

Krebsforschung

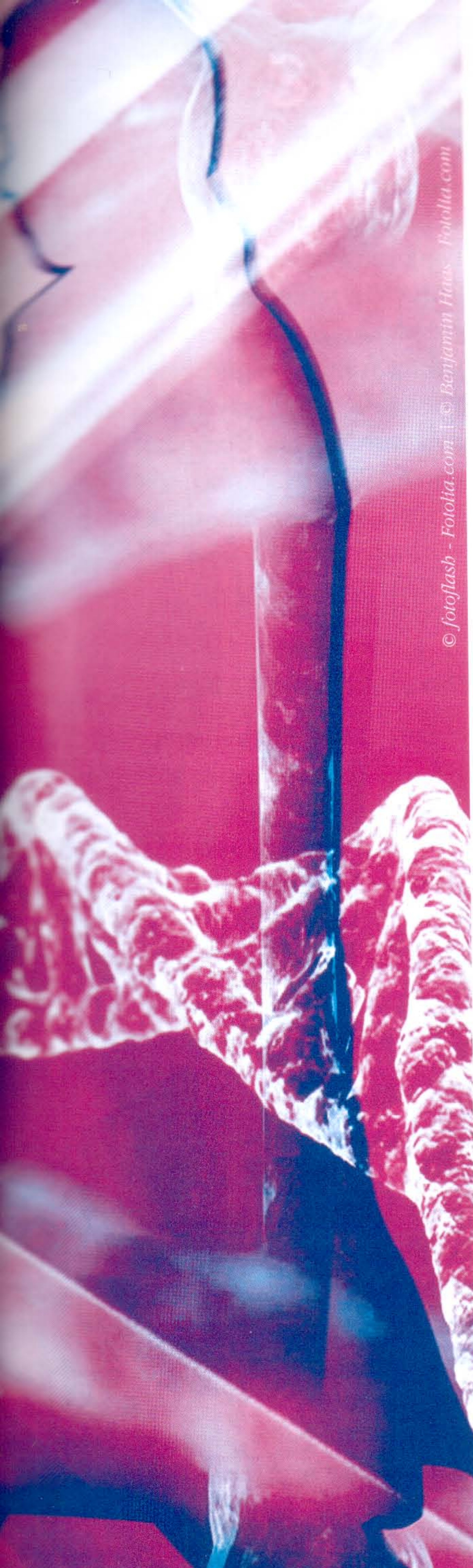


Aufbauend auf der in der Erbsubstanz festgeschriebenen Information sind Studien im Gange, die Konsequenzen der zum Teil unscheinbaren molekularen Unterschiede in DNA und RNA zwischen Normal- und Tumorzellen auf zelluläre Funktionen oder das Funktionieren von Zellverbänden zu erkennen. Durch das Verständnis der Zusammenhänge zwischen grundlegenden molekularen und den daraus resultierenden funktionellen Veränderungen dürfte eine sichere Frühdiagnose und bessere, weil gezielte und effektive Behandlung von vielen Krebserkrankungen möglich werden.

Zelluläreren Übeltätern auf der Spur

Funktionelle Genom- und Proteomanalyse in der Krebsforschung

Dr. Jörg Hoheisel,
Abteilung Funktionelle Genomanalyse,
Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ),
Heidelberg



© fotoflash - Fotolia.com | © Benjamin Haas - Fotolia.com

Wie bei der Verbrechensbekämpfung sind Tumorzellen nicht immer einfach zu fassen und dingfest zu machen. Zum einen verstecken sie sich speziell in frühen Krankheitsstadien unauffällig in der Menge und in unterschiedlicher Umgebung. Zum anderen sind sie, bevor sie in großer Zahl auftreten, häufig nicht unmittelbar an ihrem Verhalten zu erkennen. Erschwerend kommt hinzu, dass sie sich auch untereinander unterscheiden. Funktionelle Studien haben das Ziel, bestimmte Veränderungen auf molekularer Ebene eindeutig mit Variationen der zellulären Funktionen im Tumor zu korrelieren – quasi eine Art Rasterfahndung –, um so präzisere Aussagen treffen zu können und die Übeltäter zu schnappen.

Motivation

Nach der Entschlüsselung der menschlichen Erbsubstanz wurde eine Vielzahl an Biomarkern – Sequenzänderungen der DNA, Variationen in der Aktivität von Genen und Ähnliches mehr – gefunden, die mit dem Auftreten bestimmter Erkrankungen korreliert [1]. Allerdings sind einzelne Veränderungen meist wenig aussagekräftig und für eine klinische Nutzung unzureichend, sprich: Es mangelt an Genauigkeit und Zuverlässigkeit. Um aus der Vielzahl bekannter Veränderungen diejenigen herauszufiltern, die wirklich relevant und spezifisch genug sind, werden ihre Auswirkungen für die Funktion von Zellen und Geweben analysiert. Viele Veränderungen auf molekularer Ebene haben nämlich keine direkte biologische Konsequenz oder sind nur die Folge anderer Vorgänge und nicht die Ursache der Erkrankung.

Automatisierung der Untersuchungen

Während bis vor Kurzem nur wenige molekularbiologische Analyseverfahren im hohen Durchsatz möglich waren, wurden mittlerweile Methoden entwickelt, die auch funktionelle Aspekte an vielen Proben testen können. Damit reicht diese Pipeline weiter als die Analyse der Nukleinsäuren durch Hochdurchsatzsequenzieren, mit dem ein menschliches Genom bald innerhalb von zwei/drei Tagen vollständig entziffert – wenn auch noch nicht vollständig verstanden – sein wird, dem Nachweis von Methylierungs- und damit Strukturänderungen der DNA oder der Aktivität kodierender

und nicht-protein-kodierender Gene durch Mikroarrays. So können beispielsweise die Auswirkungen des Ausschaltens einiger bis aller menschlichen Gene in einem einzigen Experiment bestimmt werden [2]. Auf Proteinebene sind sehr ähnliche Entwicklungen im Gange. Neben der Hochdurchsatz-Analyse von beispielsweise Proteinsequenzen mittels Massenspektrometrie, Messung der Expressionsveränderung durch Antikörper-Mikroarrays und Bestimmung von Strukturänderungen mittels biophysikalischer Methoden liegt ein Fokus zurzeit vor allem auf der Herstellung von Molekülen (etwa Antikörpern), die spezifisch an jedes der in Zellen vorkommenden Proteine und seiner Isoformen binden [3]. Damit können unter anderem gezielt Proteinaktivitäten nachgewiesen oder blockiert werden. Dies wird durch Testverfahren auf funktionelle Konsequenzen wie etwa dem Auftreten eines programmierten Zelltods (Apoptose) oder einer Verstärkung des Zellwachstums komplementiert. Zusätzlich wird es möglich, gleichzeitig physiologische und molekulare Parameter zu messen.

Datenkombination und Modellierung

Aus den vielen Einzelaspekten muss ein gemeinsames Bild der Vorgänge und ihren Zusammenhängen erstellt werden. Damit stoßen die Biologie und molekulare Medizin in Größenbereiche der Datenverarbeitung vor, die bisher der Physik vorbehalten waren, und darüber hinaus. Aus den Daten werden Systemmodelle berechnet, die mit den Fakten kompatibel sein müssen. Diese Modelle werden dann in der experimentellen Realität überprüft und entsprechend angepasst. Diese Entwicklung wird zur weiteren Auftrennung in eine theoretische und experimentelle Biologie beitragen.

Die Grenzen des Machbaren

Trotz aller Fortschritte sind beispielsweise viele zellbiologische Aspekte bei der Modellierung zurzeit noch außen vor. Viele Parameter wie Topologie, Molekülverteilung und andere Aspekte komplexer Zell- oder gar Gewebestruktur sind global noch unzureichend bekannt oder lassen sich nur schwer mit den vorhandenen molekularen Datensätzen verquicken und in Modelle integrieren. Aber auch dort sind die Fort-



Genanalyse auf Mikrochips



Dr. Hoheisel (2. v. r.) und Mitarbeiter begutachten frisches Probenmaterial.

Jörg Hoheisel, geb. 1958 in Bad Nauheim, studierte Molekularbiologie an der Universität Konstanz und promovierte dort im Bereich topologisch induzierter DNA-Strukturen. Mit einem EMBO-Stipendium arbeitete er anschließend zwei Jahre am Imperial Cancer Research Fund in London und verblieb dort drei weitere Jahre als Wissenschaftler auf dem Gebiet der Genomforschung. Im Jahr 1993 wechselte er ans Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg. Zunächst leitete er eine Arbeitsgruppe, aus der fünf Jahre später die Abteilung Funktionelle Genomanalyse hervorging.

Schritte enorm und es wird recht bald zu einer stärkeren Verschmelzung kommen als bisher. Zurzeit liegt der Schwerpunkt der Systembiologie jedoch noch im Bereich des Genoms und Proteoms, sprich der Aktion und Interaktion der Gesamtheit aller Nukleinsäuren als grundlegendem Informationsträger und der Proteine als den wesentlichen Effektormolekülen in den Zellen. Aber selbst diese funktionelle Trennung der Molekülklassen schwimmt mit zunehmendem Kenntnisstand immer mehr. Auch Nukleinsäuren sind biologisch aktive

Moleküle und Proteine können Information speichern.

Auswirkungen auf Diagnose und Therapie

Durch eine Zuordnung von Funktionen lassen sich wichtige und relevante Biomarker von anderen, „nur“ assoziierten Veränderungen unterscheiden. Damit steigt die Wahrscheinlichkeit, dass ein Biomarker zur sicheren Diagnosestellung ausreicht oder einer Therapie zugänglich ist. Gleichzeitig

kann durch eine gemeinsame Analyse von molekularen Ebenen die Sicherheit der Aussage nochmals überprüft und damit noch sicherer gemacht werden. Mit Kenntnis der Funktion können durch Modellierung auch frühe Veränderungen während der Tumorentwicklung postuliert werden und daneben früher Diagnosestellung auch neue Therapie- oder Präventionsansätze gefunden werden. Ein Überblick über die Funktionen der einzelnen Moleküle und ihre Modifikationen im einzelnen Patienten wird auch erlauben, bestehende Therapien gezielter auszurichten.

Die Kunst des Lebens

Neben der unmittelbaren Umsetzung der gewonnenen Information zur verbesserten Gesundheitsfürsorge wird es durch eine Kombination aus neuen biosynthetischen Methoden und funktionaler Information möglichst, komplexe experimentelle Systeme nachzustellen. Eine zellfreie Biosynthese wird für viele biotechnologischen und pharmakochemischen Herausforderungen immer wichtiger. Ein zweites Ziel ist die Implementierung artifizierender molekularer Systeme. Sie werden in Zukunft bestehende systembiologische Ansätze komplexieren und eine experimentelle Überprüfung von Wirkstoffen im artifizierten System erlauben. Während Ansätze dazu bisher nur auf einfachster Ebene im Bereich einzelner Nukleinsäuresequenzen und Proteine bestehen, mag dies auf lange Sicht die Etablierung eines synthetischen, selbst replizierenden Systems führen mit der langfristigen Perspektive, ein archetypisches Modell einer Zelle zu etablieren.

→ j.hoheisel@dkfz.de

Literatur

- [1] Hoheisel, J.D. (2006). Microarray technology for transcript profiling and genotype analysis. *Nature Rev. Genet.* 7, 200–210.
- [2] Böttcher, M., Fredebohm, J., Moghaddas Ghahramani, Hachmo, Y., Dotan, I., Canaani, D. & Hoheisel, J.D. (2010). Decoding pooled RNAi screens by means of code tiling arrays. *BMC Genomics* 11, 7.
- [3] Taussig, M.J., Stoevesandt, O., Borrebaeck, C., Bruch, A., Cabill, D., Cambillau, C., de Daruzar, A., Eichler, J., Frank, R., Gibson, T., Gloriam, D., Herberg, F., Hermjakob, H., Hoheisel, J.D., Kallioniemi, O., Koegl, M., Konitbur, Z., Kremmer, E., Krobitsch, S., Landegren, U., van der Vliet, S., McCafferty, J., Muyldermans, S., Nygren, P.A., Plüschke, S., Plüschke, A., Polic, B., Przybylski, M., Sawyer, P., Sawyer, A., Sherman, D.J., Skerra, A., Tamm, M., Toffner, M., F. Uhlir, M. (2007). Decoding

