



**KRANKHEITEN**  
**verstehen + heilen**

## » DAS NATIONALE GENOMFORSCHUNGSNETZ

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

NGFN

Nationales  
Genomforschungsnetz

PROGRAMM	3
DAS NATIONALE GENOMFORSCHUNGSNETZ	5
GRUNDLAGEN DER GENOMFORSCHUNG	7
GENETISCHER FINGERABDRUCK VON STAMMZELLEN Prof. Dr. Anthony D. Ho	18
MIT ZEBRAFISCHEN DEN GENETISCHEN URSACHEN VON HERZ-KREISLAUF-ERKRANKUNGEN AUF DER SPUR Dr. Wolfgang Rottbauer	23
KREBS: NEUE ANSÄTZE FÜR INDIVIDUELLE THERAPIESTRATEGIEN Dr. Nikolas von Bubnoff	27
EXKURSION ZUM DEUTSCHEN RESSOURCENZENTRUM FÜR GENOMFORSCHUNG (RZPD) Dr. Johannes Maurer, Dr. Uwe Radelof, Dr. Bernd Drescher	33
INNERE UHR AUS DEM TAKT – ALKOHOLISMUS DROHT Prof. Dr. Rainer Spanagel	44
DIE PARKINSON-KRANKHEIT: VOM GEN ZUR THERAPIE Prof. Dr. Thomas Gasser	47
DEPRESSION: EINE GENVARIANTE BEEINFLUSST DIE WIRKSAMKEIT VON MEDIKAMENTEN Dr. Dr. Susanne Lucae	51
CHOREA HUNTINGTON: ANALYSE VON PROTEIN- NETZWERKEN UND THERAPIEENTWICKLUNG Prof. Dr. Erich E. Wanker	55
IMPRESSUM	59



## PROGRAMM

Moderation: Vera Cordes, NDR

### MITTWOCH, 1. JUNI 2005

---

bis 11.30 Uhr	individuelle Anreise Palisa.de – Tagungs- und Veranstaltungszentrum, Palisadenstraße 48, 10243 Berlin
11.30 bis 12.00 Uhr	Mittagssnack
12.00 bis 12.10 Uhr	<b>Begrüßung</b> Prof. Dr. Karl M. Einhäupl, Mitglied des NGFN-Lenkungsgremiums
12.10 bis 12.55 Uhr	<b>Genetischer Fingerabdruck von Stammzellen</b> Prof. Dr. Anthony D. Ho, Heidelberg
12.55 bis 13.40 Uhr	<b>Mit Zebrafischen den genetischen Ursachen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen auf der Spur</b> Dr. Wolfgang Rottbauer, Heidelberg
13.40 bis 14.00 Uhr	Pause
14.00 bis 14.45 Uhr	<b>Krebs: neue Ansätze für individuelle Therapiestrategien</b> Dr. Nikolas von Bubnoff, München
14.45 bis 18.00 Uhr	<b>Exkursion zum Deutschen Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD)</b> Dr. Johannes Maurer, Dr. Uwe Radelof, Dr. Bernd Drescher, Berlin
ab 19.00 Uhr	gemeinsames Abendessen im Restaurant „Umspannwerk Ost“, Palisadenstraße 48, 10243 Berlin



**DONNERSTAG, 2. JUNI 2005**

---

ab 8.45 Uhr	Begrüßungskaffee
-------------	------------------

---

9.15 bis 10.00 Uhr	<b>Innere Uhr aus dem Takt – Alkoholismus droht</b> Prof. Dr. Rainer Spanagel, Mannheim
--------------------	--

---

10.00 bis 10.45 Uhr	<b>Die Parkinson-Krankheit: vom Gen zur Therapie</b> Prof. Dr. Thomas Gasser, Tübingen
---------------------	---

---

10.45 bis 11.00 Uhr	Pause
---------------------	-------

---

11.00 bis 11.45 Uhr	<b>Depression: Eine Genvariante beeinflusst die Wirksamkeit von Medikamenten</b> Dr. Dr. Susanne Lucae, München
---------------------	--

---

11.45 bis 12.30 Uhr	<b>Chorea Huntington: Analyse von Protein- Netzwerken und Therapieentwicklung</b> Prof. Dr. Erich Wanker, Berlin
---------------------	---

---

12.30 bis 12.45 Uhr	Abschlussdiskussion
---------------------	---------------------

---

ab 12.45 Uhr	Mittagssnack
--------------	--------------

---

individuelle Abreise



## DAS NATIONALE GENOMFORSCHUNGSNETZ

### Krankheiten verstehen und heilen

Seit 2001 fördert das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) das Nationale Genomforschungsnetz (NGFN), um die Funktion der menschlichen Gene aufzuklären. Im Mittelpunkt der Arbeiten steht die Erforschung der genetischen Ursachen von häufigen Krankheiten. Die Ergebnisse der Humangenomforschung werden für die medizinische Praxis immer bedeutender: Diagnose, Vorbeugung und Therapie vieler Krankheiten bauen zunehmend auf molekularen Kenntnissen über die Krankheitsursachen auf. Die NGFN-Wissenschaftler erarbeiten deshalb neben den wissenschaftlichen Grundlagen auch geeignete Untersuchungs- und Behandlungsmethoden. Außerdem erforschen sie, inwieweit unsere Gene die Wirksamkeit von Medikamenten beeinflussen. Ihr Ziel ist es, Krankheiten zu verstehen und dadurch Ansatzpunkte für die Behandlung bisher unheilbarer Krankheiten zu finden.

### Vernetzt zum Erfolg

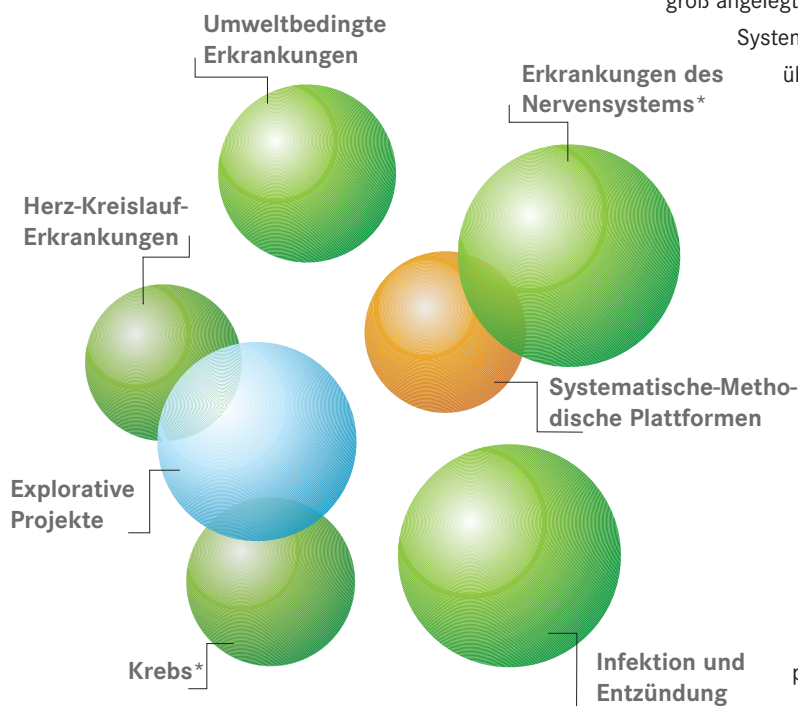
Um ihr Ziel zu erreichen, arbeiten im NGFN führende Experten unterschiedlicher Fachrichtungen – zum Beispiel Biologen, Chemiker, Mediziner und Informatiker – aus Kliniken, Universitäten und Großforschungseinrichtungen zusammen. Diese Netzwerkstruktur hat international große Beachtung gefunden und Forscher aus anderen europäischen Ländern und den USA nach Deutschland geführt. In den insgesamt neun krankheitsorientierten Genomnetzen des NGFN erforschen die Wissenschaftler die Ursachen weit verbreiteter Krankheiten: dazu zählen Krebs, die Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Erkrankungen des Nervensystems. Außerdem werden Krankheiten untersucht, die auf Infektionen und Entzündungen sowie Umweltfaktoren beruhen. Die Erforschung dieser komplexen Krankheiten ist jedoch nur möglich, wenn man systematisch tausende von Genen analysiert. Um den hierfür nötigen Kosten- und

Zeitaufwand auf ein vertretbares Maß zu reduzieren, werden solche groß angelegten Analysen von den Arbeitsgruppen der

Systematisch-Methodischen Plattformen (SMP)

übernommen. In zwölf SMP wenden hoch spezialisierte Fachleute leistungsfähige

Technologien der modernen Hochdurchsatzforschung an und entwickeln diese kontinuierlich weiter. Außerdem stellen sie allen NGFN-Wissenschaftlern eine effiziente Datenverarbeitung zur Verfügung. Seit 2004 wurde mit den Explorativen Projekten (EP) darüber hinaus ein Instrument geschaffen, das neue Technologien und Anwendungsgebiete für die Humangenomforschung erschließen soll. In insgesamt 19 Explorativen Projekten gibt das NGFN Forschern die Möglichkeit, innovative Forschungsideen zu überprüfen und umzusetzen.



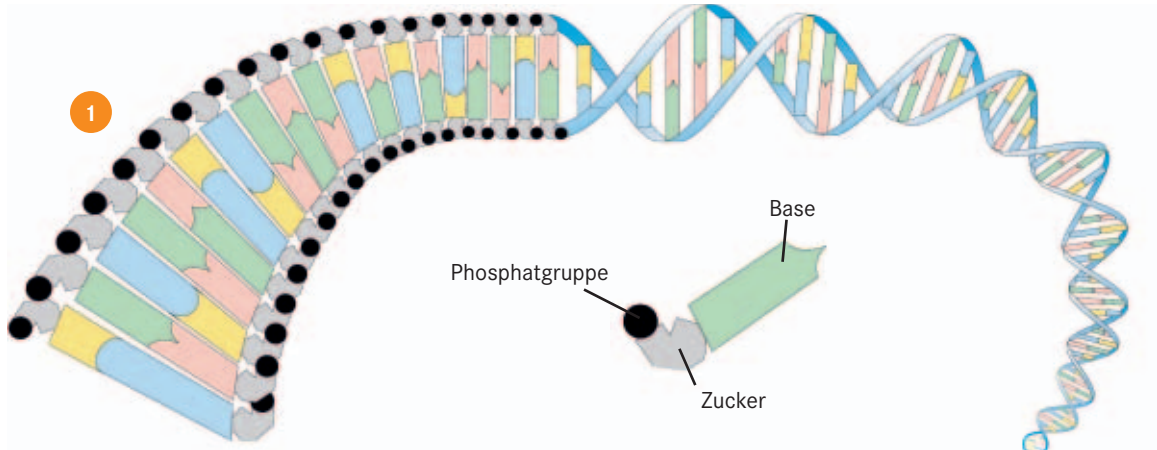
\* jeweils drei Genomnetze



### International wegweisend

Das NGFN baut auf dem Deutschen Humangenomprojekt (DHGP) auf, in dem von 1995 bis 2004 grundlegende genetische Analysen für die Entschlüsselung des menschlichen Genoms und anschließend Funktionsanalysen durchgeführt wurden. Bereits in der ersten Förderphase des NGFN von 2001 bis 2004 konnten die Wissenschaftler eindrucksvolle Ergebnisse erzielen: Sie entdeckten Krankheitsgene für Allergien, chronische Darmentzündungen, Alkoholsucht, Epilepsie, Parkinson und Sarkoidose. Internationale Beachtung fand auch die Entwicklung von neuen DNA-Chips, mit deren Hilfe man krankheitsrelevante Genveränderungen bei Nieren-, Brust- und Blutkrebs oder angeborenen Herzkrankheiten erkennen kann.

2003 wurden die Arbeiten des NGFN von einem internationalen Expertengremium evaluiert. Die Ergebnisse der Begutachtung waren Anlass für die zweite, aktuelle Förderphase, die noch bis Ende 2007 andauert. Die intensive Kooperation von Wissenschaftlern unterschiedlicher Fachrichtungen im NGFN bezeichneten die Experten als „international wegweisend“. Sie bescheinigten dem NGFN außerdem, die internationale Wettbewerbsfähigkeit Deutschlands in einem der wichtigsten wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Bereiche gestärkt zu haben.



## DNA – DER STOFF AUS DEM DIE GENE SIND

Bis Anfang der vierziger Jahre war nicht besonders viel über die Vererbung bekannt. Man wusste, dass bestimmte Merkmale von der Mutter und dem Vater auf die Kinder vererbt werden und nannte die Stoffe, die für diese Vererbung zuständig waren, „Gene“. Aber woraus diese Gene bestehen und wie sie „arbeiten“, war lange ungeklärt. Dann aber entdeckten die amerikanischen Forscher George Beadle und Edward Tatum, dass Gene die Herstellung von Eiweißstoffen dirigieren und die Eiweißstoffe wiederum für die Ausprägung von Merkmalen (z. B. Körpergröße, Haarfarbe oder Nasenform) verantwortlich sind. 1944 bewies der Chemiker Oswald Avery, dass die DNA für die Vererbung zuständig ist – ein Stoff, der aus Zucker, Phosphaten und vier so genannten Basen aufgebaut ist. Doch die meisten Forscher waren noch skeptisch. Erst acht Jahre später kippte die Meinung. Die DNA wurde als Erbsubstanz anerkannt. Jetzt begann ein bis dahin beispielloses Wettrennen: Man wollte möglichst schnell herausfinden, wie die Erbsubstanz eigentlich aussieht. 1951 gelangen der Röntgen-Expertin Rosalind Franklin die ersten Röntgenstruktur-Aufnahmen der DNA, die wichtige Informationen darüber lieferten, wie die DNA aussehen könnte. 1953 sahen zwei junge Forscher – James Watson und Francis Crick – die Röntgenstruktur-Aufnahmen von Rosalind Franklin. Ihre Gedanken kreisten daraufhin immer öfter um das Thema DNA. Und sie beschlossen, die Struktur der DNA mithilfe von Pappstücken und Modellbausteinen auszutüfteln. Als sie diese hin- und herschoben, wurde ihnen plötzlich klar, wie die Bausteine miteinander verbunden sein müssten, damit alle Informationen aus den Röntgenstruktur-Bildern zusammenpassten: Die Struktur der DNA gleicht einer spiralförmig verdrehten Strickleiter. Die Seile der Strickleiter bestehen immer abwechselnd aus einem Zucker und einer Phosphorsäure. Die Sprossen der spiralförmigen Leiter bestehen aus den Basen Adenin (A), Thymin (T), Cytosin (C) und Guanin (G). **1**





### Ideale Eigenschaften

Die DNA erfüllt alle Anforderungen, die sich einem Träger von Informationen stellen. Sie kann Informationen verschlüsseln. In der Computertechnik wird ein Code aus den Ziffern 0 und 1 verwendet. Das Morsealphabet, die Blindenschrift oder unser Buchstabenalphabet verwenden eine größere Anzahl von Zeichen. In der DNA wird die Erbinformation durch vier verschiedene Zeichen (die Basen A, T, G, C) codiert. Die Basenabfolge innerhalb eines Einzelstrangs (= Basen- oder Nukleotidsequenz) verschlüsselt die Erbinformation, so wie aneinander gereihete Buchstaben ein Wort ergeben können. Außerdem ist die DNA sehr stabil und kann selbständig Reparaturvorgänge (bei schadhafter DNA) durchführen. Diesen Eigenschaften ist es zu verdanken, dass die genetische Information über Generationen mit nur geringen Veränderungen weitergegeben wird.

### „Verpackung“ der DNA

Die genetische Information einer Zelle ist sehr umfangreich. In jeder menschlichen Zelle beträgt die DNA-Länge knapp zwei Meter (mit rund sechs Milliarden Basenpaaren). Die DNA muss bei dieser Länge „verpackt“ werden (= Kondensierung). Dabei wickelt sich die DNA zweimal um so genannte Histonkomplexe, die wie „Lockenwickler“ wirken. Diese Struktur wird Nukleosom genannt. **2** Sie ist die Grundeinheit der Chromosomen. Jedes Chromosom enthält durchschnittlich 675.000 solcher Nukleosomen, die im Elektronenmikroskop wie Perlen an einer Schnur erkennbar sind. Die Dicke der DNA beträgt hier etwa elf Nanometer (nm) (ca. 1/100.000mm). Dadurch wird der Strang auf rund ein Sechstel verkürzt. Der Nukleosomenstrang wird nochmals regelmäßig zu einer 30nm dicken Faser aufgewunden, **3** die durch andere Proteine weiter zu Schleifen geordnet wird. **4** Diese werden wiederum bei einer Zellteilung um ein zentrales Proteingerüst zu einer 700nm dicken so genannten Chromatide kondensiert. **5**





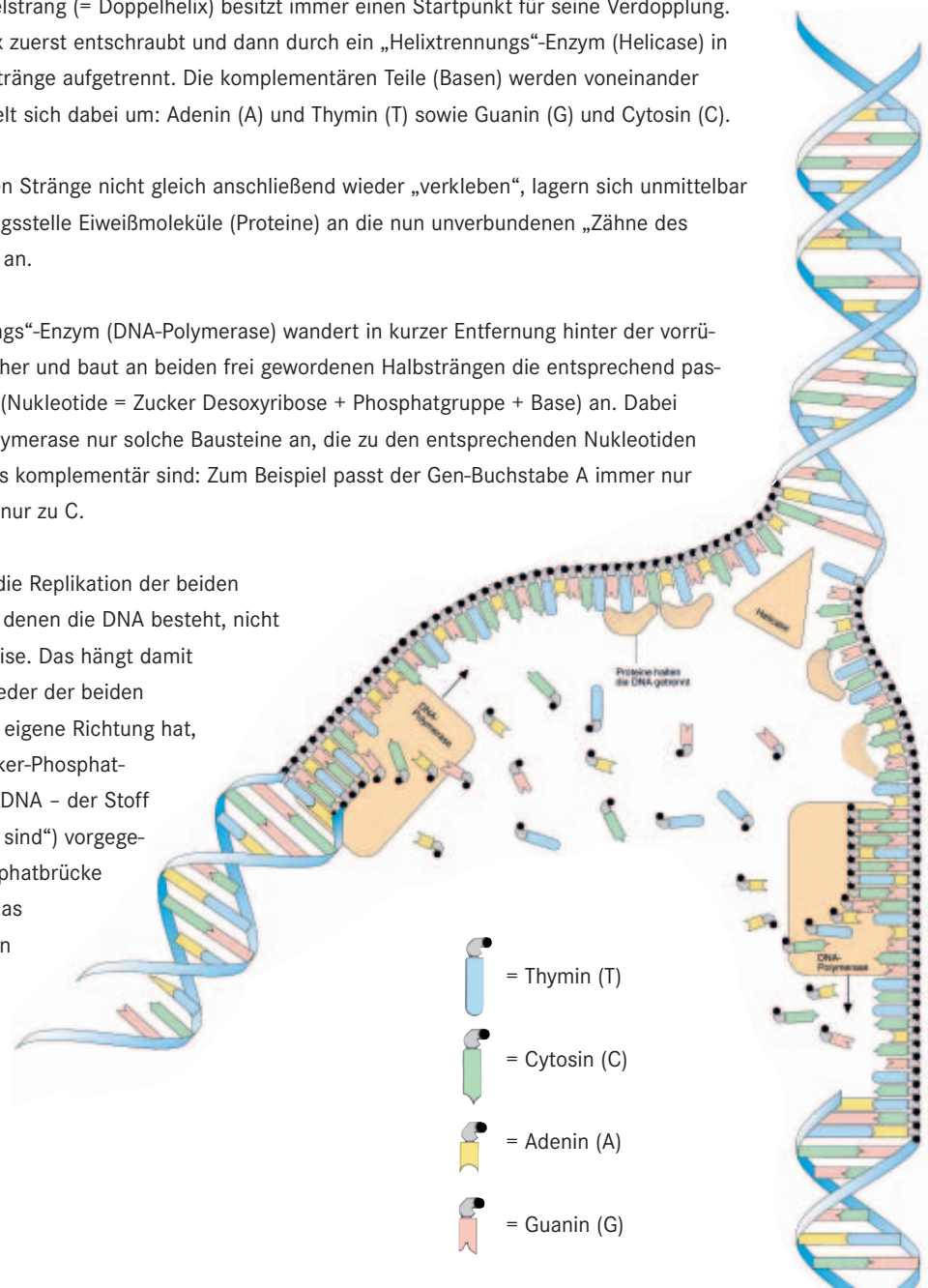
## DIE IDENTISCHE DNA-REPLIKATION: AUS EINS MACH ZWEI

Nach Teilung von Körperzellen haben die beiden Tochterzellen die gleiche Erbinformation wie die Mutterzelle. Die DNA wurde also identisch kopiert. Dieser Vorgang läuft im Zellkern ab und wird auch als Replikation bezeichnet.

Die Replikation verläuft bei allen Lebewesen ähnlich:

1. Der DNA-Doppelstrang (= Doppelhelix) besitzt immer einen Startpunkt für seine Verdopplung. Dort wird die Helix zuerst entschlauert und dann durch ein „Helixtrennungs“-Enzym (Helicase) in die beiden Einzelstränge aufgetrennt. Die komplementären Teile (Basen) werden voneinander getrennt. Es handelt sich dabei um: Adenin (A) und Thymin (T) sowie Guanin (G) und Cytosin (C).
2. Damit die beiden Stränge nicht gleich anschließend wieder „verkleben“, lagern sich unmittelbar hinter der Trennungsstelle Eiweißmoleküle (Proteine) an die nun unverbundenen „Zähne des Reißverschlusses“ an.
3. Ein „Verknüpfungs“-Enzym (DNA-Polymerase) wandert in kurzer Entfernung hinter der vorrückenden Helicase her und baut an beiden frei gewordenen Halbsträngen die entsprechend passenden Bausteine (Nukleotide = Zucker Desoxyribose + Phosphatgruppe + Base) an. Dabei lagert die DNA-Polymerase nur solche Bausteine an, die zu den entsprechenden Nukleotiden des Originalstrangs komplementär sind: Zum Beispiel passt der Gen-Buchstabe A immer nur zu T und G immer nur zu C.

Allerdings erfolgt die Replikation der beiden Einzelstränge, aus denen die DNA besteht, nicht auf die gleiche Weise. Das hängt damit zusammen, dass jeder der beiden Einzelstränge eine eigene Richtung hat, die durch das Zucker-Phosphat-Rückgrat (s. Text „DNA – der Stoff aus dem die Gene sind“) vorgegeben ist: Jede Phosphatbrücke verknüpft immer das Kohlenstoffatom an Position 5 des einen Zuckers mit dem





Kohlenstoffatom an Position 3 des folgenden Zuckers. Der Einzelstrang bekommt dadurch zwei verschiedene Enden: Das 3`-Ende, an dem das dritte Kohlenstoffatom des Zuckers keine Phosphatgruppe trägt, und das 5`-Ende, an dem das fünfte Kohlenstoffatom des Zuckermoleküls keine Phosphatgruppe trägt. Eine DNA-Doppelhelix besteht aus zwei Strängen mit umgekehrter Orientierung, so dass das 5`-Ende des einen Strangs mit dem 3`-Ende des anderen Strangs zusammenfällt. Man spricht auch vom Vorwärts- und vom Rückwärtsstrang. Die DNA-Polymerase kann die Einzelstränge nur in eine Richtung verdoppeln, denn sie benötigt phosphatfreie 3`-Enden, um den neu entstehenden Strang zu verlängern. Während sie also den Vorwärtsstrang in die Richtung verdoppelt, in die auch die Helicase wandert, kann sie den Rückwärtsstrang nur von der Helicase weg verdoppeln – also entgegen der Aufwindungsrichtung.

Die Replikation erfolgt häppchenweise: Die Polymerase lagert sich an der Aufwindungsstelle an und verdoppelt immer nur ein kurzes DNA-Stück von ca. 1.000 Nukleotid-Bausteinen. Dann löst sich die Polymerase ab, springt zurück in die Nähe der inzwischen weitergewanderten Aufwindungsstelle und produziert wieder einen kurzen DNA-Abschnitt. Die DNA-Polymerase benötigt für diese wiederholten Anlagerungen kleine Startermoleküle, so genannte Primer, die das 3`-Ende bereitstellen, das die Polymerase zum Anknüpfen von Nukleotid-Bausteinen benötigt. Es handelt sich hierbei um kurze RNA-Stücke, die über die komplementären Basen an den DNA-Einzelstrang gebunden sind. Die RNA-Stücke werden später durch ein Enzym aus dem entstehenden Strang entfernt und die Lücken geschlossen. Die so entstehenden Stücke des neuen DNA-Strangs werden dann über ein weiteres Enzym, die Ligase, zu einem durchgängigen Strang verbunden.

**4.** Als Ergebnis erhält man im neuen Doppelstrang dieselbe „Bausteinsequenz“ (Basensequenz) wie in der ursprünglichen Doppelhelix. Dadurch wird die Identität der genetischen Information gewahrt.

Kopierfehler bei der Replikation können schwere Schäden für die entstehenden Tochterzellen bedeuten. Deshalb ist die Kopiergenauigkeit sehr hoch: Sie liegt bei etwa einem Fehler pro eine Milliarde ( $10^9$ ) Bausteinverbindungen. Das entspricht in etwa einem Tippfehler auf ca. 500.000 Schreibmaschinenseiten. Die Zelle verfügt über besondere Enzyme, die hinter der Replikationsgabel „Korrektur lesen“ und nicht passende Bausteine durch die „richtigen“ ersetzen.

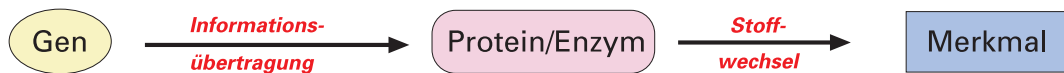
Schnell geht es darüber hinaus auch noch: Nimmt man zum Beispiel für das Darmbakterium *E. coli* (verfügt über rund 4,2 Millionen Basenpaare) einen Replikationszyklus von rund 20 Minuten an, errechnet sich daraus eine Replikationsgeschwindigkeit von 7.000 Verknüpfungen pro Sekunde.



## GENE UND PROTEINE

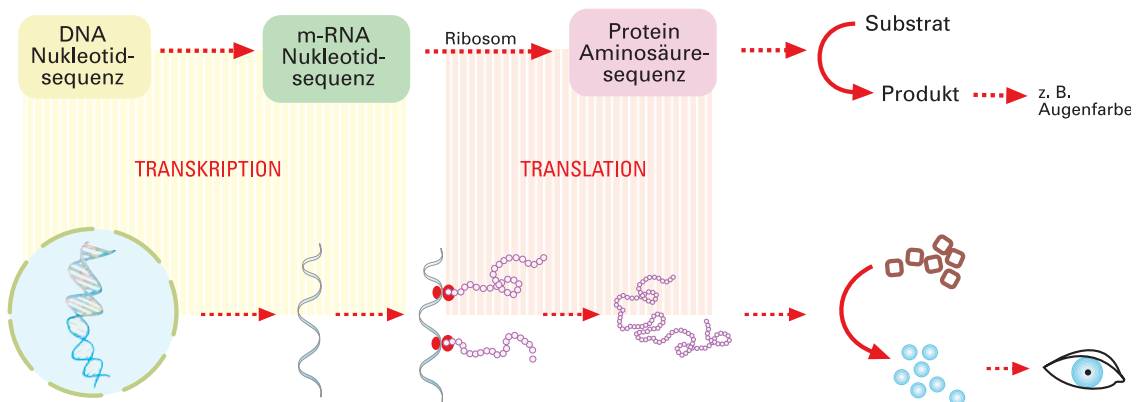
Ein Gen ist eine Funktionseinheit auf der DNA. In den Genen stehen die Anweisungen, wie die Bestandteile des Körpers hergestellt werden. Die meisten Gene enthalten die Anleitung zur Herstellung eines Proteins (= Eiweiß). Es gibt aber auch Gene, die die Bauanleitung für mehrere Proteine tragen. Einige Gene enthalten die Erbinformation zur Herstellung einer so genannten Ribonukleinsäure (engl. Ribonucleic acid = RNA). Aber nur ein kleiner Teil der DNA enthält Gene. Zwischen diesen liegen DNA-Abschnitte, deren Funktion bislang unbekannt ist. Manche Wissenschaftler glauben, dass diese Abschnitte – die immerhin etwa 98 Prozent des menschlichen Erbgutes ausmachen – gar keine Funktion haben.

Proteine sind die wichtigsten Baustoffe des Körpers. Sie bewerkstelligen alle Aufgaben, die zur Lebenserhaltung und Funktion unseres Körpers notwendig sind. Proteine sind zum Beispiel für die Ausbildung von Muskeln, Haaren, Augenfarbe, Körpergröße oder Nasenform verantwortlich. Allerdings reicht ein Protein in den meisten Fällen nicht aus, um ein bestimmtes Merkmal zu produzieren. Vielmehr ist ein Zusammenspiel vieler verschiedener Proteine nötig. Manche Proteine bilden kleine Miniaturwerkzeuge in einer Körperzelle, die man „Enzyme“ nennt.



Schema der Informationsübertragung vom Gen zum Merkmal

Proteine sind winzig klein, man kann sie noch nicht einmal mit den besten Mikroskopen sehen. Aber es gibt spezielle Techniken und Computerprogramme, mit denen man ein Modell der Protein-Struktur erstellen kann. Proteine bestehen aus kleineren Bausteinen, den Aminosäuren, die in Form einer langen Kette aneinander geknüpft sind. Die unglaubliche Vielfalt an Protein-Formen kommt dadurch zustande, dass diese Bausteine in unterschiedlicher Kombination miteinander verbunden sind.



Vom Gen zum Merkmal (Übersicht)

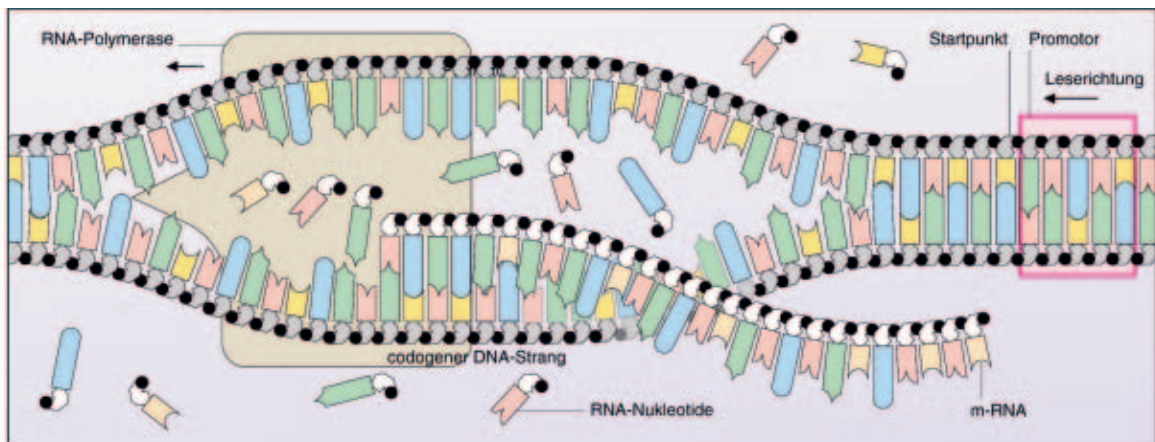


## TRANSKRIPTION – DIE GENETISCHE INFORMATION WIRD BEWEGLICH

Die Transkription ist das Abschreiben der DNA-Information. Doch warum müssen Gene überhaupt abgeschrieben werden?

Die Baupläne für die Protein-Bestandteile einer Zelle befinden sich auf sehr langen DNA-Fäden im Zellkern, während die Ribosomen (= „Montagewerke“ der Proteine) sich außerhalb des Zellkerns befinden. Irgendwie müssen also die Protein-Baupläne aus dem Zellkern heraus zu den Ribosomen transportiert werden. Dies geschieht durch das Umschreiben der Information vom langen DNA-Faden auf einen beweglichen Überträgerstoff. Das Transportmolekül für die genetische Information ist eine Ribonukleinsäure (RNA). Diese RNA, nennt man die Boten-RNA (engl.: messenger-RNA = m-RNA), weil sie die genetische Botschaft zu den Ribosomen trägt. Die RNA besteht im Vergleich zur DNA aus einem Einzelstrang, ist sehr viel kürzer (sie trägt ja nur die Information eines Gens), verfügt über Ribose als Zuckerbaustein und weist anstelle von Thymin eine andere Base (U= Uracil) auf.

Die Transkription verläuft in einigen Punkten ähnlich wie die Replikation der DNA: Die DNA-Spirale wird an einer Stelle aufgetrennt und teilt sich in zwei Stränge. Die passenden (komplementären) RNA-Nukleotide werden nach den Gesetzen der Basenpaarung angelagert und zu einem RNA-Einzelstrang, der m-RNA, mithilfe eines Enzyms (RNA-Polymerase) verbunden.



Transkriptionsvorgang (schematisch)

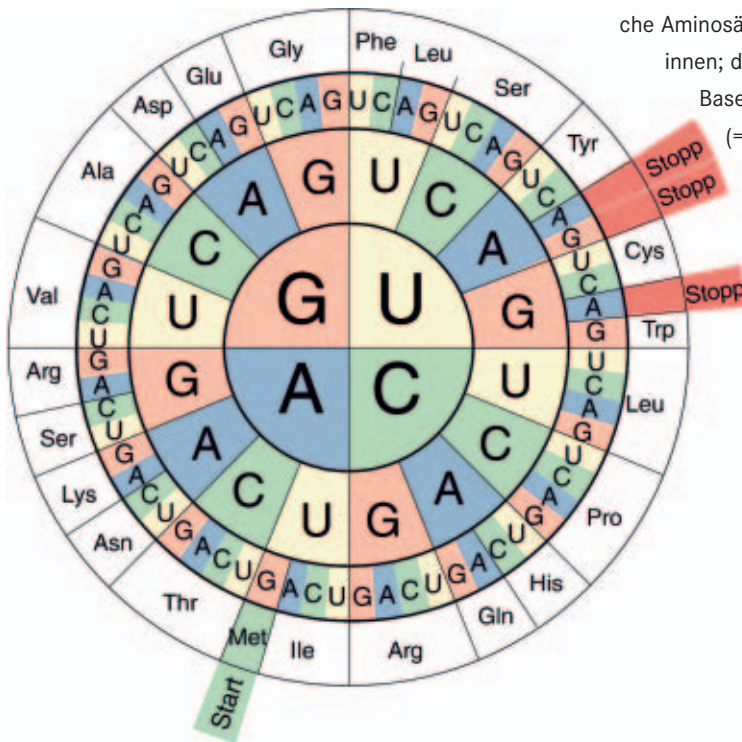
Bevor die m-RNA den Zellkern verlässt, werden nicht informationstragende Abschnitte (sog. Introns) herausgeschnitten, so dass nur die Abschnitte, die wichtige Informationen tragen (Exons) den Zellkern durch die Kernporen verlassen und zu im Zellzytoplasma befindlichen Ribosomen gelangen. Die Veränderungen an der m-RNA werden Processing genannt, das „Herausschneiden“ der Introns wird als Splicing bezeichnet.



## DER GENETISCHE CODE – WÖRTERBUCH DES LEBENS

Die Basenabfolge der m-RNA enthält die Information für den Bau eines Proteins. Die „Protein-Montagewerke“ der Zelle – die Ribosomen – stellen anhand dieser m-RNA-Bauanleitung ein Protein her. Wie ein Codebuch die Übersetzung verschiedener Schriften erlaubt, zum Beispiel die des Morsealphabets in normale Buchstaben, so ist der genetische Code eine direkte Übersetzungsvorschrift für diesen Prozess. Je drei Nukleotide der m-RNA (zum Beispiel AGT) bilden ein Code-Wort (= Codon oder Triplett). Die Ribosomen erkennen, dass jedes Drei-Buchstaben-Wort für eine von insgesamt 20 Aminosäuren (= Bausteine der Proteine) steht. Die Instruktion des 3er-Codes „AGT“ bedeutet zum Beispiel, dass Serin als nächster Baustein an die bereits zusammengesetzte Bausteinkette gefügt werden soll. Dann folgen weitere Codes und so werden Baustein um Baustein zu einem Protein zusammengefügt. Zum Schluss kommt ein Codon an die Reihe, das dem Ribosom signalisiert, dass die Proteinkette fertig gestellt ist.

Die Codesonne gibt an, welches Codon der m-RNA an den Ribosomen in welche Aminosäure „übersetzt“ wird. Das erste Nukleotid des Codons steht innen; die Codons werden von innen nach außen gelesen. Die Basenabfolge GCC steht zum Beispiel für die Aminosäure Alanin (= Ala), UCA für die Aminosäure Serin (= Ser). Der Code ist redundant, das heißt einige Aminosäuren werden von mehreren Triplets codiert. Die einzelnen Codons haben bei nahezu allen Lebewesen die gleiche Bedeutung. Eine bestimmte m-RNA wird also in fast allen Organismen in das gleiche Protein übersetzt. Damit ist der genetische Code bis auf wenige Ausnahmen universell.



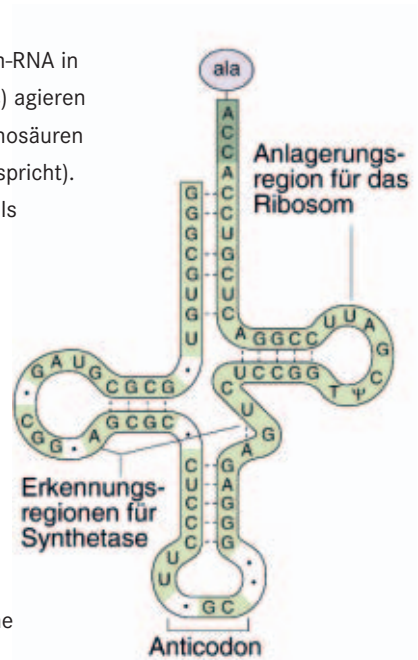
Codesonne



## t-RNA – VERMITTLER ZWISCHEN RNA UND AMINOSÄUREN

Der genetische Code gibt an, welche Basendreiergruppe (Basentriplett) der m-RNA in welche Aminosäure übersetzt wird. Die verschiedenen t-RNAs (transfer-RNAs) agieren dabei als Vermittlermoleküle, die die Basentriplets und die zugehörigen Aminosäuren miteinander in Verbindung bringen (wie ein Dolmetscher, der zwei Sprachen spricht). Aufgrund ihres Aussehens bezeichnet man die Struktur der t-RNA-Moleküle als Kleeblatt.

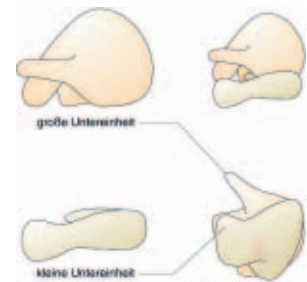
An einer speziellen Stelle besitzt das t-RNA-Molekül ein Basentriplett, das zu einem m-RNA-Basentriplett (Codon) passt. Es wird auch Anticodon genannt. An der dem Anticodon gegenüberliegenden Stelle befindet sich die Verbindungsstelle zwischen t-RNA und der zu transportierenden Aminosäure. Auch die seitlich herausragenden Schleifen haben spezifische Funktionen. Zum Beispiel als Anlagerungsregion für das Ribosom oder Erkennungsregionen für besondere Enzyme, die die Substanzen miteinander verbinden und die richtigen biochemischen Vorgänge gewährleisten. Rund 50 verschiedene t-RNA-Arten sind bekannt – genug, um jeweils eine der 20 Aminosäuren spezifisch zu binden.



t-RNA Molekül

## TRANSLATION – EIN PROTEIN WIRD „MONTIERT“

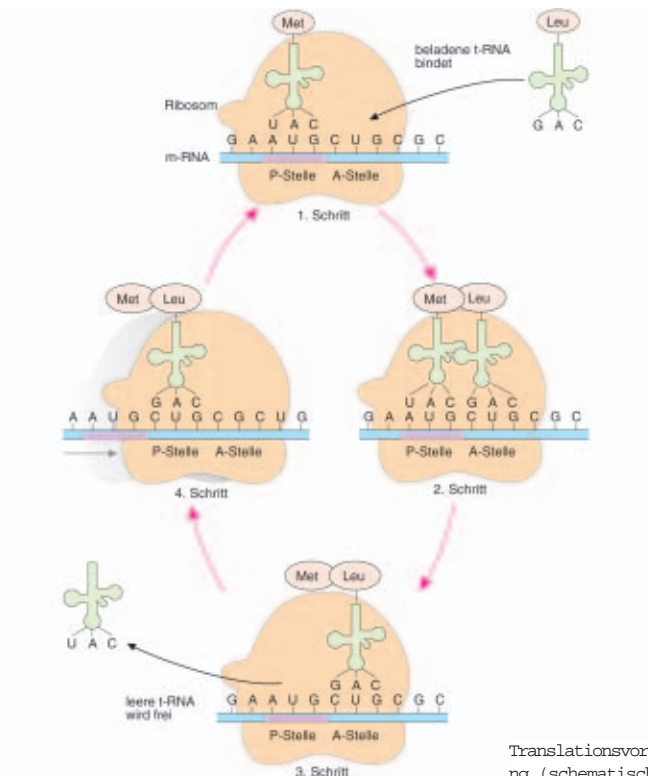
Durch die Transkription wird die Information eines Gens von der DNA auf m-RNA übertragen. Nach dieser Information wird ein Protein mit einer bestimmten Aminosäureabfolge zusammengebaut. Dieser Vorgang wird als Translation zusammengefasst. Die Translation erfolgt an den Ribosomen, den Montagewerken für Proteine. Mit rund 25nm (= 1/40.000mm) sind sie so klein, dass sie selbst im Elektronenmikroskop nur schwer darzustellen sind. Sie bestehen immer aus einer kleinen und einer großen Untereinheit. Die kleine Untereinheit hat primär die Aufgabe, m-RNA und t-RNA zusammenzuführen und so für die richtige Reihenfolge der Aminosäuren im Protein zu sorgen. Die große Untereinheit ist für die chemische Verknüpfung der Aminosäuren zuständig. Die mRNA und die Ribosomen treffen im Zytoplasma, der Zellflüssigkeit, aufeinander.



Ribosom mit seinen beiden Untereinheiten

Die Ribosomen lagern sich zunächst am Startcodon der m-RNA zum funktionsfähigen Ribosom (aufgebaut aus den beiden Untereinheiten) zusammen. Das Starter-Basentriplett der m-RNA ist immer AUG. Das Anticodon der t-RNA ist entsprechend dem Prinzip der komplementären Basenpaarung UAC und trägt die Aminosäure Methionin (s. Code-sonne). Neben dieser ersten Bindungsstelle (sog. P-Stelle) verfügt jedes Ribosom über eine weitere Bindungsstelle.

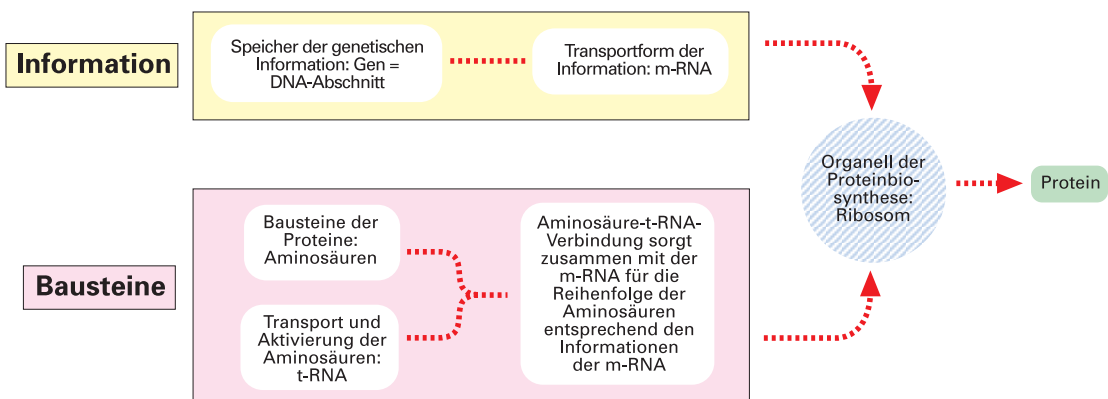
An diese zweite Bindungsstelle (sog. A-Stelle) wird nun das nächste mit einer Aminosäure beladene t-RNA-Molekül angelagert (1. und 2. Schritt). Ihr Anticodon (in der Abbildung: GAC) kommt mit dem zweiten Codon der m-RNA (hier CUG) in Kontakt und wird fest verbunden. Nun werden die beiden Aminosäuren chemisch miteinander verknüpft. Die Aminosäurekette wird nach Vorgabe des nächsten Codons der m-RNA verlängert. Dabei rückt die t-RNA an der P-Stelle aus dem Ribosom heraus. Ihre Aminosäure bleibt aber an das entstehende Protein gebunden (3. Schritt). Die t-RNA der A-Stelle rückt zur P-Stelle vor, die A-Stelle wird frei und kann eine neue t-RNA mit passendem Anticodon binden (4. Schritt). Durch die Wiederholung dieses Vorgangs wird das angefangene Protein jeweils um eine Aminosäure verlängert. Und zwar exakt so, wie es die Codons der m-RNA vorschreiben.



Translationsvorgang (schematisch)



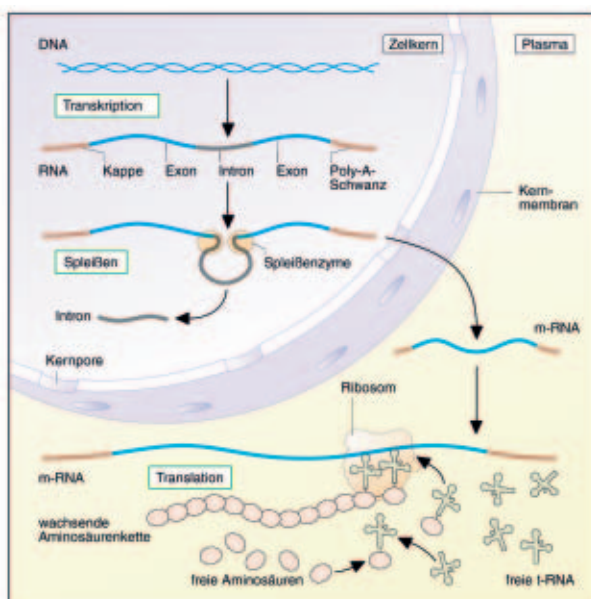
Wenn das Ribosom einige Codons weitergerückt ist, kann sich an das freigewordene Startcodon derselben m-RNA bereits das nächste Ribosom anlagern. So können zeitgleich mehrere Proteine synthetisiert werden. Die Aminosäureketten „wachsen“, bis das benötigte Protein fertig ist. Kommt das Ribosom an ein so genanntes Stopp-Codon der m-RNA (UAA, UAG oder UGA), wird der Translationsprozess abgebrochen und das Ribosom zerfällt in seine Untereinheiten. Das gebildete Protein wird frei und nimmt seine funktionsfähige Struktur ein.



Proteinbiosynthese: beteiligte Stoffe und Aufgaben

### Zusammenfassung

Die Proteinbiosynthese umfasst Transkription und Translation. Nach der Übersetzung der DNA in die RNA wird diese noch an mehreren Stellen verändert (prozessiert, engl. processing). Nur einige Abschnitte der RNA, die Exons, enthalten die Informationen für das Protein. Nicht informationstragende Abschnitte (Introns) werden „herausgeschnitten“



(Spleißen, engl. splicing). „Kappe“ und „Schwanz“ schützen die m-RNA an ihren Enden vor einem ungewollten Abbau. Die so veränderte m-RNA verlässt den Zellkern und kann ihre Funktion im Zytoplasma an den Ribosomen aufnehmen. Die entstehenden Proteine können ihre Funktion in der Zelle bzw. im Organismus übernehmen.

Zusammenfassende Gesamtübersicht zur Proteinbiosynthese





## METHODEN DER GENTECHNIK (s. auch Kap. „RZPD“)

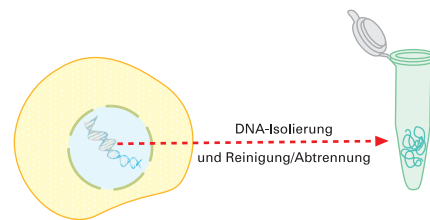
Die Gentechnik umfasst sämtliche Methoden, die sich mit der Isolierung, Charakterisierung, Vervielfältigung und Neukombination von Genen befassen. Gentechnische Verfahren haben auch in der modernen Medizin Einzug gehalten. Sie werden dort bei der Entwicklung und Herstellung von Arzneimitteln, in der Gendiagnostik und in der Gentherapie eingesetzt.

### Einige grundlegende gentechnische Verfahren

Mithilfe gentechnischer Verfahren werden bestimmte Abschnitte aus dem im Zellkern befindlichen Träger der Erbsubstanz (DNA) „herausgeschnitten“ und in das Genom eines anderen Organismus eingesetzt. Folgende Schritte sind dazu notwendig:

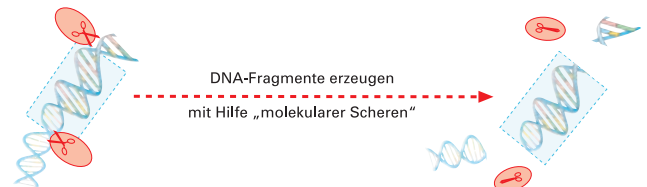
#### Erbgut gewinnen

Das genetische Material kann mit relativ einfachen chemischen Methoden aus Zellen isoliert und von anderen Zellbestandteilen abgetrennt werden.



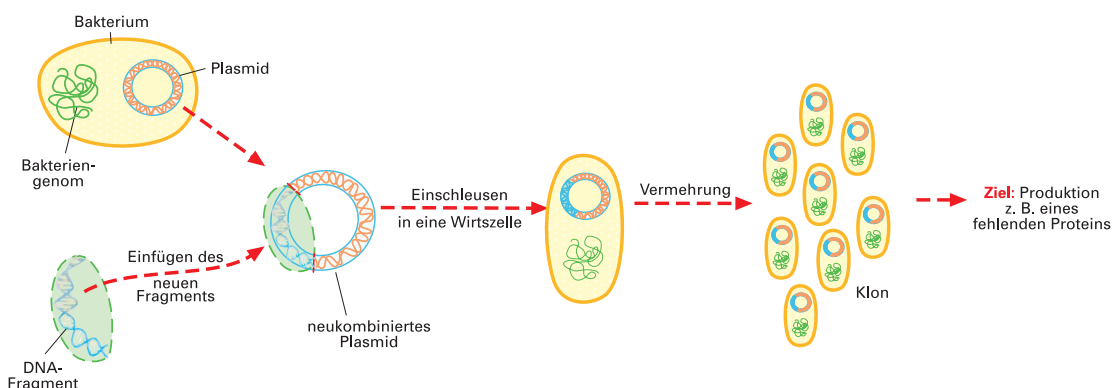
#### Fragmente erzeugen

Um einen bestimmten Abschnitt der DNA zu erhalten und untersuchen zu können, wird die gewonnene DNA mit so genannten Restriktionsenzymen behandelt. Restriktionsenzyme sind aus Bakterien gewonnene Proteine, die als „molekulare Scheren“ die DNA in definierte Teilstücke (Fragmente) zerschneiden.



#### Fragmente klonieren

Isolierte DNA-Fragmente können in verschiedene Organismen übertragen werden. Häufig werden hierfür Bakterien ausgewählt. Wenn sie sich teilen, vermehren sie gleichzeitig das übertragene DNA-Fragment. Sofern es sich dabei um ein Gen handelt, produzieren sie außerdem das entsprechende (gewünschte) Protein. Zur Übertragung und Vermehrung von Genen oder Genabschnitten werden häufig Plasmide und Viren als „Träger“ (= Vektoren) verwendet. Erbmaterial, in das DNA aus einem anderen Organismus eingefügt wurde, nennt man rekombinant. Organismen, denen ein oder mehrere Gene aus einer anderen Art eingesetzt wurden, nennt man transgen.





## **GENETISCHER FINGERABDRUCK VON STAMMZELLEN**

**Prof. Dr. Anthony D. Ho**

Stammzellen besitzen eine Eigenschaft, die sie von anderen Zelltypen unterscheidet: Sie können eine so genannte asymmetrische Zellteilung durchlaufen, das heißt aus einer Stammzelle entstehen zwei verschieden programmierte Tochterzellen. Die erste Tochterzelle dient der Selbsterneuerung. Aus ihr gehen identische Nachkommenzellen zur Erhaltung des Zelltyps hervor. Die zweite entwickelt sich nach einigen Zellteilungen zu hoch spezialisierten Zellen, zum Beispiel Knochen-, Nerven- oder Blutzellen. Dieser Prozess wird als Differenzierung bezeichnet. Die Mitarbeiter unserer Gruppe befassen sich schon seit sieben Jahren mit diesem grundlegenden Lebensprozess und haben die asymmetrische Teilung von Stammzellen aus dem menschlichen Knochenmark untersucht. Dabei konnten wir die Unterschiede im genetischen Programm der verschiedenen Tochterzellen entschlüsseln.

### **Einheitlicher Begriff von „Stammzelle“ – Voraussetzung für die klinische Anwendung**

Bei Forschungs- und Anwendungs-Studien mit Stammzellen haben Wissenschaftler weltweit das Problem, die verschiedenen Zellformen zu unterscheiden und zu benennen. Es fehlen gemeinsame Standards und einheitliche Begriffe, weshalb Ergebnisse verschiedener Forschungsgruppen nur schwer miteinander verglichen werden können. Diese Tatsache kann auch die fehlende Reproduzierbarkeit vieler Experimente erklären, die eine Transdifferenzierung adulter Stammzellen beweisen sollten. Nicht nur die Herstellungsprotokolle, sondern auch die Differenzierungsprotokolle bei der Stammzellforschung sind sehr heterogen. Einige Wissenschaftler forderten zu Recht, dass zunächst mehr die grundlegenden Erkenntnisse der molekularen Charakterisierung von Stammzellen und die Mechanismen der Stammzellfunktion erforscht werden müssen. Zum Beispiel könnten Gene, die den Steuerungsmechanismus der Selbsterneuerung bzw. der Differenzierung einer Stammzelle kontrollieren, als genetische Merkmale verwendet werden.

### **Forschungsergebnisse können jetzt besser verglichen werden**

Daher ist es für die Weiterentwicklung unabdingbar, Stammzellen unter Einsatz der Methoden der Genom- und Proteomforschung präzise zu charakterisieren und die Präparations- und Differenzierungsprotokolle zu vereinheitlichen. Wir untersuchen die Wechselwirkung der humanen Stammzellen aus dem Knochenmark mit der extrazellulären Matrix und den Einfluss der zellulären Umgebung auf das Differenzierungsprogramm. Die Ergebnisse werden zur Standardisierung der Stammzellpräparationen für experimentelle und klinische Anwendungen beitragen. Mithilfe des genetischen Fingerabdrucks können wir jetzt die verschiedenen Tochterzellen eindeutig erkennen und definieren. Dadurch kann zum Beispiel eine Forschergruppe ihre Ergebnisse mit den Resultaten einer anderen Gruppe vergleichen. Stammzellforschern wird es sozusagen ermöglichen, dieselbe Sprache zu sprechen.

### **Gen-Muster der Tochterzellen mit DNA-Chip nachgewiesen**

Um herauszufinden, welche Gene in den Tochterzellen aktiv sind, nutzten wir einen so genannten Gen-Chip, entwickelt vom European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg. Etwa 50.000 DNA-Moleküle, die den theoretischen Bauanleitungen von 50.000 Eiweißstoffen (Proteinen) entsprechen, sind auf einem Glasplättchen gebunden. Da die Tochterzellen verschiedene Aufgaben haben – Selbsterneuerung bzw. Differenzierung zu einer spezialisierten Zelle – müssen in den Zellen verschiedene Proteine mit unterschiedlichen Funktionen gebaut werden. Das bedeutet: Die Tochterzellen verwenden verschiedene Eiweiß-Baupläne, die sich mithilfe des Gen-Chips nachweisen lassen. Wir können also die verschiedenen Tochterzellen anhand ihrer spezifischen Expressionsmuster präzise erkennen.



### **Nutzen für die Krankheitsforschung**

Wissenschaftler setzen große Hoffnungen in die Stammzellforschung, um Krankheiten wie Alzheimer, Diabetes oder Krebs behandeln zu können. Eine wichtige Voraussetzung dafür ist, dass die Forscher das genetische Programm kennen, das hinter der Selbsterneuerung und der Differenzierung von Stammzellen steckt. Unsere Ergebnisse bringen uns einen Schritt weiter auf dem Weg, die Geheimnisse der asymmetrischen Stammzellteilung zu verstehen. Die Ergebnisse werden dazu beitragen, molekulare Leitlinien für die Harmonisierung und Standardisierung menschlicher Stammzellpräparationen als Ausgangsmaterial für die klinische Anwendung zu etablieren. Diese ermöglichen dann eine Vergleichbarkeit der Forschungsergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen. Die Vereinheitlichung der verbindlichen Handlungsanweisungen für Mitarbeiter einer Studie (sog. Standard Operating Procedures = SOP) wird im Interesse der Industrie sein, die ihre Produkte nach den Richtlinien der Good Manufacturing Practice (GMP) herstellen muss.



Prof. Dr. med. Anthony D. Ho  
Universität Heidelberg  
Medizinische Klinik V  
Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie  
Im Neuenheimer Feld 410  
69120 Heidelberg

Tel.: 0 62 21/56-80 00  
Fax: 0 62 21/56-58 13  
E-Mail: [anthony\\_dick.ho@urz.uni-heidelberg.de](mailto:anthony_dick.ho@urz.uni-heidelberg.de)

geboren am 1. Juli 1948 in Hong Kong

### Beruflicher Werdegang

#### Bundesrepublik Deutschland

1983 Habilitation, Universität Heidelberg  
1989–1992 Außerplanmäßiger Professor der Medizin, Universität Heidelberg

#### Kanada

1990–1992 Professor, Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Ottawa; Director of Research and Head of Clinical Trials, Northeastern Ontario Regional Cancer Center, Sudbury, Ontario

#### Vereinigte Staaten (USA)

1992–1998 Professor of Medicine, Division of Hematology/Oncology, Department of Medicine, University of California, San Diego, California  
1996–1998 Co-Division-Chief, Division of Hematology/Oncology, University of California, San Diego, California

#### Bundesrepublik Deutschland

seit 6.3.1998 Ordinarius und Ärztlicher Direktor der Abteilung Innere Medizin V, Universität Heidelberg  
seit 2002 Mitglied der Zentralen Ethikkommission für Stammzellforschung des Robert-Koch-Instituts, Berlin  
seit 2003 Mitglied der Heidelberger Akademie der Wissenschaften  
seit 2003 Ehrenprofessor, Tongji-Universität in Wuhan, China

### Forschungsschwerpunkte

- Biologie und Teilung der Blutstammzellen – Zellteilung der adulten Stammzellen, Asymmetrische Zellteilung, Steuerung der Selbsterneuerung versus Differenzierung der Stammzellen
- Wechselwirkung zwischen Stammzellen und ihren Nischen, Umschulung der adulten Stammzellen durch das Microenvironment, Botenstoffe als Kommunikationswege zwischen Stammzellen und den umgebenden Zellen



### Aktuelle Forschungsprojekte

- DFG 914/2-1: Asymmetrische Zellteilung als Parameter für Selbsterneuerung hämatopoetischer Stammzellen
- DFG 914/3-1: Plasticity potential and asymmetric divisions of hematopoietic stem cells
- BMBF Förderungskennzeichen 01GN0107: Plastizitätspotenzial somatischer Stammzellen aus fötaler Leber, dem Nabelschnurblut und aus Erwachsenenknorpelmark für neurale Differenzierung (Plasticity and engraftment potentials of stem cells derived from fetal liver, umbilical cord blood and adult marrow for neuronal differentiation)
- NGFN-2: Cellular and molecular signatures of human pluripotent stem cells
- Karl und Maria Biesinger-Stiftung: Genomanalyse der symmetrisch versus asymmetrisch geteilten Blut-Stammzellen
- Joachim-Siebeneicher-Stiftung: Selbsterneuerungsfähigkeit somatischer und leukämischer Stammzellen

### Mitgliedschaften

seit 1980	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO)
seit 1981	Deutsche Krebsgesellschaft
seit 1986	American Society of Hematology (ASH)
seit 1987	American Society of Clinical Oncology (ASCO)
seit 1990	American Association of Cancer Research (AACR)
1992–1998	Consultant, Division of Grant Review, National Institute of Health, USA
seit 1993	Counsel, International Society of Experimental Hematology (ISEH)
seit 2002	Zentrale Ethikkommission für Stammzellforschung, Robert-Koch-Institut

### Patente und Auszeichnungen

- U.S. Patent Nr. 5.670.361 vom 23. September 1997: HIV-specific ribozymes
- Best Doctors of America, 1996, 1997, 1998

### Ausgewählte Publikationen

Huang S, Law P, Francis K, Palsson BO, **Ho AD** 1999. Symmetry of initial cell divisions among primitive hematopoietic progenitors is independent of ontogenic age and regulatory molecules. *Blood* 94:2595-2604.

Punzel M, Zhang T, Liu D, Eckstein V, **Ho AD** 2002. Functional analysis of initial cell divisions defines the subsequent fate of individual human CD34+CD38-cells. *Exp Hematol* 30:464-472.

Punzel M, Liu D, Zhang T, Eckstin V, Miesala K, **Ho AD** 2003. Symmetry of initial divisions of human hematopoietic progenitors is altered only by the cellular microenvironment. *Exp Hematol* 31:339-347.

**Ho AD**, Punzel M 2003. Hematopoietic stem cells: can old cells learn new tricks? *J Leukoc Biol* 73:547-555.

Frühauf S, Srbic K, Seggewiss R, Topaly J, **Ho AD** 2002. Functional characterization of podia formation in normal and malignant hematopoietic cells. *J Leukoc Biol* 71:425-432.

Wagner W, Ansorge A, Wirkner U, Saffrich R, Ansorge W, **Ho AD** 2004. Molecular evidence for stem cell function of the slow dividing fraction among human hematopoietic progenitor cells by genome wide analysis. *Blood*, 104:675-686.

**Ho AD** 2005. Kinetics and symmetry of divisions of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol*. 33:1-8.

**Ho AD**, Wagner W, Mahlke U. Stem cells, ageing and regenerative medicine. *EMBO Reports* (in print, 2005).

Wagner W, Saffrich R, Wirkner U, Eckstein V, Blake J, Ansorge A, Schwager C, Wein F, Miesala K, Ansorge W, **Ho AD**. Hematopoietic Progenitor Cells and Cellular Microenvironment – Behavioral and Molecular Changes upon Interaction. *Stem Cells* (in print, 2005).

Wuchter P, Boda-Heggemann J, Straub BK, Grund C, Kuhn C, Krause U, Seckinger A, Spring H, **Ho AD**, Franke WW. Processus adhaerentes: tentacular cell processes studied with special adherens junctions connect human mesenchymal stem cells. *Proc Nat Acad Sci* (in revision, 2005).

## **MIT ZEBRAFISCHEN DEN GENETISCHEN URSACHEN VON HERZ-KREISLAUF-ERKRANKUNGEN AUF DER SPUR**

**Dr. Wolfgang Rottbauer**

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind mit weitem Abstand noch vor allen Tumor-Erkrankungen die häufigste Todesursache in Deutschland und bald auch weltweit. Laut Morbiditäts-Statistik gehören Herz-Kreislauf-Erkrankungen neben neuropsychiatrischen und Infektionskrankheiten zu den häufigsten Krankheiten.

Genetische Untersuchungen im letzten Jahrzehnt haben verdeutlicht, welche immense Bedeutung Erbgut-Veränderungen bei der Entstehung und dem klinischen Verlauf von Herz-Kreislauf-Erkrankungen zuzuschreiben ist. Die systematische Identifizierung der ursächlichen Gendefekte und der dazugehörigen Genkaskaden (= Gene, die im molekularen „Schaltplan des Körpers“ mit dem defekten Gen direkt oder indirekt verkettet sind), ist beim Menschen jedoch äußerst schwierig. Solche Gene lassen sich nur mithilfe großer Mehr-Generations-Familien aufspüren, die in der heutigen Zeit in den Industrienationen kaum noch anzutreffen sind.

### **Zebrafische als Modellorganismus**

Zur systematischen Identifizierung ursächlicher Gendefekte von Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind deshalb so genannte Modellorganismen wie die Maus oder der Zebrafisch nötig. Zebrafische bieten Herz-Kreislauf-Forschern eine Reihe von Vorteilen: (1) Zu Beginn der Entwicklung sind die 3mm großen Fischlarven durchsichtig. Die Herz-Kreislauf-Funktion kann deshalb unter dem Mikroskop im lebenden Fisch direkt beobachtet werden. (2) Im Gegensatz zur Maus sind Zebrafische in den ersten zehn Tagen ihres Lebens nicht auf ein gesundes Herz-Kreislauf-System angewiesen, da der Sauerstoff über Diffusion in den Embryo gelangt. Sie überleben trotz Herzfehler und man kann genau beobachten, wie sich verschiedene Gendefekte auf das Herz-Kreislauf-System auswirken. (3) Das Herz-Kreislauf-System entwickelt sich im Zebrafisch sehr schnell. Schon 72 Stunden nach der Befruchtung der Eizellen ist es ausgereift und entspricht in Struktur und Funktion dem eines neugeborenen Säugetiers.

Mithilfe des Forward Genetic Ansatzes („von der Erkrankung zum Gendefekt“) konnten wir mit so genannten Ethylnitrosurea (ENU)-Mutagenese-Screens erfolgreich eine große Anzahl von Zebrafischen isolieren, die an Herz-Kreislauf-Erkrankungen leiden. Beim ENU-Mutagenese-Screen werden die Zebrafische einer chemischen Substanz ausgesetzt, die das Erbgut an wenigen Stellen verändert. Manche dieser Mutationen verursachen Herz-Kreislauf-Erkrankungen, unter denen in ähnlicher Form auch Menschen leiden. Die zugrunde liegenden Gendefekte konnten wir mit einem genetischen Verfahren, der so genannten positionellen Klonierung, rasch identifizieren. Einige dieser Zebrafischlinien haben sich bereits zu etablierten Modellen für humane Herz-Kreislauf-Erkrankungen entwickelt. Die Entdeckung solcher Gene und der dazugehörigen Genkaskaden ist der erste Schritt auf dem Weg zu neuen Therapien für Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

Unser derzeitiges Forschungsziel ist die Entdeckung weiterer Gene, die an der Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen maßgeblich beteiligt sind. Im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN), sowie einer Förderung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) und die Deutsche Gesellschaft für Kardiologie (Klaus-Georg und Sigrid Hengstberger Stipendium) untersuchen wir derzeit mehr als 30 verschiedene Zebrafischmutanten mit gestörter Herz-Kreislauf-Funktion.



### **liebeskummer (lik) – ein wichtiges Gen für das Herzwachstum**

Im Rahmen unserer Forschungsarbeiten ist es uns gelungen, im Zebrafisch ein neues Gen – liebeskummer – zu identifizieren, welches das Wachstum des Herzmuskels kontrolliert. Beim Zebrafisch lässt das liebeskummer-Gen die Herzmuskulatur zu stark wachsen. Dies wird dem Zebrafisch zum tödlichen Verhängnis. Beim Menschen könnte es ein wichtiger Ansatzpunkt sein, um neue Medikamente zu entwickeln, die den zerstörten Herzmuskel nach einem Herzinfarkt nachwachsen lassen.

### **dead beat (ded) – ein neuer Signalweg, der die Kontraktionskraft des Herzmuskels kontrolliert**

Die Zebrafisch-Mutante dead beat (= todmüde), weist eine ausgeprägte Herzschwäche (Herzinsuffizienz) auf, die durch einen Defekt im Phospholipase C- $\gamma$ 1 Gen verursacht wird. Die Phospholipase ist ein Protein, das phosphorhaltige Fette spaltet. Bei der Spaltung entstehen Botenstoffe, die für die Signalübertragung in der Zelle wichtig sind. Wir konnten durch die Untersuchung der dead beat Zebrafisch-Mutante zeigen, dass ein bestimmter Signalweg in den Herzmuskelzellen, der die Phospholipase C- $\gamma$ 1 aktiviert, für die Aufrechterhaltung der Herzmuskelkraft eine entscheidende Rolle spielt. Nun wollen wir untersuchen, ob wir durch Medikamente diesen neu entdeckten Signalweg beeinflussen können und uns somit eine neuartige Strategie zur Behandlung der Herzmuskelschwäche zur Verfügung steht.

Der Zebrafisch ist mittlerweile ein etabliertes Modell zur Erforschung von Erbkrankheiten. Wie hier gezeigt, ermöglicht uns dieses Modell in systematischer Weise und in großem Maßstab Gene zu identifizieren und zu charakterisieren, die maßgeblich an der Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen beteiligt sind. Außerdem stellt es auch ein exzellentes Tiermodell zur Entwicklung neuer Medikamente dar, die die entsprechenden Genkaskaden und Erkrankungen beeinflussen.





**Dr. med. Wolfgang Rottbauer**  
Medizinische Klinik der Universität Heidelberg  
Abteilung Innere Medizin III  
Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie und Pulmologie  
Bergheimer Straße 58  
69119 Heidelberg

Tel.: 0 62 21/56-3 88 51  
Fax: 0 62 21/56-55 15  
E-Mail: wolfgang.rottbauer@med.uni-tuebingen.de

geboren am 11. Dezember 1967 in Regensburg

### **Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang**

1987–1989	Studium der Medizin, Universität Regensburg
1989–1994	Studium der Medizin, Universität Würzburg
1992–1993	Columbia University, New York, USA
1992–1994	Doktorarbeit, Universität Würzburg
1994	Medizinisches Staatsexamen
1994–1996	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin, Abteilung für Kardiologie und Angiologie, Direktor: Prof. W. Kübler
1996–1998	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Universitätsklinikum Lübeck, Innere Medizin, Abteilung für Kardiologie und Angiologie, Direktor: Prof. H. A. Katus
1998–2001	Research Fellow an der Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Cardiovascular Research Center, Boston, USA, Direktor: Prof. M. C. Fishman
2002–2004	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin III, Abteilung für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie, Direktor: Prof. H. A. Katus
seit 2004	Oberarzt am Universitätsklinikum Heidelberg, Innere Medizin III, Abteilung für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie, Direktor: Prof. H. A. Katus

### **Wissenschaftliche Preise und Patente**

1998–2000	DFG-Stipendium (R02173/1)
2003	Oskar-Lapp-Forschungspreis der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie
2003–2005	Hengstberger-Stipendium der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie
2002–2004	Patente PTC US02/031150, PTC US02/031234, PTC US02/03441



### Forschungsschwerpunkt

Identifizierung der molekularen Ursachen von Herzfehlbildungen und der Herzmuskelschwäche am Zebrafisch-Modell

### Ausgewählte Publikationen

**Rottbauer W**, Just S, Wessels G, Trano N, Most P, Katus HA, Fishman MC (2005). VEGF-PLC $\gamma$ 1 pathway controls cardiac contractility in the embryonic heart. *Genes and Dev.*, accepted for publication.

**Rottbauer W** & Fishman MC (2004). Development of the heart and vasculogenesis. In: *Molecular Basis of Inborn Errors of Development*. Edited by CJ Epstein, RP Erickson, Waynshaw-Boris. Oxford University Press, New York.

Grundt A & **Rottbauer W** (2004). Mutagenesis approaches in the zebrafish. In: *Encyclopic Reference of Genomics and Proteomics*. Edited by K. Ruckpaul and D. Ganten. Springer Verlag, Heidelberg.

