

ZUR VORBEREITUNG FÜR DAS HOCHDURCHSATZSCREENING
WERDEN PIPETTIERROBOTER EINGESETZT. FOTO: T.SCHWERDT/DKFZ

Deutsches Krebsforschungszentrum

RASTERFAHNDUNG IM GENOM

Leise surrend steuert der Arm des Roboters zielgenau die 384 Vertiefungen einer Kunststoffplatte an und beschickt sie mit winzigen Mengen verschiedener Reagenzien. Mehr als 200 Platten durchlaufen so vollautomatisch die verschiedenen Stationen von der Vorbereitung bis zur teilautomatisierten mikroskopischen Auswertung. „Wir führen hier eine Art Rasterfahndung im menschlichen Erbgut durch“, schmunzelt Professor Dr. Michael Boutros, der Leiter der Abteilung Signalwege und Funktionelle Genomik am Deutschen Krebsforschungszentrum. „Dabei sind wir auf der Suche nach Genen, die bei Krebs eine wichtige Rolle spielen.“

„Wir suchen im gesamten Erbgut des Menschen nach verdächtigen Genen.“

Im aktuellen Projekt kooperieren die Heidelberger Wissenschaftler um Michael Boutros mit Professor Dr. Georg Halder und Kollegen vom amerikanischen M. D. Anderson Cancer Center in Houston, Texas. Gemeinsam wollen sie Gene aufspüren, deren Aktivität für das Überleben von Krebszellen verantwortlich ist. Dabei ergänzen sich die Erfahrungen der beiden Arbeitsgruppen in idealer Weise: Das Boutros-Labor hat Hochdurchsatz-Screening-Verfahren etabliert, am M. D. Anderson Cancer Center kennt man sich bestens mit der Entwicklung und Testung von Wirkstoffen aus.

Für die „Fahndung“ nach den Genen verwendet Boutros die RNA-Interferenz (RNAi) als Screening-Verfahren. Diese Methode verwendet kurze, doppelsträngige RNA-Moleküle, die spezifisch an bestimmte Gensequenzen binden und damit die Herstellung des entsprechenden Proteins in der Zelle verhindern. Im Experiment setzen die Wissenschaftler Krebszellen und normale Zellen unter gleichen Bedingungen der Wirkung Gen-spezifischer RNAi-Proben aus. Wenn die Krebszellen absterben, während normale Zellen überleben, könnte dies ein Hinweis auf ein gesuchtes Gen sein.

„Wir suchen im gesamten Erbgut des Menschen nach verdächtigen Genen“, sagt Michael Boutros, „also die berühmte Stecknadel im Heuhaufen.“ Bei geschätzten 25.000 menschlichen Genen und einem Vielfachen an RNAi-Proben kann ein solches Unterfangen nur mit Hochdurchsatz-Verfahren bewältigt werden. Deshalb hat die Arbeitsgruppe Boutros viel Entwicklungsarbeit in die Etablierung des Hochdurchsatz-RNAi-Screenings investiert.

„Vielleicht stoßen wir dabei auf Gene, die ganz neue Ansätze in der Krebstherapie ermöglichen.“

Um automatisiert überprüfen zu können, wie sich Zellen nach dem Ausschalten von Genen verhalten, haben sie darüber hinaus spezielle Verfahren für die Mikroskopie entwickelt, um viele tausende Bilder aufnehmen und analysieren zu können. Alle Daten werden gesammelt und wandern in eine Datenbank, die auch international rege genutzt wird. Und sie stellen Erfahrungen und Infrastruktur auch anderen Wissenschaftlern zur Verfügung. „Wir haben eigentlich immer mehrere Wissenschaftler zu Gast, die hier die Methoden erlernen und dann ihre eigenen Projekte bearbeiten“, sagt Michael Boutros. Im Juni 2008 veranstalteten die Heidelberger einen international besetzten EMBO-Kurs über Hochdurchsatz-RNAi.

In der ersten Screening-Phase verwendet das Boutros-Labor häufig Zellen der Fruchtfliege *Drosophila*. „*Drosophila* fehlt weitgehend die funktionelle Redundanz, das bedeutet, dass jedes Ausschalten eines Gens sofort sichtbare Folgen hat“, erklärt Michael Boutros. „Das ist ein Vorteil, wenn man Funktionsverluste nachweisen will.“ Deshalb eignet sich dieses System hervorragend, um unter den Genen erst einmal aussichtsreiche Kandidaten zu finden, deren Relevanz natürlich in weiteren Tests überprüft werden muss. Mit dieser Strategie haben die Heidelberger bereits mehrere interessante Gene gefunden, unter anderem konnten sie bei *Drosophila Evi* identifizieren, ein Gen, das in Signalwege der Zelldifferenzierung und bei der Tumorentstehung eingreift. Untersuchungen an menschlichen Zellen zeigten, dass *Evi* auch hier eine wichtige Funktion in der Signalübertragung hat.



In der zweiten Phase des Screenings setzen die Wissenschaftler menschliche Krebszelllinien ein. Um Gene zu finden, deren Inaktivierung die Wirkung von Krebsmedikamenten verstärkt, testen sie sowohl etablierte als auch neue, in der klinischen Testung befindliche Wirkstoffe. Die Forscher um Michael Boutros erwarten davon Erkenntnisse, die zu einer gezielteren Krebstherapie führen, etwa welche Chemotherapeutika bei Patienten mit einer bestimmten genetischen Disposition eingesetzt werden können. „Und wer weiß“, blickt Michael Boutros in die Zukunft, „vielleicht stoßen wir bei unserer Suche ja auch auf Gene, die ganz neue Ansätze in der Krebstherapie ermöglichen.“ HELMUTH PROKOPH

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch

TITIN – DEN FUNKTIONEN EINES MULTITALENTS AUF DER SPUR

Titin ist das größte Protein im menschlichen Körper und hat seinen Platz im Sarkomer, der molekularen Arbeitseinheit der Muskelfasern von Bewegungsapparat und Herz. Es stellt eine elastische Verbindung zwischen Teilen des Sarkomers her, die sich bei Kontraktion des Muskels aufeinander zu bewegen und bei Entspannung in ihre Ausgangsposition zurückkehren. Gemeinsam mit Kollegen von der University of Arizona und der Washington State University untersucht die Arbeitsgruppe von Professor Dr. Michael Gotthardt am Max-Delbrück-Centrum in Berlin Funktionen des Titins im Kontext von Biomechanik, Stoffwechsel- und Signalwegen. Auf diese Weise wollen sie mehr über die Ursachen von Herzerkrankungen und Muskelschwund zu erfahren.

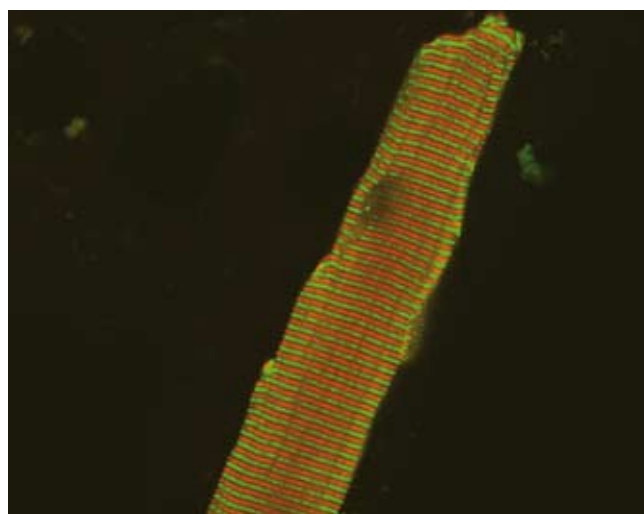
Das Titin-Molekül besteht aus mehr als 26.000 Bausteinen, die sich zu funktionellen Modulen gruppieren. Um eine Vorstellung über die Funktionen einzelner Baugruppen zu bekommen, hat das Gotthardt-Labor Mäuse geschaffen, deren Herzmuskelzellen Titin mit veränderten Modulen produzieren. Entweder ist ein bestimmtes Modul von Beginn an funktionsunfähig oder seine Produktion kann abgeschaltet werden. Dabei haben die

Forscher festgestellt, dass Titin zahlreiche regulatorische Funktionen erfüllt. Wenn sie zum Beispiel das N2B-Modul ausschalten, entwickeln die Mäuse ein kleineres Herz mit verkürzten Sarkomeren und geringerer Elastizität.

Die Arbeitsgruppe von Michael Gotthardt schuf das erste Titin-basierte Tiermodell für die besonders bei Frauen verbreitete diastolische Herzinsuffizienz.

Die Wissenschaftler um Michael Gotthardt haben mit diesen so genannten N2B-KO-Mäusen erstmalig ein Titin-basiertes Tiermodell für die besonders bei Frauen verbreitete diastolische Herzinsuffizienz geschaffen. An ihm können molekulare Mechanismen untersucht werden, die zur Entstehung von Herzinsuffizienz führen. Und daraus hoffen die Wissenschaftler, neue Strategien für die Therapie entwickeln zu können.

HELMUTH PROKOPH



ISOLIERTE HERZZELLE DER MAUS. DAS STREIFENMUSTER ENTSTEHT DURCH DIE REGELMÄSSIGE ANORDNUNG DER PROTEINE AKTININ (ROT) UND TITIN (GRÜN). Foto: Michael Radtke, MDC