

Systembiologen erörtern Dynamik intrazellulärer Reaktions-Netzwerke

Dr. Astrid Krämer,
Zentrum für Systembiologie, MPI für molekulare Physiologie, Dortmund

Wie lassen sich räumliche Muster miteinander verbundener Signal- und Reaktionskaskaden in der Zelle ermitteln? Kann die erhaltene Information über die Lokalisierung (Topologie) biochemischer Netzwerke und deren dynamische Veränderung im Fließgleichgewicht der Zelle genutzt werden, um Zellfunktionen und -zustände zu beschreiben? Müssen einzelne Moleküle oder Module betrachtet werden, um die zugrundeliegenden zellulären Funktions- und Organisationsprinzipien zu begreifen? Dies sind nur einige Fragestellungen der modernen Systembiologie. Den Fortschritt in so unterschiedlichen Arbeitsfeldern wie etwa der Regulation des RAS-Signalweges durch unterschiedliches Clustering der drei RAS-Varianten, die Bildung biochemischer Gradienten, die zur Kondensation der Mitose-Spindel führen, das Life Cell Imaging funktionell assoziierter Proteine oder die Untersuchung von Einzelzellen dokumentierten hochrangige Experten vom 12. bis 14. Dezember auf dem internationalen Meeting „Dynamics of Intracellular Reaction Networks“ am Zentrum für Systembiologie (ZfS) in Dortmund. Rundum zufrieden zeigte sich Organisator Professor Phillipe Bastiaens (Abt. Systemische Zellbiologie, ZfS am MPI für molekulare Physiologie, Dortmund) mit dem Verlauf der Tagung: „Es war eine sehr erfolgreiche Konferenz mit spannenden Diskussionen.“ Insgesamt 110 Wissenschaftler aus 11 Ländern nahmen an den 19 Vorträgen in fünf Sessions teil und beteiligten sich an den wissenschaftlichen Diskussionen.

Was die große Vielfalt der unterschiedlichen systembiologischen Arbeiten verbindet, brachte der Chair der Session „Dynamik in selbstorganisierenden Systemen“, Dr. Eric

Karsenti (EMBL, Heidelberg) auf den Punkt: „Wir verstehen noch nicht den logischen Zusammenhang hinter der Organisation der Zellen.“ Das Verständnis, welche Prozesse

dazu führen, dass aus dem gleichen Set von Bausteinen verschiedenartige Zellen entstehen, wird dadurch kompliziert, dass biologische Systeme in komplexen Schleifen („looped systems“) organisiert sind, die sich gegenseitig beeinflussen – zum Beispiel etwa, wenn ein exprimiertes Protein auf die DNA-, mRNA und posttranslationale Ebene zurückwirkt.

Zum Verständnis der Prinzipien selbstorganisierender Prozesse – also energieverbrauchender Prozesse, die zu einem höheren Ordnungsgrad in der Zelle führen, wie etwa die Kondensation von Mikrotubuli – ist es erforderlich, die Eigenschaften von Molekülen im Kontext des gesamten Systems zu untersuchen. Dazu muss zunächst das zu untersuchende System identifiziert und definiert werden, so Karsenti. Dann gelte es, seine Komponenten zu finden und deren relevante Interaktionsprozesse zu erfassen. Allerdings wiesen biologische Systeme oft eine „closed logic“ (geschlossene Logik) auf, in der kein Anfang und kein Ende definiert werden könne.

Karsentis Gruppe untersucht die dynamische Veränderung selbstorganisierender Systeme, wie die Kondensation des mitotischen Spindelapparates während der Prophase. Dabei kommen Froschei (Xenopus)-Extrakte zum Einsatz, um stabile, aber zugleich dynamisch veränderliche künstliche Spindeln zu generieren und die Systemkomponenten sowie die Wechselwirkungen zu identifizieren, die den Selbstorganisationsvorgang an der Tubulinspindel steuern. Tatsächlich konnten die EMBL-Forscher bereits eine Reihe Mikrotubuli-assoziiierter Proteine identifizieren, die über die Wechselwirkung mit Tubulin dessen dynamisches Verhalten beeinflussen. Damit sind erste Schritte getan, zytoplasmatische Zustände mit Hilfe biochemischer Parameter zu beschreiben. Aufgrund der nicht intuitiv erfassbaren, emergenten Eigenschaften dieses und anderer Systeme, ist die Kombination solcher biochemischer Forschungsansätze mit der Modellierung des kollektiven Verhaltens der Systemkomponenten besonders wichtig. Karsentis Gruppe entwickelt daher zusammen mit Kollegen auch Simulationen, die helfen werden, solche Systeme zu verstehen.

An Karsentis Vortrag schloss sich eine Diskussion über den Begriff des geschlossenen Systems und darüber an, ob räumliche Proteinverteilungen oder dynamische Unterschiede als Auslöser der Selbstorganisation in Frage kommen. Kritisch hinterfragt wurde auch, ob es möglich ist, ein System *in vitro* komplett aus aufgereinigten Komponenten zu rekonstituieren.

Weitere Beiträge zu selbstorganisierenden Systemen lieferten Frank Jülicher (MPI Dresden), der den Morphogen-Transport und die Bildung von Gradienten beleuchtete. Eberhard Bodenschatz (MPI für biophysikalische Chemie, Göttingen) stellte Mikrofluidik-

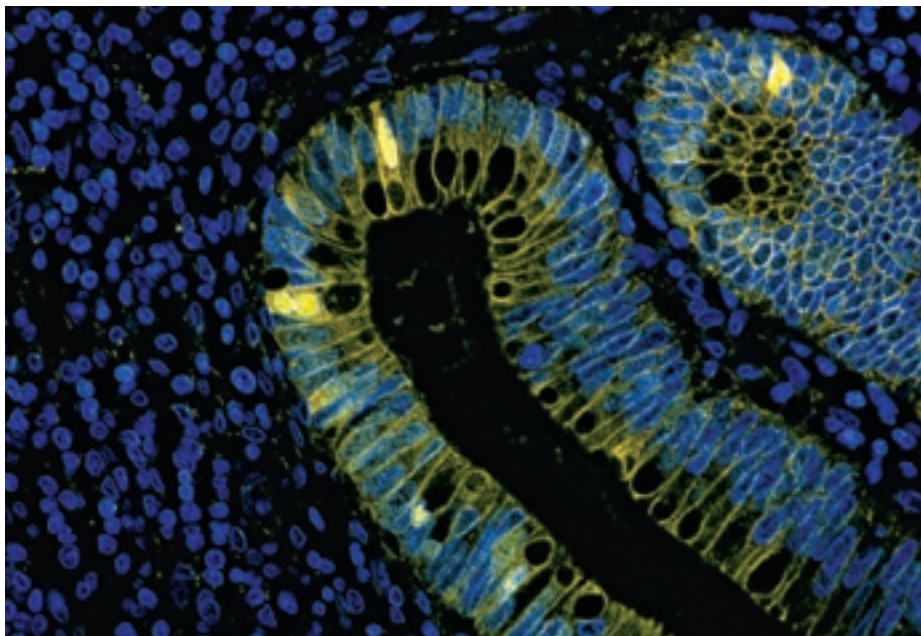


Abb. 1: Fatale Fehlsteuerung in einem zellulären Reaktionsnetzwerk: Durch eine Störung der Signalübermittlung ist das Zelladhäsionsprotein beta-Catenin (gelb) fälschlicherweise in den Zellkern der hier abgebildeten Dickdarmepithelzellen gelangt. Hier treibt das Protein die unkontrollierte Vermehrung und bösartige Entartung von Zellen an (Bild Peter Herter, MPI Dortmund)

Systeme zum Studium der Chemotaxis und Zellmigration vor, und Francois Nedelec (EMBL, Heidelberg) berichtete über das Modellieren der Phototaxis und Zytoskelett-Dynamik

Modularität in biologischen Systemen

Seit die 518 Kinasen des Menschen bekannt sind, versuchen Forschergruppen weltweit die Phosphorylierungsdynamik innerhalb krankheitsrelevanter Signalwege und ihre funktionellen Auswirkungen zu erfassen. Von besonderem Interesse im Rahmen der massenspektrometrischen Kartierung des Phosphoproteoms sind dabei die Tyrosinkinase, die einen Großteil der derzeit genutzten Arzneimitteltargets ausmachen. Tony Pawson vom Mount Sinai Hospital in Toronto stellte in seinem Vortrag über die dynamische Regulation von Tyrosinkinase-Signalwegen Daten vor, die erklären könnten, wie die modulare Domänenstruktur von Proteinkinase zur Komplexität von biologischen Systemen und zur Generation neuer Signalwege beitragen kann. Ausgangspunkt der Arbeiten von Pawsons Gruppe ist die Tatsache, dass funktionell distinkte Src-Homologie-Domänen (SH2), selektiv unterschiedliche Tyrosin-phosphorylierte Peptidmotive binden und dass neue Kombinationen von Domänen zu neuen Funktionen führen. Evolutionär, so Pawson, könnte dies zur Entstehung neuer Signalwege beigetragen haben. So habe etwa die Kombination einer SH2-Domäne mit einer Kinase-Domäne dazu geführt, dass die SH2-Domäne nun auch die strukturelle Stabilisierung und allosterische Regulation der Kinase-Domäne übernimmt. Pawsons Gruppe versucht derzeit, sogenannte domain clubs zu definieren – Gruppen von Proteinen mit einer bestimmten Kombination von Domänen – und untersucht, ob diese in Relation zur Funktionalität stehen. Gemeinsam mit Kollegen haben die Kanadier dazu unlängst sämtliche 120 SH2-Domänen des Humangenoms kloniert und deren Phosphotyrosyl-Peptid-Bindungsspezifität untersucht, um auf dieser Datenbasis Bindungspartner vorhersagen zu können und neue Hinweise auf ihre funktionelle Relevanz, zum Beispiel in Krankheitsprozessen, zu gewinnen.

Über die Kodierung der Spezifität und Antwortkinetiken im ERK-Signalweg berichtete im Rahmen dieser Session Walter Kolch vom Beatson Institute für Krebsforschung in Glasgow. Ivan Dikic (Universität Frankfurt /Main) stellte das Interaktionsnetzwerk des EGF-Rezeptors vor, während Luis Serrano (Centre de Regulacio Genomica, Barcelona) die Fähigkeit zur Evolution und Hierarchie in biologischen Netzwerken diskutierte. Marino Zerials (MPI Dresden) Vortrag widmete sich dem Aufdecken der Design-Prinzipien in endozytotischen Prozessen.

Logische Netzwerktopologien und Dynamik

In dieser dritten Session berichtete Ariel Cohen (Weizman Institute, Rehovot) über die Beobachtung von Medikamentenwirkungen mittels dynamischer Proteomics in Raum und Zeit innerhalb einzelner Krebszellen. Dabei interessieren sich die israelischen Forscher insbesondere für die Faktoren, die die Therapieresistenz von Lungenkrebszellen gegen den Topoisomerase-I-Inhibitor Camptothecin (CPT) determinieren. Dazu untersuchten sie mittels Exon-Tagging erzeugte Klone individueller Krebszellen, die jeweils ein fluoreszenzgekoppeltes endogenes Protein (YFP) aufweisen. Die Bibliothek von derzeit 1.100 Zellpopulationen mit verschiedenen Fluoreszenz-gekoppelten Proteinen untersuchen sie mittels Live Cell Imaging, um Veränderungen im räumlich-zeitlichen Verteilungsmuster von Signalwegen zu erfassen, die als Ursache der Therapieresistenz in Frage kommen. Ob die bisher identifizierten Änderungen kausal oder korrelativ sind, ist noch unklar. In der Diskussion wurde darauf hingewiesen, dass solche Untersuchungen auch in primären Zellen durchgeführt werden müssten, die genetisch wesentlich stabiler sind als die eingesetzten Krebszellen.

Weitere Vorträge dieser Session behandelten die Themen „Kontrolle der Sporulation in *Physarum polycephalum* (Wolfgang Marvan, MPI Magdeburg), Systembiologie des eukaryotischen Zellzyklus (Bela No-

Multiplex-Proteinquantifizierung

Die **QconCAT** Technologie bietet die absolute Mengenbestimmung von bis zu 100 Proteinen in einem einzigen MS-Experiment im Multiplex-Verfahren.

Profitieren Sie von einem völlig neuen Ansatz in der quantitativen Proteomik, der mit hoher Genauigkeit eine kosteneffiziente Analyse Ihrer Proben ermöglicht.

QconCAT findet Einsatz in:

- Drug Discovery
- Biomarker-Validierung und -diagnostik
- Qualitätskontrolle



Treffen Sie uns auf der Analytica 2008, auf Stand 360 in Halle A3! Wir freuen uns auf Sie!

PolyQuant GmbH
info@polyquant.com
Tel. (0) 941.9468.360

www.polyquant.com

New Books

Project Management for the Biotech Industry

The biotech industry is a challenging business. Long lead times, high development expenses and high project failure rates are facts of life. An ever-changing market environment contributes to the uncertainties. In this book Johanna Hollmack presents an approach for using project management in the biotech industry and elucidates the methodology and organization.

Project Management for the Biotechnology Industry
€68.00, Berlin 2006, ISBN 3-928383-25-6

Tel. +49 (0)30/26 49 21-40, Fax +49 (0)30/26 49 21-11
eMail service@biocom.de
Web www.biocom.de



BIOCOM

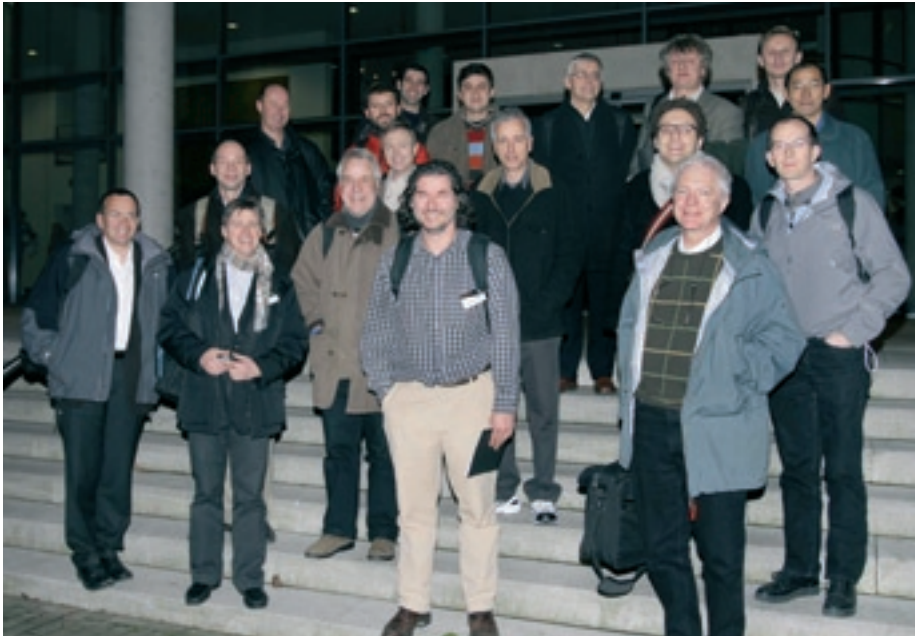


Abb. 2: Gruppenfoto mit Organisator Phillippe Bastiaens (vorn, 2. v. r) und den Vortragenden

vak, Universität von Oxford) und die Dynamik intrazellulärer Signalwege (Boris Kholodenko, Thomas Jefferson, University Philadelphia).

Reverse Engineering biologischer Netzwerke

Um die Kultivierung von Einzelzellen ging es u.a in der folgenden Vortragsreihe. Rafael Gomez-Sjöberg von der Stanford University stellte in seinem Vortrag „Automatisierte mikrofluidische Systeme für die Zellbiologie“ eine im Labor von Stephen Quake entwickelte, robuste und kostengünstige Mikrofluidik-Plattform zum Screening der Kulturbedingungen für bislang nicht kultivierbare Zellen vor. Als Anwendung präsentierte Sjöberg ein Mikrofluidiksystem mit 96 mikroskopüberwachten Kammern, mit dessen Hilfe die Wachstumsbedingungen für bislang nicht kultivierbare Darmkrebsstammzellen ermittelt wurden.

Thematisiert wurden in dieser Session die quantitative Proteomforschung (SILAC) als Methode zur Untersuchung von Zellsignalwegen (Blagoy Blagoev, Universität von Dänemark), Hans Westerhoff (Universität von Amsterdam) berichtete über Strategien der Regulation und Kontrolle, Ralf Blossey (IRI Frankreich) über die stochastische Dynamik von Genregulationsnetzwerken und Ali Kinkhabwala (MPI Dortmund) über die Bildung von Signalkomplexen im Pheromon-Signalweg der Hefe.

Räumliche Eigenschaften biologischer Netzwerke

Downstream von der Ebene der Rezeptortyrosinkinasen, die externe Signale in Zellsignalkaskaden wandeln, dient das membranständige

Protoonkogen und GTPase RAS als Schalttafel für verschiedenste Signalwege, die die Zellproliferation, das Zellüberleben oder die Organisation des Zytoskeletts beeinflussen. John Hancock von der University of Queensland stellte dar, inwieweit die Akkumulation der drei Isoformen des RAS-Proteins (H-, N- und K-RAS) in kleinen, hochdynamischen Clustern an der Plasmamembran für die Funktion des Proteins wichtig ist und welchen Einfluss dies auf die Weiterleitung des Signals hat. Er postulierte einen neuen Mechanismus, nach dem sich dieser Signalweg wie ein Analog-Digital-Analog-Signalkonverter verhält – also als Signalweg mit niedriger Aktivierungsschwelle, aber gleichzeitig – durch die transiente Natur der Signalplattformen bedingt – mit niedriger Rauschbelastung. In weiteren Vorträgen stellten Michiyuki Matsuda (Kyoto University) Untersuchungen der räumlich-zeitlichen Regulation von Rab5 mittels FRET-Proben und Maxime Dahan (Ecole normale Supérieure, Paris) den Aufbau der Zellpolarität während der Chemotaxis in Nerven dar.

Zum Ende des Symposiums fand eine von Organisator Philippe Bastiaens moderierte Diskussionsrunde statt. Im Kern ging es dabei um Fragen zu selbstorganisierenden Prozessen: Abgegrenzt wurden zunächst selbstorganisierende Prozesse von selbst zusammenbauenden Prozessen, die keinen Energie-Input benötigen und in deren Zuge freierwerdende Energie verloren geht. Selbstorganisierende Prozesse dagegen benötigen kontinuierliche Energiezufuhr, um einen höheren energetischen Zustand zu erreichen. Beiden Prozessen gemein ist jedoch, dass sie keinem externen organisierenden Einfluss ausgesetzt sind. Zahlreiche derzeit noch nicht adressierte Fragen wurden kontrovers diskutiert, so etwa: Welche Prozesse sind selbstorganisiert, welche präspezifiziert, welche zeigen Aspekte von beidem, war eine weitere diskutierte Frage.

Wenn es möglich wäre, ein System wie den Golgi-Apparat komplett *in vitro* zu rekonstituieren, könnte man daraus schließen, dass es sich dabei um selbstorganisierendes System handelt? Wie unterscheiden sich Selbstorganisation und Präspezifikation in puncto Stabilität und Robustheit? Haben selbst-organisierende Prozesse die Möglichkeit, sich selbst zu korrigieren, während präspezifizierte Prozesse unter Umständen Fehler ansammeln? Kann sich im Laufe der Evolution aus einem selbstorganisierenden Prozess ein präspezifizierter entwickeln? Gibt es eine Korrelation zwischen der Komplexität des Systems und dem Grad der Selbstorganisation? Ein weiterer Diskussionspunkt war die Frage, inwieweit sogenannte „interaction maps“ überhaupt hilfreich sind. Diese geben zwar wieder, welche Proteine mit welchen anderen Proteinen interagieren, sie sagen jedoch nichts über die Funktionalität aus, ob und unter welchen Umständen eine solche Interaktion in der Zelle tatsächlich stattfindet und was die Folgen sind. Die Vorgehensweise des Reverse Engineering, bei dem die Konstruktionselemente aus dem bereits bestehenden System abgeleitet werden, wurde als eine der vielversprechendsten Vorgehensweisen angesehen. Störungen des Systems liefern veränderte Outputs, aus denen Rückschlüsse über kausale Zusammenhänge innerhalb des Systems erschlossen werden können. Die Frage, ob dies zusammen mit Modelling ausreichen wird, um die gesamte Logik des Systems zu verstehen, ist derzeit noch offen.

Laborwelt Hintergrund

Zentrum für Systembiologie

Das im Jahr 2006 ins Leben gerufene Zentrum für Systembiologie (ZfS, www.mpi-dortmund.mpg.de/zfs) bildet zusammen mit den Zentren für Angewandte Chemische Genomik (ZACG) und Angewandte Proteomik (ZAP) die Lebenswissenschaftlichen Innovationsplattform Dortmund. Das durch den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE) und das Land Nordrhein-Westfalen geförderte ZfS fokussiert seine Forschungsarbeit auf die Analyse biologischer Regulationsnetzwerke und ihrer pathologischen Störungen. Zur Bearbeitung anwendungsnaher systembiologischer Fragestellungen wie etwa Netzwerkanalysen pathologischer Prozesse etc. nutzt das vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie koordinierte Zentrum derzeit zehn Technologie-Plattformen. Wissenschaftlich geleitet werden die Arbeiten am ZfS von Prof. Dr. A. Wittinghofer, Prof. Dr. P.I.H. Bastiaens, Prof. Dr. R.S. Goody, Prof. Dr. H. Waldmann, die Koordination liegt bei Dr. Astrid Krämer (astrid.kraemer@mpi-dortmund.mpg.de) Tel.: +49-(0)231-1332524