**Rottbauer, W**, Saurin AJ, Lickert H, Shen X, Burns CG, Wo ZG, Kemler R, Kingston R, Wu C and Fishman MC (2002). Reptin and Pontin antagonistically regulate heart growth in zebrafish embryos. *Cell*, 111:661-672.

**Rottbauer, W**, Baker K, Z. Wo ZG, Mohideen M-APK, Cantiello HF, Fishman MC (2001). Growth and function of the embryonic heart depend upon the cardiac-specific L-type calcium channel  $\alpha$ 1 subunit. *Dev Cell*, 1:265-275.

**Rottbauer, W**, Gautel M, Zehelein J, Labeit S, Franz WM, Fischer C, Vollrath B, Mall G, Dietz R, Kübler W, Katus HA. (1997). A Novel Splice Donor Site Mutation in the Cardiac Myosin Binding Protein-C Gene in Familial Hypertrophic Cardiomyopathy: Characterization of Cardiac Transcript and Protein. *J. Clin. Invest.* 100(2):475-482.



## **KREBS: NEUE ANSÄTZE FÜR INDIVIDUELLE THERAPIESTRATEGIEN**

**Dr. Nikolas von Bubnoff, Prof. Dr. Justus Duyster**

Jeder vierte Deutsche stirbt an Krebs. Zurzeit gibt es etwa vier bis fünf Millionen Krebskranke, jährlich erkranken etwa 350.000 Menschen neu. Die Mechanismen der Krebsentstehung werden in den letzten Jahren immer besser verstanden. Bestimmte Krebsformen entstehen, weil Chromosomen, die Träger der genetischen Information in einer Zelle, auseinander brechen und falsch wieder zusammengeknüpft werden. Wenn sich an der schadhafte Stelle Gene für wichtige Proteine befinden, dann werden auch diese falsch zusammengesetzt. Das kann dazu führen, dass Proteine, die das Wachstum und die Ausreifung der Zelle steuern, permanent aktiv sind. Die betroffenen Zellen wachsen dann unkontrolliert und reifen nicht mehr aus. So kann zum Beispiel das Protein Bcr-Abl durch unkontrollierte Vermehrung von weißen Blutkörperchen eine bestimmte Art Blutkrebs verursachen: die chronische myeloische Leukämie (CML; Leukämie = weißes Blut). Der Abl-Teil dieses Proteins ist eine so genannte Kinase, die in Signalwegen Phosphatgruppen auf andere Proteine überträgt. Das Verständnis dieser Vorgänge eröffnet die Möglichkeit einer zielgerichteten Therapie, die direkt das Krebs-auslösende Protein angreift, in diesem Fall also Bcr-Abl.

### **Punktmutationen verändern Medikamenten-Wirksamkeit**

Seit 2001 gibt es gegen CML ein Medikament: Imatinib-Mesylat (Glivec). Imatinib lagert sich an den Abl-Teil von Bcr-Abl an und hemmt die Kinase. Das Protein ist damit aktionsunfähig und die kranken Blutzellen sterben ab. Bei vielen der so behandelten Patienten verschwinden die Krebszellen durch diese nebenwirkungsarme Therapie dauerhaft. Leider werden bei einem Teil der Patienten die Blutzellen aber unempfindlich (resistent) gegenüber Imatinib. Die Ursache hierfür sind Fehler bei der Verdopplung der DNA. Diese kleinen genetischen Schäden (Mutationen) werden in Leukämiezellen nicht korrekt repariert. Hierdurch kann es zu kleinen Strukturveränderungen im Bcr-Abl-Protein kommen, die dazu führen, dass sich die Bindungsstelle für Imatinib „verformt“. Die Bindung von Imatinib wird dadurch verhindert und das Medikament verliert seine Wirkung. Wir und andere Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass mehrere dieser Punktmutationen an unterschiedlichen Positionen des Abl-Teils von Bcr-Abl eine Resistenz gegenüber Imatinib verursachen können. Derzeit werden Strategien untersucht, welche die Entstehung einer Resistenz unterbinden oder die es erlauben, Leukämiezellen auch dann abzutöten, wenn eine Resistenz gegenüber Imatinib vorliegt. Eine Reihe alternativer Substanzen der „zweiten Generation“ haben wir in unserem Labor untersucht. Wir haben herausgefunden, dass einige dieser Substanzen auch dann wirksam die Abl-Kinase hemmen, wenn eine Bcr-Abl-Mutation die Bindung von Imatinib verhindert. Allerdings können auch bei diesen alternativen Substanzen spezifische Mutationen auftreten, die eine Resistenz gegen das Medikament verursachen.

### **Vorhersage von Resistenzprofilen**

Auf lange Sicht kann man davon ausgehen, dass in der Therapie der CML bereits von Beginn an verschiedene Kinase-Hemmer miteinander kombiniert werden oder aber mehrere aufeinander folgende Therapiestrategien zur Anwendung kommen. Dieses Szenario erinnert an die Therapie von Infektionskrankheiten, zum Beispiel die Behandlung der Tuberkulose mit Antibiotika oder an die antivirale Therapie bei AIDS. In beiden Fällen sind Kombinationstherapien für einen Behandlungserfolg unverzichtbar. Ein entscheidender Fortschritt für die Entwicklung solcher Therapiestrategien bei der CML wäre die Entwicklung einer Methode, die es erlaubt, spezifische „Resistenzprofile“ für therapeutisch eingesetzte Medikamente vorherzusagen. Wir haben eine derartige Methode entwickelt. Sie könnte zu einer Optimierung der Therapie im Hinblick auf sequenzielle und Kombinationsstrategien beitragen und damit in Bezug auf spezifische Resistenzmechanismen Ergebnisse aus langwierigen klinischen Studien vorwegnehmen. Bei dieser Methode geben wir eine Kinase-hemmende Substanz zu einer Kultur von Zellen, die Bcr-Abl tragen. Dadurch stirbt der größte Teil der



Blutkrebs-Zellen in der Kultur ab. Nur einzelne Zellen überleben – nämlich solche mit Veränderungen, die eine Resistenz verursachen. Wir wissen aus der Anwendung dieser Methode mit Imatinib, dass die hierbei beobachteten Veränderungen genau denen entsprechen, die auch bei Patienten mit CML und Resistenz gegenüber Imatinib beobachtet werden. Dieser Vergleich ist möglich, da mittlerweile eine große Zahl von Patienten mit Imatinib-Resistenz untersucht worden ist. So beobachtet man in diesen Zellen ein Muster an Resistenzmutationen innerhalb des Bcr-Abl Gens, das dem der Patienten entspricht. Welche Unterschiede finden sich nun, wenn man alternative Substanzen der zweiten Generation mit diesem System untersucht? Im Wesentlichen kann man folgende Phänomene beobachten:

1. Die Häufigkeit von Resistenzen ist bei einigen dieser Substanzen niedriger als bei Imatinib – und das bei Konzentrationen, die genau die gleiche Aktivität gegenüber Bcr-Abl aufweisen.
2. Das Muster der beobachteten Resistenzmutationen kann sich unterscheiden, das heißt „kritische“ Positionen sind für verschiedene Kinase-Hemmer teilweise unterschiedlich.
3. Bei einigen dieser Substanzen kann man durch eine geringfügige Steigerung der Konzentration Resistenzen weitestgehend unterbinden. Unter diesen Bedingungen findet sich in den nun sehr selten auftretenden resistenten Zellen lediglich eine einheitliche Mutation. Für diese Mutation, die einen Austausch einer Aminosäure an Position 315 verursacht, ist derzeit noch keine wirksame therapeutische Substanz bekannt.

Wir untersuchen derzeit gezielt solche Substanzen, die in Therapiestudien eingesetzt werden. Daneben wenden wir diese Methode auch für andere Krebsarten an, bei denen ähnliche Mechanismen zur Entstehung und Aufrechterhaltung der Erkrankung beitragen und für die therapeutisch einsetzbare Kinase-Hemmer zur Verfügung stehen. Dazu gehören bestimmte Formen der akuten Leukämie und Lungentumoren. Derartige Strategien werden es nach unserer Überzeugung in Zukunft erlauben, für die CML und andere Krebsarten individuelle Therapiestrategien zu entwickeln, die eine höhere Heilungsrate zum Ziel haben.



Dr. med. Nikolas von Bubnoff  
 III. Medizinische Klinik und Poliklinik  
 Klinikum rechts der Isar  
 Technische Universität München  
 Ismaninger Straße 22  
 81675 München

Tel.: 0 89/41 40-26 68  
 Fax: 0 89/41 40-48 54  
 E-Mail: n.bubnoff@lrz.tu-muenchen.de

geboren am 2. November 1968 in München

### Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang

1990–1997	Studium der Humanmedizin in München
1999	Promotion, Thema: „Untersuchungen zur Wirksamkeit von Interferon- $\alpha$ bei der chronischen lymphatischen Leukämie“
seit 1999	Assistenzarzt in der III. Medizinische Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München (Direktor: Univ.-Prof. Christian Peschel)
seit 2002	Gruppenleiter im Labor für experimentelle Hämatologie von Prof. Justus Duyster

### Forschungsschwerpunkte

- Molekulare Pathogenese akuter und chronischer Leukämien
- Molekulare Therapie solider und hämatologischer Neoplasien
- Resistenzmechanismen gegenüber therapeutisch eingesetzten Kinaseinhibitoren

### Ausgewählte Publikationen

**von Bubnoff N**, Barwisch S, Speicher MR, Peschel C, Duyster J.

A Cell-Based Screening Strategy that Predicts Mutations in Oncogenic Tyrosine Kinases: Implications for Clinical Resistance in Targeted Cancer Treatment. *Cell Cycle*. 2005;4:400-406.

**von Bubnoff N**, Veach DR, van der Kuip H, Aulitzky WE, Sanger J, Seipel P, Bornmann WG, Peschel C, Clarkson B, Duyster J. A cell-based screen for resistance of Bcr-Abl-positive leukemia identifies the mutation pattern for PD166326, an alternative Abl kinase inhibitor. *Blood*. 2005;105:1652-1659.

**von Bubnoff, N**, Veach DR, Miller WT, Li W, Sanger J, Peschel C, Bornmann WG, Clarkson B, Duyster J. Inhibition of wild-type and mutant bcr-abl by pyrido-pyrimidine-type small molecule kinase inhibitors. *Cancer Res.* 2003;63:6395-6404.

**von Bubnoff, N**, Peschel, C, and Duyster, J. Resistance of Philadelphia-chromosome positive leukemia towards the kinase inhibitor imatinib (STI571, Glivec): a targeted oncoprotein strikes back. *Leukemia.* 2003;17:829-838.

**von Bubnoff N**, Schneller F, Peschel C, Duyster J. BCR-ABL gene mutations in relation to clinical resistance of Philadelphia-chromosome-positive leukaemia to STI571: a prospective study. *Lancet.* 2002;359:487-491.



Prof. Dr. med. Justus Duyster  
III. Medizinische Klinik und Poliklinik  
Klinikum rechts der Isar  
Technische Universität München  
Ismaninger Straße 22  
81675 München

Tel.: 0 89/41 40-41 04  
Fax: 0 89/41 40-48 79  
E-Mail: justus.duyster@lrz.tu-muenchen.de

geboren am 27. September 1961 in Hildesheim

### Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang

1982–1988	Medizinstudium in Freiburg
1989–1992	Assistenzarzt am Biochemischen Institut der Universitätsklinik Freiburg
1992–1994	Department of Biology, UCSD San Diego, USA
1994–1996	Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin
1996–1998	Universitätsklinik Ulm
seit 1998	Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München
seit 2004	Leitender klinischer Oberarzt und Leiter der Abteilung für experimentelle Hämatologie, Innere Medizin III am Klinikum rechts der Isar

### Wissenschaftliche Schwerpunkte

- Signaltransduktion onkogener Tyrosinkinasen bei hämatologischen Neoplasien und soliden Tumoren
- Präklinische und klinische Entwicklung molekularer Therapieansätze bei malignen Erkrankungen
- Mechanismen der Resistenzentwicklung unter Signaltransduktionsinhibitoren
- Zellzyklus-Regulation in transformierten Zellen und Regulation der RNA Stabilität

### Ausgewählte Publikationen

Bassermann F, von Klitzing C, Munch S, Bai RY, Kawaguchi H, Morris SW, Peschel C, **Duyster J**. Nipa defines a novel SCF-type mammalian E3 ligase that regulates mitotic entry. Cell, in press (2005).

Grundler R, Miething C, Thiede C, Peschel C, **Duyster J**. FLT3-land tyrosine kinase mutants induce two distinct phenotypes in a murine bone marrow transplant model. Blood, in press (2005).

von Bubnoff N, Veach DR, van der Kuip H, Aulitzky WE, Sanger J, Seipel P, Bornmann WG, Peschel C, **Duyster J**. A cell-based screen for resistance of Bcr-Abl-positive leukaemia identifies the mutation pattern for PD166326, an alternative Abl kinase inhibitor. *Blood* 105:1652-1659 (2005).

von Bubnoff N, Schneller F, Peschel C, **Duyster J**. Bcr-Abl gene mutations in relation to clinical resistance of Philadelphia-chromosome-positive leukaemia to STI571: a prospective study. *Lancet* 259: 487-491 (2002).

Bai RY, Koester C, Ouyang T, Hahn SA, Hammerschmidt M, Peschel C, **Duyster J**. SMIF, a Smad-4 interacting protein that functions as a co-activator in TGFbeta signalling. *Nature Cell Biol* 4:181-190 (2002).





## **DAS DEUTSCHE RESSOURCENZENTRUM FÜR GENOMFORSCHUNG (RZPD)**

Das Deutsche Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD) ist Europas größtes Servicezentrum für die funktionelle Genomforschung. Der zentrale Baustein des RZPD ist die weltweit umfangreichste öffentlich zugängliche Klon-sammlung: Mehr als 35 Millionen Klone ruhen in den Tiefkühlschränken, um bei Bedarf an Forschergruppen versandt zu werden. Zusätzlich bietet das Berliner Ressourcenzentrum den Wissenschaftlern aus Industrie und Forschung individuell abgestimmte Hochdurchsatztechnologien, Automatisierungslösungen und standardisiertes Referenzmaterial an. Dieser Service wird durch eine sehr enge Zusammenarbeit mit deutschen und internationalen akademischen und industriellen Partnern gewährleistet.

Durch die zentrale Bereitstellung verschiedener Technologien werden die eingesetzten finanziellen Mittel optimal genutzt. Das RZPD sichert darüber hinaus einen hohen Qualitätsstandard, denn alle Produkte unterliegen strengen Kontrollen nach den Richtlinien der internationalen Norm für Qualitätsmanagementsysteme (DIN EN ISO 9001:2000). Die Forscher werden durch den Service einerseits von Routineaufgaben befreit. Andererseits können sie aufgrund der hohen und gleich bleibenden Qualität Daten verschiedener Experimente besser vergleichen.

Ergebnisse, die mit dem Material des RZPD gewonnen werden, sind öffentlich zugänglich. Sie werden außerdem mit weiteren Informationen aus öffentlichen Datenbanken verknüpft. Alle Materialien werden mit international standardisierten Kennungen versehen, so dass eine systematische Suche mit unterschiedlichen Fragestellungen möglich ist. Die Nutzung der Ergebnisse, die mit den bereitgestellten Materialien oder Informationen erzielt werden, bleibt dabei allein in der Hand der Forscher. Das RZPD erhebt keine Ansprüche auf geistiges Eigentum aus diesen Erkenntnissen.

Geleitet wird das RZPD von einem wissenschaftlichen und einem administrativen Geschäftsführer. Alle Aktivitäten werden durch einen international renommierten wissenschaftlichen Beirat begleitet. Die Gesellschafter des RZPD sind die Max-Planck-Gesellschaft (50 Prozent), das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (25 Prozent) und das Deutsche Krebsforschungszentrum (25 Prozent).



## **STATIONEN DER EXKURSION**

- **Automatisiertes Picken von Bakterienklonen**
- **PCR: automatisiertes Kopieren von DNA-Abschnitten**
- **Automatisiertes Replizieren von Genbanken**
- **Roboter-unterstützte Herstellung von Klon-Matrizen**
- **Lagerung von Genbanken bei -80°C**
- **Herstellung und Verwendung von Gen-Chips**
- **Bioinformatische Analysen von Genom-Daten**
- **Handpicken von Klonen, Versand in alle Welt**



## Erläuterungen zu den Stationen der Exkursion

### **PCR: AUTOMATISIERTES KOPIEREN VON DNA-ABSCHNITTEN**

Kaum eine Methode hat die biologische Wissenschaft so schnell und umfassend revolutioniert wie die PCR (= Polymerase Chain Reaction, dt: Polymerase-Kettenreaktion). Die PCR ist ein Kopierverfahren, bei dem winzige Mengen an DNA in kürzester Zeit vervielfältigt werden, so dass genügend Material für weitere Untersuchungen zur Verfügung steht. Theoretisch genügt für die PCR ein einziges DNA-Molekül – die PCR ist damit eine der empfindlichsten biologischen Techniken überhaupt. Mithilfe der PCR können zum Beispiel Krankheitserreger oder krankheitsrelevante Gen-Veränderungen nachgewiesen werden. Weitere Anwendungsgebiete neben der medizinischen Diagnostik sind: Archäologie, Gerichtsmedizin, Vaterschaftsnachweise, genetische und biologische Forschung.

Das Grundprinzip der PCR ist einfach: Die Anzahl der kopierten DNA-Moleküle wird in einer Kettenreaktion immer und immer wieder verdoppelt, so dass aus einem DNA-Molekül nach 20 Verdopplungsrunden (= PCR-Zyklen) etwa eine Million Moleküle entstehen. Die DNA-Strang-Verdopplung wird von einem bestimmten Protein, der Taq-DNA-Polymerase, durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein Enzym, das aus einer Bakterienart stammt, die in Heißwasserquellen lebt. Deshalb ist diese Polymerase besonders hitzebeständig. Das ist eine wichtige Voraussetzung, da einzelne Schritte der PCR bei hohen Temperaturen (bis zu 95°C) durchgeführt werden müssen. Bei diesen Temperaturen werden Proteine normalerweise zerstört. Die Taq-DNA-Polymerase verbindet einzelne Nukleotid-Bausteine zu langen DNA-Molekülsträngen. Sie benötigt dafür

1. die Bausteine der DNA – die Nukleotide mit den Basen Adenin, Thymin, Cytosin oder Guanin (A, T, C oder G).
2. ein kleines Stück DNA, an das sie die Bausteine anbauen kann (die sog. Startermoleküle, engl. „Primer“).
3. einige Exemplare des DNA-Moleküls, von dem ein definierter Abschnitt kopiert werden soll. Diese DNA-Moleküle dienen sozusagen als Schablone (= Matrize) für den Zusammenbau der neuen Stränge.

Für die PCR werden zwei Startermoleküle benötigt. Diese Primer kann man synthetisch herstellen. Ihre Basenabfolge wird so gewählt, dass die Sequenz des einen Primers komplementär zur Startsequenz eines Strangs der DNA-Doppelhelix ist, während die des anderen zur Startsequenz des zweiten Strangs derselben DNA-Doppelhelix des jeweiligen DNA-Abschnitts passt, den man vervielfältigen möchte. Die beiden Startermoleküle lagern sich deshalb genau an die Flanken des interessierenden DNA-Bereiches an, der eine am ersten Einzelstrang und der andere am komplementären zweiten Einzelstrang. Die Taq-DNA-Polymerase baut nun an die Starter einen zum Matrizenstrang jeweils passenden Nukleotid-Baustein an. Enthält das nächste Nukleotid der Matrize beispielsweise ein A, dann bekommt der Starter ein T-Nukleotid angehängt, bei einem G ist es ein C-Nukleotid. Auf diese Weise kann die Polymerase den Primer bis zum Ende der Matrize verlängern. In der Natur erfolgt ein ähnlicher Vorgang bei der Zellteilung, wenn die DNA-Polymerase das Erbgut verdoppelt (= Replikation, s. Kap. „Grundlagen der Genomforschung“). Der DNA-Doppelstrang windet sich auf und die Basenpaare lösen sich voneinander. Jeder der bisherigen DNA-Einzelstränge bildet die Vorlage für den neu zu bildenden komplementären Strang. Allerdings wird bei der Replikation der gesamte DNA-Strang verdoppelt, und nicht – wie bei der PCR – nur ein Ausschnitt von mehreren hundert Basenpaaren vervielfältigt.



### PCR-Ablauf

Die PCR beruht auf einem mehrfach wiederkehrenden Zyklus aus drei Schritten:

#### 1 Denaturierung („Auftrennung“)

Zunächst wird der DNA-Doppelstrang durch Erhitzen auf über 90°C in die beiden Einzelstränge getrennt (= denaturiert).

#### 2 Primer-Anlagerung

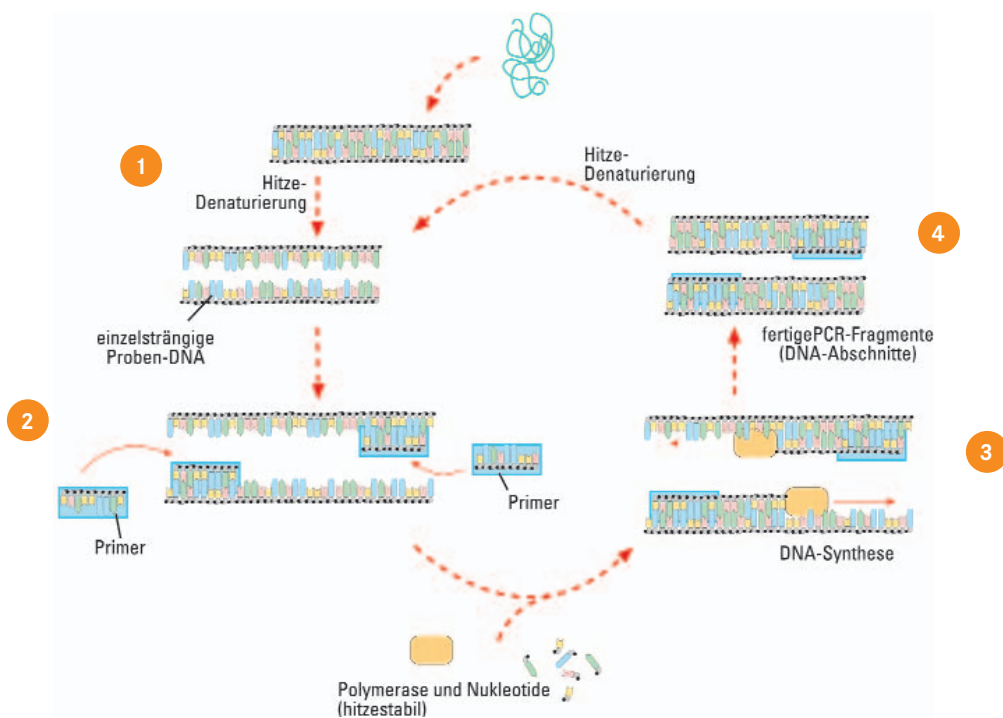
Im zweiten Schritt wird die Temperatur auf ca. 37 bis 65°C abgekühlt, so dass sich die beiden Primer an den DNA-Strang anlagern können.

#### 3 Verlängerung

Im dritten Schritt wird die Temperatur wieder erhöht, diesmal auf 72°C. Das ist die ideale Arbeitstemperatur für die verwendete Taq-DNA-Polymerase. Die Polymerase baut Nukleotide an die Primer an und verlängert diese so zu DNA-Strängen.

#### 4 Endprodukt

Endprodukte des ersten PCR-Zyklus sind zwei DNA-Stränge (PCR-Fragmente).





## RNA-PCR

Auch RNA-Moleküle kann man mithilfe der PCR vervielfältigen. Allerdings kann das RNA-Molekül selbst nicht für die PCR verwendet werden, denn es wird von der Taq-DNA-Polymerase nicht als Matrize akzeptiert. Die RNA ist mit der DNA zwar eng verwandt, sie unterscheidet sich jedoch in zwei wesentlichen Punkten:

- Der Zuckerbestandteil der RNA ist Ribose (anstelle von Desoxyribose).
- Statt Thymin enthält sie die Base Uracil.

Um dennoch das RNA-Molekül über eine PCR vervielfältigen zu können, wird die Basenabfolge der RNA in eine DNA-Sequenz „umgeschrieben“. Dazu verwendet man ein Protein namens „Reverse Transkriptase“ (eine Polymerase, die aus einem RNA-Virus stammt). Lagert sich ein Startermolekül an das RNA-Molekül an, dann wird dieses durch die Reverse Transkriptase verlängert. Dabei hängt das Enzym allerdings DNA-Nukleotid-Bausteine an den Primer an, so dass ein DNA-Einzelstrang entsteht, der komplementär zur RNA-Sequenz ist. Das Produkt enthält also dieselbe genetische Information wie das RNA-Molekül, ist aber aus DNA-Bausteinen aufgebaut.

Mithilfe der RNA-PCR können bestimmte Viren nachgewiesen werden, denn das Erbgut etlicher klinisch relevanter Viren (z. B. HI-Virus, Hepatitis C-Virus) besteht aus RNA. Außerdem ist die RNA-PCR ein wichtiger Schritt bei der Herstellung von cDNA-Bibliotheken (s. nächste Seite).



## KLONSAMMLUNGEN UND cDNA-BANKEN

### a.) cDNA-Bank

Wir kennen heute die Buchstabenabfolge der Erbinformation vieler Organismen – einschließlich der des Menschen. Der Fokus der Wissenschaft richtet sich nun darauf, die Gene und Genprodukte zu analysieren und ihre Funktionen zu entschlüsseln. Obwohl alle Zellen eines Organismus die gleiche Erbinformation besitzen, wird in einer Zelle zu einem bestimmten Zeitpunkt immer nur ein kleiner Anteil abgelesen und umgesetzt. Dadurch entsteht ein genetisches Muster, das die Zelle charakterisiert und ihre Funktionen festlegt. Eine Leberzelle weist zum Beispiel ein anderes Muster auf als eine Nervenzelle. Die Kenntnis in welchen Geweben und wann bzw. wie oft ein Gen abgelesen wird, kann deshalb Hinweise auf die Funktion des Genprodukts geben. Ein wichtiges Instrument für die Funktionsanalysen sind so genannte cDNAs. cDNA ist die Abkürzung für complimentary-DNA. Es handelt sich um DNA-Kopien der mRNA (messenger-/Boten-RNA), die als mobiler Überträgerstoff zwischen der im Zellkern fixierten DNA und dem Synthesort der Genprodukte (Proteine) außerhalb des Zellkerns dient. Sie wird nur von den Genen angefertigt, die im Folgenden in Proteine übersetzt werden sollen. Nimmt man alle mRNA-Moleküle einer Zelle zusammen, hat man also Kopien aller Gene, die in dieser Zelle in diesem Moment in Proteine übersetzt werden (man spricht hier auch von aktiven Genen). Eine direkte biochemische Analyse dieser mRNA-Moleküle ist allerdings nur schwer möglich, da mRNA instabil ist und schnell abgebaut wird. Zur besseren Handhabung wird deshalb zunächst eine DNA-Kopie der mRNA erstellt. Dies geschieht über die so genannte RNA-PCR, die sich nur in wenigen Punkten von der DNA-PCR unterscheidet (s. Text „RNA-PCR“). Die entstandenen cDNA-Fragmente werden dann in kleine, ringförmige DNA-Moleküle (= Vektoren) eingebaut. Diese Vektoren dienen sozusagen als Transportvehikel: Durch sie können die cDNA-Fragmente leicht in Wirtszellen eingeschleust und dort vermehrt werden. Zellen, die von derselben Mutterzelle abstammen und demnach alle einen Vektor mit demselben cDNA-Fragment besitzen, bezeichnet man als Klone – sie sind genetisch identisch. In diesem Fall spricht man auch von cDNA-Klonen. Eine Sammlung von unterschiedlichen cDNA-Klonen, die die abgelesene und umgesetzte Erbinformation einer Zelle (oder eines Gewebes) repräsentieren, bezeichnet man als **cDNA-Bank** oder Bibliothek.

### b.) Genomische Banken

Genomische Banken stellt man her, indem zunächst die Erbgut-DNA der Zellen isoliert und dann durch „molekulare Scheren“ (Restriktionsenzyme) in kleinere Stücke zerlegt. Diese DNA-Fragmente werden in Vektoren eingefügt, in Wirtszellen eingeschleust und dort vermehrt. Im Unterschied zur cDNA-Bank beinhaltet eine Vielzahl der so entstandenen Konstrukte keine vollständigen Gene, sondern besteht aus Gen-Bruchstücken und/oder aus Sequenzbereichen, die nicht für Proteine kodieren. Die Klone einer genomischen Bank repräsentieren zusammen große Bereiche oder sogar die gesamte genomische Sequenz (das gesamte Genom) eines Organismus.

Einen besonderen Service bietet die Klonsammlung des RZPD: Über 35 Millionen verschiedene, einzeln adressierbare cDNA- und genomische Klone stehen den Wissenschaftler zur Verfügung. Alle Klone befinden sich in Mikrotiterplatten. Das sind Lochplatten mit 96 bzw. 384 Löchern. Diese Löcher sind regelmäßig angeordnet (12 x 8 = 96): 12 Spalten (Nummerierung auf der Platte: 1–12), 8 Reihen (Nummerierung auf der Platte: A–H). Jedes Loch einer jeden Platte – die Platten sind ebenfalls fortlaufend durchnummeriert – gehört zu einer bestimmten Bibliothek. Die Bibliotheken tragen ebenfalls einzigartige Nummern. Die Adresse eines jeden Lochs einer jeden Platte und des darin lebenden Klons ist damit eindeutig. Dieses umfassende Angebot, das über eine benutzerfreundliche Suchmaschine auf der Webseite des RZPD zugänglich ist, ist einzigartig – das RZPD besitzt die größte öffentliche Klonsammlung weltweit.



## ARRAYS

Bei der Array-Technologie handelt es sich um ein Hochdurchsatzverfahren, das die gleichzeitige Analyse einer großen Anzahl von Genen oder Genprodukten ermöglicht. So kann zum Beispiel mithilfe eines so genannten DNA-Chips schnell und effektiv untersucht werden, welche Gene in welchen Geweben oder zu welchem Zeitpunkt abgelesen werden. Der DNA-Chip ist nicht viel größer als eine Münze und besteht aus Glas oder aus einer Membran. Er ist in viele kleine Felder unterteilt und auf jedem dieser kleinen Felder ist ein bestimmtes Gen fixiert, so dass dessen Position auf dem Chip genau festgelegt ist. Daher wird ein solcher Chip auch DNA-Array genannt (engl., „array“ = Anordnung). Manche Chips haben bis zu 1,3 Millionen Felder, so dass es möglich ist, zehntausende von Genen gleichzeitig zu untersuchen.

Interessiert einen Wissenschaftler, welche Gene nur in einer Tumorzelle – und nicht in einer gesunden Zelle – in Eiweiße übersetzt werden, so kann er das mithilfe eines DNA-Arrays bestimmen. Für diesen Ansatz werden zunächst die mRNA-Moleküle der beiden Zelltypen isoliert und in cDNA übersetzt (s. Text „Klonsammlungen und cDNA-Banken“). Die entstandenen cDNA-Fragmente werden mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert. Zum Beispiel die cDNA-Fragmente der Krebszellen rot und die der gesunden Zellen grün. Die beiden Ansätze werden im folgenden Schritt gemischt, und Pipettier-Roboter impfen kleine Tröpfchen dieses Gemisches auf jedes Feld des DNA-Arrays. Wenn es in dem Gemisch ein cDNA-Fragment gibt, das genau zu dem Gen des jeweiligen Chip-Feldes passt (= komplementär ist), dann bindet dieses Fragment an das Gen. Aufgrund der Fluoreszenzmarkierung leuchtet das entsprechende Feld dann unter Laserlicht farblich auf. Gene, die spezifisch für Krebszellen sind, würden in diesem Ansatz rot leuchten, während Gene, die nur in gesunden Zellen abgelesen werden, grüne Signale ergeben. Ein Gen wiederum, das in beiden Zellarten aktiv ist, würde aufgrund der Farbüberlappung gelb dargestellt werden. Ein Vergleich dieser Farbsignale deckt die Unterschiede der genetischen Aktivität der beiden Zelltypen auf.

### Das RZPD bietet unterschiedliche Array-Systeme an:

#### Kundenspezifische Makroarrays (Customized Macroarrays)

Das RZPD verwendet ein voll automatisiertes Verfahren, um die Makroarrays zu produzieren. Roboter drucken die Proben mit einer Dichte von 125 Spots pro cm<sup>2</sup> auf die Membranen. Abhängig vom Probenmaterial können die fertigen Makroarrays für bis zu zehn Analysen verwendet werden.

**cDNA-Makroarrays:** Die mRNA einer Zellpopulation oder eines Gewebes stellt das Ausgangsmaterial für diese Arrays dar. Sie wird in cDNA übersetzt (s. Text „Klonsammlungen und cDNA-Banken“) und auf das Trägermaterial gedruckt. Der Array repräsentiert demnach die Gene, die zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer Zellpopulation oder einem Gewebe aktiv waren.

**Kolonie-Makroarrays:** Für die Herstellung dieser Arrays werden ebenfalls DNA-Banken (s. Text „Klonsammlungen und cDNA-Banken“) verwendet. Allerdings ist es bei dieser Form der Arrays nicht notwendig, die DNA zu isolieren, sondern die Wirtszellen, welche die cDNA-Bank-Vektoren enthalten, werden direkt auf das Trägermaterial aufgebracht. Dieses Verfahren ist einfacher als die Produktion von cDNA-Makroarrays und ermöglicht die Identifizierung positiver Klone.



**Protein-Makroarrays:** Ausgangsmaterial für die Herstellung dieser Arrays sind so genannte Expressionsbibliotheken. Dabei handelt es sich um cDNA-Banken in Wirtszellen, die zum Ablesen der isolierten Gene (= Genexpression) angeregt werden können. Die Wirtszellen werden direkt auf das Trägermaterial aufgebracht, die Genexpression wird gestartet, und anschließend werden die Zellen aufgelöst (lysiert). Dadurch liegen die Proteine (die Genprodukte) frei zugänglich auf der Array-Oberfläche. Der Protein-Makroarray wird zum Beispiel verwendet, um die Bindungspartner der Proteine zu bestimmen.

#### **Individuell gefertigte Mikroarrays (engl. Custom-made Microarrays)**

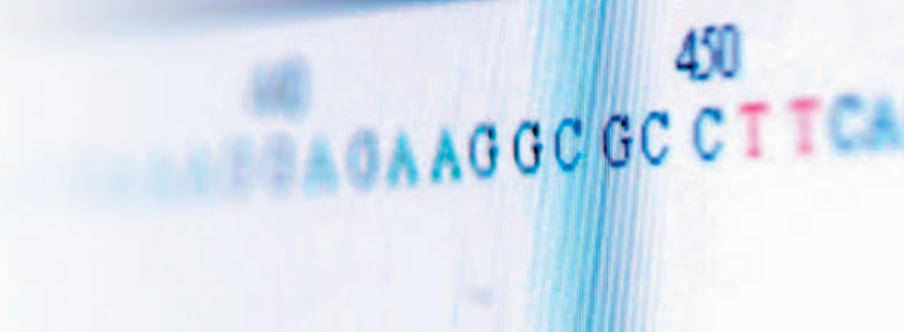
Bei diesen Arrays befindet sich nur eine kleine Anzahl ausgewählter Gene (bzw. repräsentative Abschnitte dieser Gene) auf einem Glasträger, die bereits bei anderen Analysen als interessant identifiziert wurden, weil sie zum Beispiel bei der Entstehung von Krankheiten eine Rolle spielen. Mithilfe der Mikroarrays kann dann die Aktivität dieser Gene (etwa während eines Krankheitsverlaufes oder eines Entwicklungsprozesses) bestimmt werden.

#### **Affymetrix GeneChip®**

Die Firma Affymetrix verwendet eine andere Technik, um Gensequenzen auf einen Chip aufzutragen. Es werden nicht DNA-Fragmente oder Wirtszell-Kolonien auf den Chip aufgebracht, sondern kurze charakteristische Sequenzen von 25 Nukleotiden (Oligonukleotide) werden direkt auf der Trägersubstanz synthetisiert. Hierbei setzt Affymetrix ein Verfahren ein, das auch bei der Herstellung von Computer-Chips verwendet wird: die Fotolithographie. Die Expressions-Arrays von Affymetrix repräsentieren alle bekannten Gene eines Organismus.

Eine andere Variante der GeneChips® – die so genannten **Mapping Arrays** – ermöglicht den Vergleich von mehr als 116.000 einzelnen Basen in unterschiedlichen Abschnitten des menschlichen Genoms. Unterscheidet sich eine dieser Basen zwischen zwei Menschen, so handelt es sich hierbei um eine der häufigsten genetischen Variationen im menschlichen Genom, die alle 500 bis 1.000 Basenpaare auftreten (Einzelnukleotid-Sequenzvariationen, engl. Single Nukleotide Polymorphism, SNP). Mithilfe dieser SNPs können Wissenschaftler „Krankheits-Gene“ lokalisieren.





## GenomeCube®

Die Abteilung Bioinformatik des RZPD fügt unterschiedliche Datenquellen, zum Beispiel Sequenzinformationen, Beschreibungen von Proteinen oder wissenschaftliche Literatur zu Superdatenbanken zusammen. Über eine intuitiv zu bedienende Suchmaschine, den so genannten GenomeCube®, erhalten die Anwender einen einfachen und bequemen Zugriff auf diese Informationen. Sie helfen ihnen dabei, unterschiedliche wissenschaftliche Fragestellungen zu beantworten. Über den GenomeCube® können die Forscher auch abfragen, welche für ihre Arbeit relevanten Materialien, zum Beispiel cDNA-Klone oder genomische Klone, am RZPD vorhanden sind und bestellt werden können. Gene und Genprodukte sind dabei die wichtigsten und größten Komponenten des GenomeCube®: Das RZPD kann für jedes Gen einer bestimmten Spezies unterschiedliche Klone, RNAs oder Antikörper anbieten. Diese Materialien sind für die Arbeit der Genomforscher unverzichtbar. Die Benutzer des GenomeCubes® können einen Klon unter anderem über Gensymbole, Genbeschreibungen oder Genbank-Zugriffsnummern suchen. Der GenomeCube® liefert dem Anwender außerdem eine Tabelle mit allen zu einem Gen vorhandenen Materialien, sortiert nach Spezies und Typ. Durch das Anwählen der Schaltfläche „Gene Info“ erscheinen weiterführende Links und ausführliche Informationen zu dem ausgewählten Gen. Ein Klick auf „All Products“ liefert eine Übersicht aller zur Verfügung stehenden Produkte. Auch das Bestellen ist durch einfache Mausklicks möglich. Seit kurzem können auch ganze Listen von Genbezeichnern verarbeitet werden. Solche Listen entstehen zum Beispiel bei der Analyse hoher Aktivität von Genen in einer Zelle.





**Dr. Johannes Maurer**  
RZPD – Deutsches Ressourcenzentrum  
für Genomforschung  
Heubnerweg 6  
14059 Berlin  
Tel.: 0 30/3 26 39-2 51  
Fax: 0 30/3 26 39-2 62  
E-Mail: [j.maurer@rzpd.de](mailto:j.maurer@rzpd.de)

Johannes Maurer ist wissenschaftlicher Geschäftsführer des Deutschen Ressourcenzentrums für Genomforschung (RZPD), einer gemeinnützigen Serviceeinrichtung für die funktionelle Genomforschung. Er promovierte am Institut für Humane Genetik der Universität Tübingen mit einer Arbeit über angeborene stationäre Nachtblindheit. Bevor er zum RZPD kam, war er Koordinator des Interdisziplinären Forschungsverbundes Humangenomforschung Berlin und Leiter der Geschäftsstelle des Wissenschaftlichen Koordinierungskomitees des Deutschen Humangenomprojekts (DHGP). Dr. Maurer ist Mitglied des Projektkomitees des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) und Gründungsmitglied der Kommission des Zentrums für funktionelle Genomforschung Berlin-Brandenburg. Außerdem ist er Aufsichtsratsmitglied der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ).

**Dr. Uwe Radelof**  
RZPD – Deutsches Ressourcenzentrum  
für Genomforschung  
Heubnerweg 6  
14059 Berlin  
Tel.: 0 30/3 26 39-1 22  
Fax: 0 30/3 26 39-1 11  
E-Mail: [radelof@rzpd.de](mailto:radelof@rzpd.de)

Uwe Radelof leitet die Abteilung Produktion/Services des Deutschen Ressourcenzentrums für Genomforschung (RZPD). Er studierte Chemie an den Universitäten in Hamburg und Heidelberg und promovierte am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik (MPI MG) in Berlin über die Entwicklung einer Technologie zur Unterstützung der genomischen Sequenzanalyse. Nach seiner Promotion leitete er eine Forschungsgruppe am MPI MG. Dr. Radelof war Projektleiter im Deutschen Humangenomprojekt (DHGP) und ist Teilprojektleiter im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN). Er ist Mitglied des Editorial Boards von „Briefings in Functional Genomics and Proteomics“.



**Dr. Bernd Drescher**  
RZPD – Deutsches Ressourcenzentrum  
für Genomforschung  
Heubnerweg 6  
14059 Berlin  
Tel.: 030/3 26 39-2 00  
Fax: 030/3 26 39-2 62  
E-Mail: [drescher@rzpd.de](mailto:drescher@rzpd.de)

Bernd Drescher studierte Chemie und Lebensmittelchemie in Berlin. Er promovierte 1973 an der Akademie der Wissenschaften in Berlin über die Diagnostik von Retroviren bei Nutztieren. Bei Fortführung dieser Forschungstätigkeiten fokussierte sich Herr Drescher auf die Computeranalysen von Sequenzinformationen bei Proteinen. Nach einer Zusatzausbildung für Arbeiten an Großrechnern bei der Siemens AG wechselte er 1987 zur molekularen Biophysik am DKFZ in Heidelberg. Beim Start des DHGP leitete Dr. Drescher die Abteilung Bioinformatik am Genomzentrum in Jena (IMB). Er kehrte 1998 nach Heidelberg zurück, um eine Arbeitsgruppe bei der Firma LION Bioscience AG zu leiten. Die Management-Erfahrungen brachte Dr. Drescher ab dem Jahre 2000 als Leiter der Bereiche Informatik/Bioinformatik und Arraytechnologie bei der Firma MWG Biotech AG in Ebersberg bei München ein. Seit 2003 koordiniert Dr. Drescher die Informatik mit den Bereichen Bioinformatics, Business IT und Computational Biology am RZPD.



## **INNERE UHR AUS DEM TAKT – ALKOHOLISMUS DROHT**

**Prof. Dr. Rainer Spanagel**

Ist die Innere Uhr verstellt, so steigt die Lust auf Alkohol. Darauf deuten unsere neuen Studienergebnisse hin. Wir konnten feststellen, dass Mäuse mit einer bestimmten Mutation des Per2-Gens dem Alkohol sehr zugetan sind. Das Gen steuert zusammen mit anderen Erbanlagen den Schlaf-Wach-Rhythmus. Bei Mäusen mit mutiertem Per2-Gen ist dieser Rhythmus gestört. Die Ergebnisse lassen sich wahrscheinlich auf den Menschen übertragen. