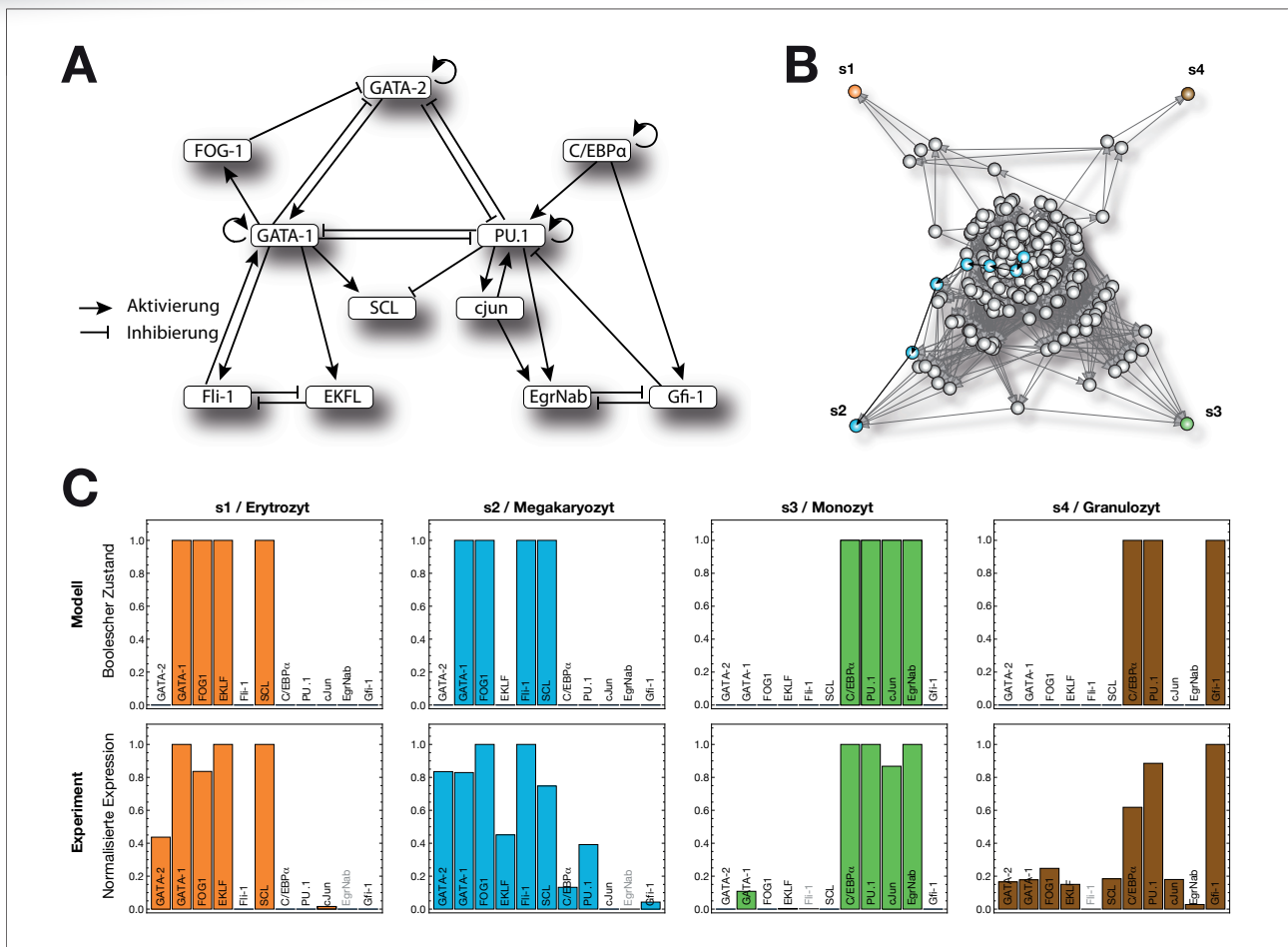


Abbildung 2: Mesoskalenmodell der myeloischen Differenzierung

(A) Genregulatorisches Netzwerk (GRN) von 11 Transkriptionsfaktoren, die an der myeloischen Differenzierung beteiligt sind. Auswahl der Faktoren und ihre gegenseitige Regulation (Aktivierung oder Inhibierung) basiert auf Literatur, Meta-Datenbanken, und biologischer Expertise. (B) Das Zustandsnetzwerk des GRNs ergibt sich durch Implementierung einer Booleschen Dynamik mit einem Anfangszustand, der einer myeloischen Vorläuferzelle (CMP in Abb. 1) entspricht. Eine mögliche Trajektorie des Systems ist farblich hervorgehoben. (C) Die Booleschen Zustände (0 oder 1) der 11 Faktoren in den vier Attraktoren des Zustandsnetzwerks entsprechen den mRNA Profilen aus zwei Expressionsstudien (Quelle: Krumsiek *et al.*, 2011).

Erfassung der Differenzierung über ein Mesoskalenmodell

Mit einem Mesoskalenmodell, also einem Modell, das zwischen 10 und 100 Komponenten umfasst, versuchen wir die Stabilität des myeloischen Teils des Differenzierungsbaus in Abb. 1 zu verstehen. Wir fragen uns dabei, welches regulatorische Netzwerk zur Ausprägung der genau vier reifen Zelltypen der myeloischen Linie führt.

Ein Netzwerk besteht aus Knoten und Kanten. Die Knoten sind in unserem Fall Transkriptionsfaktoren, also Proteine, die an die DNA anderer Gene binden und so deren Genexpression aktivieren oder inhibieren. Reguliert ein Transkriptionsfaktor die Expression eines anderen, entsteht im GRN eine Kante.

Welche Transkriptionsfaktoren sind an der myeloischen Differenzierung beteiligt? Und wie regulieren sie sich gegenseitig?

Um diese beiden Fragen zu beantworten haben wir, basierend auf existierenden Forschungsarbeiten, Meta-Datenbanken und der Expertise unserer biologischen Partner, 11 Transkriptionsfaktoren ausgewählt, die bekanntermaßen in Differenzierungsprozessen im myeloischen Teilbaum beteiligt sind. Die gegenseitige Regulation der Faktoren wurde ebenfalls aus der Literatur abgeleitet und so das GRN der myeloischen Differenzierung konstruiert (Abb. 2A).

Um zu testen, ob dieses Netzwerk imstande ist, die vier reifen Zelltypen der myeloischen Linie zu erzeugen, müssen wir eine Dynamik auf dem Netzwerk implementieren, die der realen Differenzierung ähnelt. In unserer Arbeit haben wir uns für eine Boolesche Dynamik entschieden. Dabei werden die Zustände eines Faktors mit aktiv/inaktiv (oder 0/1) beschrieben. Dies erlaubt eine grobkörnige Beschreibung des System, die uns aus zwei

Gründen angemessen erscheint: Zum einen entspricht dies dem biologischen Wissen über die Aktivität vieler Faktoren („Gen x ist aktiv in Zelltyp y “), zum anderen ist unser Modell damit bis auf die Bestimmung der Booleschen Regeln, die wir wieder aus der Literatur ableiten, parameterfrei.

Wir starten die Boolesche Dynamik in einem Zustand, der dem der myeloischen Vorläuferzelle (CMP in Abb. 1) entspricht. In jedem Zeitschritt kann sich dieser in einen anderen Zustand gemäß der Booleschen Regeln verändern. Da wir jeden Knoten einzeln aktualisieren, ergeben sich für jeden Zustand mehrere mögliche Folgezustände. Wenn wir nun die Zustände des Systems mit Knoten und die Übergänge mit Kanten visualisieren, entsteht wiederum ein Netzwerk, das Zustandsnetzwerk unseres Modells (Abb. 2B). Dieses Netzwerk hat zwei bemerkenswerte Eigenschaften. Zum einen besitzt es genau vier Attraktoren, also Zustände ohne Folgezustände. Zum anderen ist es azyklisch, d. h. jede Dynamik landet schließlich immer in einem der vier Attraktoren. Eine exemplarische Trajektorie ist in Abb. 2B farblich hervorgehoben. Um unser Modell zu validieren, haben wir die Booleschen Zustände unserer Faktoren in den Attraktoren mit den mRNA-Profilen der vier reifen myeloischen Zelltypen verglichen. Abb. 2C zeigt die sehr gute Entsprechung der Modellvorhersage mit den Daten.

Unser Mesoskalenmodell kann also das Differenzierungspotential einer myeloischen Vorläuferzelle rekonstruieren. Verwenden können wir es, um den Einfluss dysfunktionaler Faktoren vorherzusagen und um Transdifferenzierungsstrategien (also die gezielte Verwandlung eines Zelltyps in einen anderen) zu simulieren (Krumisiek *et al.*, 2011).

Ein molekulares Modell erklärt das Funktionsprinzip von Genschaltern

Neben der Stabilität der Differenzierungsdynamik interessiert uns der molekulare Mechanismus, der zu einer Linienentscheidung führt. Das zentrale Motiv für diese Entscheidung ist die gegenseitige Inhibition zweier Transkriptionsfaktoren, welches auch als Genschalter bezeichnet wird. Dieses Motiv taucht in unserem Mesoskalenmodell gleich viermal auf (siehe z. B. PU.1 vs. GATA-1 in Abb. 2A). Wollen wir die Dynamik eines solchen Schalters im Detail verstehen, müssen wir die Beschreibungs-

skala ändern: Von dem grobkörnigen Booleschen Netzwerk zu einem Modell, das die Expressionsstärke der einzelnen Gene einbezieht. Wir haben für das molekulare Modell eines Genschalters eine stochastische Beschreibung gewählt, in dem der Einfluss der Abfolge der Einzelreaktionen berücksichtigt wird (Strasser *et al.*, 2012). Motiviert wird diese Wahl zum einen von Arbeiten, die zeigen, dass die Zufälligkeit der Einzelreaktionen die beobachteten Proteinzahlen besser beschreiben kann als kontinuierliche Modelle, zum anderen durch die Beobachtung kleiner mRNA Zahlen, wodurch der Einfluss der Zufälligkeit der Reaktionsabfolge steigt.

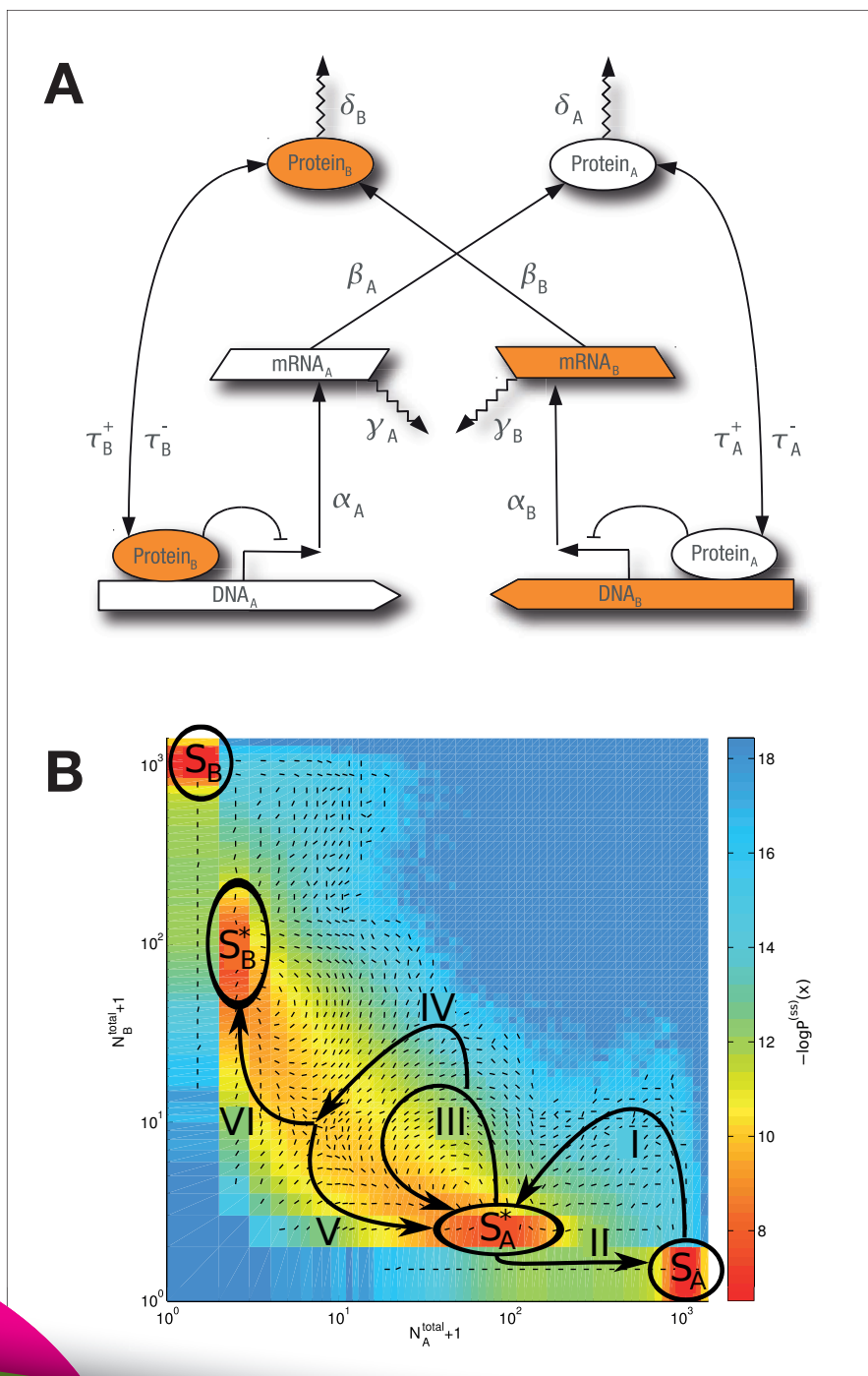
Unser molekulares Schaltermodell ist in Abb. 3A dargestellt: Es berücksichtigt Transkription, Translation, Zerfall und Proteinbindung als einzelne Reaktionen, die jeweils durch einen Parameter, die Reaktionsrate, charakterisiert sind. Neu an unserer Beschreibung ist die Einbeziehung der mRNA, die in den bisherigen Modellen ignoriert wurde. Abb. 3B zeigt den Zustandsraum des Modells, wobei auf den beiden Achsen die Menge der Proteine der beiden sich gegenseitig inhibierenden Faktoren angetragen ist. Man erkennt farblich kodiert vier Bereiche mit großen Aufenthaltswahrscheinlichkeiten des Systems, die wir in Analogie zum Mesoskalenmodell als Attraktoren bezeichnen. Starten wir unser System in einem beliebigen Anfangszustand, so wird es nach einiger Zeit in einem der vier Attraktoren landen. Im Gegensatz zu bisherigen Modellen zeigt unser Modell eine Attraktorstruktur, die sich mit dem biologischen Konzept des „Lineage priming“, also der Vorbestimmung von Vorläuferzellen in eine bestimmte Differenzierungsrichtung, deckt. Befindet sich das System in einem der beiden vorbestimmten Zustände S_A^* oder S_B^* mit relativ kleinen Proteinzahlen, so entspricht dies einer noch unentschiedenen Vorläuferzelle mit einer Tendenz in eine bestimmte Differenzierungsrichtung. Erst durch den Übergang in einen der Attraktoren mit großen Proteinzahlen (S_A oder S_B) entscheidet sich die Vorläuferzelle endgültig für eine bestimmte Richtung. Die Entscheidung, so nehmen wir an, wird dann durch die Aktivierung von linienspezifischen Genen stabilisiert, die durch die große Zahl der Proteine des Schalters aktiviert werden.

Ausblick: Anpassung der Modelle an die natürliche Komplexität

Die Modellierung der myeloischen Differenzierungsentscheidung auf verschiedenen Skalen ermöglicht unterschiedliche Einblicke in die jeweiligen molekularen Prozesse. Mit dem Mesoskalenmodell können wir einerseits versuchen, generelle Architekturprinzipien solcher genregulatorischer Netzwerke (GRN) zu entdecken und eventuell zu verallgemeinern. Offensichtlich ist nicht nur die tatsächliche Differenzierung, sondern auch das zugrunde liegende Netzwerk hierarchisch aufgebaut:

Das Modell koppelt zunächst den PU.1 vs. GATA-1 Schalter mit zwei detaillierteren Schaltern in einer tieferen Schicht. Gegenwärtig simulieren wir ein großes Ensemble von möglichen Netzwerken mit vier stabilen Zuständen, um zu verstehen, welche Robustheitseigenschaften eines solchen hierarchischen Systems notwendig waren, um einen evolutionären Vorteil zu gewinnen. Außerdem wollen wir unser Modell um weitere myeloische Zellen und den lymphoiden Ast der Hämatopoese erweitern, um krankhafte Veränderungen des Gesamtsystems umfassend zu beschreiben.

Abbildung 3: Das molekulare Modell eines Genschalters



(A) Wir beschreiben die gegenseitige Inhibition zweier Faktoren mit einem zweistufigen Genexpressionsmodell: Die DNA des Faktors A wird in eine mRNA abgelesen, die zerfallen oder in ein Protein A übersetzt werden kann. Auch das Protein zerfällt mit einer gewissen Rate, es kann aber auch an die DNA des Gegenspielers B binden und dort die Transkription hemmen. Die Prozesse sind spiegelbildlich für den Faktor B, was zu einem Genschalter führt: Entweder das eine oder das andere Protein wird produziert und unterdrückt seinen Gegenspieler (Quelle: Strasser *et al.*, 2012).

(B) Der Zustandsraum des Modells zeigt vier Bereiche erhöhter Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Diese Bereiche lassen sich biologisch als Zustände der Vorläuferzelle mit bestimmter Linientendenz (S_A^* und S_B^*) bzw. als entschiedene Zustände mit weiter eingeschränktem Differenzierungspotential (S_A oder S_B) deuten (Quelle: Strasser *et al.*, 2012).

Das Kernmotiv des oben beschriebenen GRNs ist der Genschalter. Dieses regulatorische Motiv haben wir auf molekularer Ebene durch ein stochastisches System beschrieben und analysiert. Wir konnten sehen, dass kleine mRNA-Zahlen zu vorentschiedenen Zuständen führen. In echten Stammzellendifferenzierungsbäumen, die wir aus zeitaufgelöster Mikroskopie in enger Zusammenarbeit mit der experimentellen Gruppe von Timm Schroeder am Helmholtz Zentrum München erheben und quantifizieren, bestätigen sich solche Eigenschaften – in der Tat beobachten wir häufig eine äußerst frühe Entscheidung, die dann zu homogenen Bäumen einzelner Zelltypen führt (Marr *et al.*, 2012). In der Zukunft werden wir solche Entscheidungsprozesse über mehrere Zellzyklen hinweg in unsere Modelle einbauen, um die gemessenen Differenzierungsbäume adäquat zu beschreiben.

Steckbrief Forschungsprojekt:

Das Projekt ist im Rahmen des Netzwerks CoReNe (Control of Regulatory Networks) der Helmholtz-Allianz Systembiologie entstanden und wird durch das Schwerpunktprogramm 1356 (Pluripotency and Cellular Reprogramming) der DFG unterstützt.

Weitere Informationen:

<http://cmb.helmholtz-muenchen.de>

<http://www.helmholtz-muenchen.de/en/scd>

Beteiligte Partner:

Felix Buggenthin, Jan Krumsiek, Philipp Hoppe, Timm Schroeder, Michael Schwarzfischer, Michael Strasser

Beteiligte Institute:

Institut für Bioinformatik und Systembiologie & Research Unit Stem Cell Dynamics, Helmholtz Zentrum München

Referenzen:

Krumsiek, J., Marr, C., Schroeder, T., and Theis, F. J. (2011). Hierarchical differentiation of myeloid progenitors is encoded in the transcription factor network. *PLoS ONE*, 6(8):e22649.

Marr, C., Strasser, M., Schwarzfischer, M., Schroeder, T., and Theis, F. J. (2012). Multi-scale modeling of GMP differentiation based on single-cell genealogies. *FEBS Journal*, ICSB 2011 edition, In press.

Orkin, S. H. and Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*, 132(4):631–644.

Strasser, M., Theis, F. J., and Marr, C. (2012). Stability and multiattractor dynamics of a toggle switch based on a two-stage model of stochastic gene expression. *Biophysical Journal*, 102(1):19–29.

Kontakt:



Prof. Dr. Dr. Fabian Theis

Leiter des „Institute of Computational Biology“ (ICB) am Helmholtz Zentrum München & Professor für Mathematik und Systembiologie
TU München
fabian.theis@helmholtz-muenchen.de



Dr. Carsten Marr

Leiter der Arbeitsgruppe „Single Cell Dynamics“ am „Institute of Computational Biology“ (ICB)
Helmholtz Zentrum München
carsten.marr@helmholtz-muenchen.de

ARBEITSAUFTRÄGE

1. Wiederholen Sie die Blutbildung und die Zusammensetzung des Blutes.
2. Stellen Sie mögliche Ursachen für die Entstehung der Leukämie bzw. Anämie dar.
3. Erläutern Sie mögliche Vorteile des Mesoskalenmodells.
4. Diskutieren Sie in der Gruppe die Abb. 3A: Das molekulare Modell eines Genschalters.

3. Interview mit Prof. Dr. Dr. Fabian J. Theis

Leiter des Instituts für Computational Biology am Helmholtz Zentrum München

Nach seinem mit Auszeichnung bestandenen Abitur am Gregor-Mendel Gymnasium in Amberg studierte Fabian Theis Mathematik und Physik an der Fernuni Hagen und der Universität Regensburg, promovierte dort 2002 in Biophysik sowie 2003 in Informatik in Granada, Spanien. Er habilitierte sich 2008 in Physik und ist seit seinem 33. Lebensjahr Professor für „Mathematik in der Systembiologie“ an der Technischen Universität München (TUM). Seit 2013 ist Fabian Theis Ordinarius für Biomathematik an der TUM und leitet das Institut für *Computational Biology* am Helmholtz Zentrum München.

Seine Forschungsinteressen umfassen dynamische Modellierungen molekularbiologischer Prozesse, Biostatistik und Netzwerkanalysen, statistische Signalverarbeitung und biomedizinische Datenanalyse. Systembiologisch forscht er mit seinem Team u. a. an Stammzellen, um die Verknüpfung von phänotypischem Verhalten und den zugrunde liegenden molekularen Prozessen zu erklären.

Fabian Theis lebt in München und ist Vater von drei Kindern.

Systembiologie.de: Herr Theis, Sie haben Ihre wissenschaftliche Karriere früh und sehr zielstrebig in die Hand genommen und sind mit 33 Jahren einer der jüngsten Professoren Deutschlands geworden! Was waren Schlüsselerlebnisse auf Ihrem Weg zur Systembiologie? Oder anders gefragt, welche Erfahrungen in der Schule und/oder im Studium haben Sie als Mathematiker und Physiker zur Erforschung biologischer Systeme angeregt?

Theis: Ehrlich gesagt hatte ich in der Schule nie viel mit Biologie am Hut; ich hatte mich aber schon immer für Algorithmen interessiert – beispielsweise wie kann man am Computer ein

Zufallslabyrinth erzeugen oder einen Gegner für Vier-Gewinnt programmieren – und habe dann am Ende meines Studiums angefangen, mich mit maschinellem Lernen zu beschäftigen.

Ein Schlüsselerlebnis war, als ich erkannt habe, wie man mit diesen Methoden ganz leicht Probleme lösen kann, zu denen ich vorher absolut keinen Zugang gefunden habe: In der Schule gab's mal einen Informatikwettbewerb, in dem wir ein Programm zur Erkennung von handgeschriebenen Postleitzahlen entwickeln sollten; ich versuchte das mit vielen Detailabfragen. Im *Machine Learning* aber zeigt man dem Klassifikationsalgorithmus einfach viele Beispiele und er erlernt diese Muster automatisch und viel besser.

Um sinnvolle Methodenerweiterungen zu finden und Relevanz aufzuzeigen, wuchs dann mein Interesse an biomedizinischen Anwendungen. Irgendwann habe ich dann gemerkt, dass man mit Fokus auf nur ein Anwendungsgebiet mehr Impact erzielen kann; auch kann man das den Kindern daheim leichter erklären.

Systembiologie.de: In dem in *systembiologie.de* von Carsten Marr und Ihnen 2012 veröffentlichten Artikel „**Wie Blut entsteht**“ (**Theis und Marr, 2012; in diesem Heft Seite 37**) werden die molekularen Ursachen, die zur Differenzierung der Stammzelle bis zu den reifen Zellen des Blutsystems führen, beschrieben. Welche neuen Erkenntnisse sind in den letzten zwei Jahren hinzugekommen und inwiefern sind diese Erkenntnisse wichtig?

Theis: In unserer Arbeit und dem angesprochenen Artikel wird die Differenzierung verschiedener Blutzellen mit einem sehr groben Modell beschrieben, einem sogenannten Booleschen Netzwerk, in dem jedes Gen entweder aus oder an ist. Das entspricht natürlich nicht der biologischen Realität, ist aber ein wichtiger Abstraktionsschritt, wenn man das Zusammenwirken vieler Gene verstehen will. Wir haben in den letzten Jahren intensiv daran gearbeitet, einzelne Differenzierungsentscheidungen besser zu verstehen, und zwar auf der Skala einzelner



Prof. Dr. Dr. Fabian J. Theis – Leiter des Instituts für Computational Biology am Helmholtz Zentrum München (Foto: Michael Haggemueller).

Zellen. Dazu analysieren wir zum einen die Expressionslevel vieler Gene in einzelnen Zellen, also die Menge an mRNA, die in verschiedenen Blutzellen vorliegt, und zum anderen die Menge von Proteinen über die Zeit. Überrascht hat uns dabei die große Heterogenität, also Vielfalt an Expression in einer Population einzelner Zellen. Trotz dieser Vielfalt sind ja die verschiedenen Typen von Blutzellen sehr stabil.

Systembiologie.de: Beim Testen, ob das aus elf Transkriptionsfaktoren bestehende Genregulatorische Netzwerk (GRN) imstande ist, die Zelltypen der myeloischen Linie zu erzeugen, wurde eine Boolesche Dynamik implementiert, die der realen Differenzierung von Blutzellen im Körper ähnelt. Wie kann man das den Schülern verständlich erklären?

Theis: Boolesche Dynamik zu erklären ist eigentlich sehr einfach. Um die zwei Grundprinzipien klarzumachen, spielen wir mit Studenten oder Schülern gern ein Boolesches Netzwerk nach: Jeder Mitspieler ist ein Knoten im Netzwerk und verhält sich entsprechend der vereinbarten Regel. Man steht also z. B. auf, wenn mehr als zwei seiner Nachbarn stehen, und setzt sich wieder hin, wenn mehr als 4 Nachbarn stehen. So lassen sich verschiedene Regeln, die Systemdynamik, und die Attraktoren eines Booleschen Netzes, also die Zustände in denen sich ein System nicht mehr ändert, leicht illustrieren.

Systembiologie.de: Mit einem Mesoskalenmodell der myeloischen Differenzierungsentscheidung, also einem Modell, das die Stabilität des myeloischen Teilbaumes der Blutentstehung beschreibt, möchten Sie erforschen, welche Transkriptionsfaktoren im regulatorischen

Netzwerk zur Ausprägung der genau vier Zelltypen der myeloischen Linie führen. Wie in Ihrem Artikel angeführt, wollen Sie Ihr Modell um weitere myeloische Zellen und den lymphoiden Ast der Blutentstehung erweitern, um krankhafte Veränderungen des Gesamtsystems, z. B. bei Leukämie oder Anämie umfassend zu beschreiben. Auf welche Veränderungen kommt es Ihnen explizit an und welche neuen Forschungsergebnisse dazu können Sie erläutern?

Theis: Unsere Forschung ist fast immer datengetrieben, d. h. wir versuchen mit unseren Modellen die gemessenen biologischen Daten zu verstehen. Wie eben gesagt, haben wir uns in den letzten Jahren ganz besonders für die Expressionsdaten von Einzelzellen interessiert. Die Menge an mRNA oder Proteinen schwankt aber oft sehr stark zwischen Zellen, was daran liegt dass die chemischen Reaktionen in den Zellen nicht synchronisiert ablaufen. So zeigen die Zeitverläufe von Proteinzahlen eine gewisse Zufälligkeit, die man am besten mit sogenannten stochastischen Modellen beschreibt. Anhand der gemessenen Daten versuchen wir derzeit herauszufinden, welche regulatorischen Effekte in der Zelle passieren, also welches Modell die Daten am besten erklärt.

Systembiologie.de: Für das Verständnis, wie sich aus einer Stammzelle z. B. eine Hautzelle oder auch eine Krebszelle entwickeln kann, sind statistische Methoden wesentlich. Unter Ihrer Leitung wurde Anfang des Jahres 2014 publiziert, wie mit Methoden der mathematischen Statistik die Einzelzell-Analyse wesentlich vereinfacht sowie verbessert werden kann. Was ist das Neue an Ihrem Vorschlag?

Theis: Das Problem der Einzeltranskriptomik (also der Quantifizierung der genomweiten Expression der Transkripte) liegt darin, dass die Transkripte durch PCR stark amplifiziert werden müssen, bevor sie gezählt werden können. Dadurch kommen Rauschen und Fehler in die Daten. Zusammen mit unserem experimentellen Partner Kevin Janes, University of Virginia, messen wir stattdessen Transkripte aus mehreren (z. B. 10) Zellen und müssen weniger amplifizieren. Durch entsprechende Statistik (ein sogenanntes Mischmodell) können wir aber die Einzelzellexpression immer noch recht gut berechnen, zum Teil besser und auch günstiger als über Einzelzellexperimente. So konnten wir kleine Subpopulationen entdecken, die wir anders nicht gefunden hätten.

siehe auch <https://portal.mytum.de/pressestelle/faszination-forschung/2014nr14/Faszination-Forschung-June-2014-Edition14.pdf/download>

Systembiologie.de: *Der interdisziplinäre Ansatz war für ihre oben genannten Forschungsergebnisse von entscheidender Bedeutung. Wieso werden Mathematik und Informatik in der biologischen Forschung immer wichtiger, beziehungsweise, was ist der Mehrwert einer interdisziplinären Forschung? Und warum wäre es wichtig, bereits in der schulischen Ausbildung darauf einzugehen?*

Theis: Die heute von den Biologen gemessenen Daten sind im Gegensatz zu den Daten vor – sagen wir – 15 Jahren sehr komplex. Gleichzeitig wird die Genexpression, der Zustand der DNA und die Konzentration von Metaboliten gemessen. Um diese komplexen, oft sehr großen Datenmengen zu analysieren brauchen wir Computer, statistische Methoden, mathematische Modelle und – ganz wichtig – ein Verständnis für die biologische Fragestellung. Dafür ist es enorm wichtig, dass die Forscher von morgen heute in der Schule die mathematischen, technologischen und biologischen Grundlagen kennenlernen. Und schlussendlich macht es viel Spaß, neu gelernte Methoden

in einem sinnvollen Anwendungsumfeld anzuwenden; und da finde ich die Biologie und Medizin zehnmal spannender als beispielsweise Hochfinanz oder die Wirtschaft.

Systembiologie.de: *Systembiologie ist für interessierte, junge Studienanfänger ein sehr dynamisches und zukunftsweisendes Forschungsfeld. Was würden Sie mit Blick auf Ihre Schulzeit den an der Systembiologie interessierten Schülern und Jungforschern heute raten?*

Theis: Egal, ob sie nach der Schule Biologie, Biotechnologie, Bioinformatik oder Biomathematik studieren wollen, zukünftige Forscher auf diesen Gebieten brauchen zunehmend ein quantitatives Verständnis der erhobenen experimentellen Daten. Das geht nur mit Mathematik, Statistik und Informatik. Mein Rat ist daher, die manchmal vorherrschende Angst vor Methodik abzulegen und zu schauen, wie man gelernte Verfahren praxisnah einsetzen kann. Bei mir ging das früher über Computerspiele, aber da gibt es ja heute ein vielfältiges Angebot an den Unis und im Netz. Meine Kinder ermutige ich beispielsweise zurzeit, sich mit Konzepten der Programmierung auseinanderzusetzen (z. B. <http://hourofcode.com>). Und, besucht uns und unsere Kollegen, wir freuen uns sehr über guten Nachwuchs!

Referenzen:

Marr, C. und Theis F.J. (2012). Wie Blut entsteht - Modellierung von Differenzierungsdynamiken der Blutbildung. *systembiologie.de*, Ausgabe 05, S. 81-85

In diesem Heft auf Seite 37

4. Wo kann ich in Deutschland Systembiologie studieren?

Systembiologie-Ausbildung an deutschen Universitäten

Mit Stand Sommer 2015 gibt es an folgenden Universitäten Systembiologie-Studiengänge

(Mehr Informationen und Kontakte siehe Homepage www.systembiologie.de/de/ausbildung/studiengaenge)

BACHELORSTUDIENGÄNGE SYSTEMBIOLOGIE:

HUMBOLDT-UNIVERSITÄT BERLIN

Name des Studiengangs: Biophysik

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DORTMUND

Name des Studiengangs: Chemische Biologie

UNIVERSITÄT ERLANGEN

Name des Studiengangs: Integrated Life Sciences

UNIVERSITÄT FRANKFURT

Name des Studiengangs: Bioinformatik/Schwerpunkt Systembiologie

UNIVERSITÄT HEIDELBERG

Name des Studiengangs: Molekulare Biotechnologie

UNIVERSITÄT JENA

Name des Studiengangs: Bioinformatik

UNIVERSITÄT MAGDEBURG

Name des Studiengangs: Biosystemtechnik

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Name des Studiengangs: Bioinformatik

UNIVERSITÄT ROSTOCK

Name des Studiengangs: Medizinische Biotechnologie

UNIVERSITÄT TÜBINGEN

Name des Studiengangs: Bioinformatik

Foto: JWavebreakMedia/Micro – Fotolia





Foto: Photonbleu – Fotolia.com

MASTERSTUDIENGÄNGE SYSTEMBIOLOGIE:

HUMBOLDT-UNIVERSITÄT BERLIN

Name des Studiengangs: Biophysik

UNIVERSITÄT BIELEFELD

Name des Studiengangs: Genombasierte Systembiologie (GBSB)

TECHNISCHE UNIVERSITÄT BRAUNSCHWEIG

Name des Studiengangs: Chemische Biologie

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DORTMUND

Name des Studiengangs: Chemische Biologie

TECHNISCHE UNIVERSITÄT DRESDEN

Name des Studiengangs: Molecular Bioengineering

UNIVERSITÄT ERLANGEN

Name des Studiengangs: Integrated Life Sciences

UNIVERSITÄT FRANKFURT

Name des Studiengangs: Bioinformatik/Schwerpunkt Systembiologie

UNIVERSITÄT FREIBURG

Name des Studiengangs: Angewandte Biowissenschaften innerhalb Studiengang Master of Science Biologie

UNIVERSITÄT GIESSEN

Name des Studiengangs: Bioinformatik und Systembiologie

TECHNISCHE UNIVERSITÄT HAMBURG-HARBURG

Name des Studiengangs: Systembiologie/Synthetische Biologie innerhalb Studiengang Bioverfahrenstechnik

UNIVERSITÄT HEIDELBERG

Name des Studiengangs: Molecular Biosciences, Major Systems Biology

UNIVERSITÄT JENA

Name des Studiengangs: Bioinformatik

UNIVERSITÄT JENA

Name des Studiengangs: Molecular Life Sciences

UNIVERSITÄT KÖLN

Name des Studiengangs: Biological Sciences

UNIVERSITÄT MAGDEBURG

Name des Studiengangs: Biosystemtechnik

UNIVERSITÄT MAGDEBURG

Name des Studiengangs: Molekulare Biosysteme

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Name des Studiengangs: Bioinformatik

UNIVERSITÄT POTSDAM

Name des Studiengangs: Bioinformatik

UNIVERSITÄT ROSTOCK

Name des Studiengangs: Computational Science and Engineering und Medizinische Biotechnologie

UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

Name des Studiengangs: Biotechnologie

UNIVERSITÄT STUTT GART

Name des Studiengangs: Systembiologie innerhalb Diplomstudiengang Technische Kybernetik

UNIVERSITÄT TÜBINGEN

Name des Studiengangs: Bioinformatik

GRADUIERTENSCHULEN SYSTEMBIOLOGIE/SYSTEMBIOLOGIE-AUSTAUSCH-PROGRAMME:

BERLIN INSTITUTE FOR MEDICAL SYSTEMS BIOLOGY (BIMSB) AM MAX DELBRÜCK ZENTRUM BERLIN-BUCH

Name des Programms: Joint PhD Exchange Program in Medical Systems Biology with Center for Genomics and Systems Biology New York University

BACHELOR- UND MASTERSTUDIENGÄNGE SYNTHETISCHE BIOLOGIE:

UNIVERSITÄT FREIBURG

Name des Studiengangs: Bachelor integriert in den Studiengang Biologie

UNIVERSITÄT FREIBURG

Name des Studiengangs: Master Synthetische Biologie

Impressum

systembiologie.de – scholae

Die vorliegende Broschüre wurde zur Vermittlung der neuen Disziplin „Systembiologie“ an Schüler entwickelt und ist eine Ausgabe von systembiologie.de – dem populärwissenschaftlichen Magazin für Systembiologieforschung in Deutschland. Die Publikation, die als Informations- und Arbeitsmaterial einen Beitrag zur forschungsnahen Unterrichtsgestaltung leisten kann, entstand insbesondere auf der Grundlage von ausgewählten Forschungsbeiträgen aus dem Magazin systembiologie.de in enger redaktioneller Zusammenarbeit mit StDn Helga Fenz und Prof. Dr. Günter Lange von Gläsernen Labor Berlin-Buch sowie Ulrike Conrad, Dr. Cornelia Depner, Benjamin Kachel und Dr. Julia Ritzerfeld von der systembiologie.de-Redaktion. Die Redaktion bedankt sich für die überaus engagierte fachliche und didaktische Unterstützung.

HERAUSGEBER & REDAKTION

Helmholtz Gemeinschaft, Querschnittsthema Systembiologie und Synthetische Biologie

Koordination: Prof. Dr. Roland Eils

Wissenschaftliches Projektmanagement:

Ulrike Conrad, Dr. Cornelia Depner, Dr. Jan Eufinger, Dr. Julia Ritzerfeld

c/o Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ) Heidelberg

Abteilung Theoretische Bioinformatik – B080

Im Neuenheimer Feld 580; D-69120 Heidelberg

Email: j.eufinger@dkfz.de, c.depner@dkfz.de, j.ritzerfeld@dkfz.de

www.eislabs.de



Projekträger Jülich

Forschungszentrum Jülich GmbH

Lebenswissenschaften, Gesundheit, Fachhochschulen (LGF)

Ansprechpartner:

Dr. Gisela Miczka und Dr. Yvonne Pfeiffenschneider:

Molekulare Lebenswissenschaften (LGF-2)

52425 Jülich

Email: g.miczka@fz-juelich.de, y.pfeiffenschneider@fz-juelich.de

www.ptj.de



AUSWAHL DER FORSCHUNGSBEITRÄGE, RECHERCHEN UND REDAKTIONELLE ERARBEITUNG UND UNTERSTÜTZUNG DER KAPITEL 1. – 2.3 SOWIE DER INTERVIEW-FRAGEN:

StDn Helga Fenz, Dr. Ullrich Scheller und Prof. Dr. Günter Lange

Gläsernes Labor

BBB Management GmbH Campus Berlin-Buch

Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin-Buch

www.glaesernes-labor.de

Gläsernes Labor

Ulrike Conrad, Dr. Cornelia Depner, Prof. Dr. Roland Eils, Benjamin Kachel und Dr. Julia Ritzerfeld, DKFZ Heidelberg

www.eilslabs.de

Fachliche Beratung:

Dr. Gisela Miczka, Dr. Yvonne Pfeiffenschneider

www.ptj.de

GESTALTERISCHE KONZEPTION UND UMSETZUNG:

LANGE + PFLANZ Werbeagentur GmbH, Speyer

www.LPsp.de

DRUCK:

Werbedruck GmbH Horst Schreckhase, Spangenberg

www.schreckhase.de

ABOSERVICE

Das Magazin wird aus Mitteln der Helmholtz-Gemeinschaft und des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert und kostenlos abgegeben.

Alle Ausgaben des Magazins systembiologie.de finden Sie auf unserer Homepage www.systembiologie.de/de/start

Wenn Sie die vorliegende Ausgabe von systembiologie.de – scholae beziehen möchten, wenden Sie sich bitte an:

Gläsernes Labor

BBB Management GmbH Campus Berlin-Buch

Robert-Rössle-Str. 10

13125 Berlin-Buch

info@glaesernes-labor.de

Haben wir Ihr Interesse für die Systembiologie geweckt?

Aktuelle Informationen finden Sie auf der Homepage systembiologie.de!



apops - Fotolia

Das erwartet Sie:

- Spannende Geschichten aus dem **Forschungsalltag** – Erfahren Sie mehr über aktuelle Projekte
- Wissenschaftler im **Portrait** – Lernen Sie die **Gesichter** hinter der Forschung kennen
- Umfassende Übersicht über **Ausbildungs- und Studienmöglichkeiten** – Finden Sie Ihren Weg in die Systembiologie

Wir freuen uns auf Ihren Besuch und wünschen allen viel Spaß beim Lesen!



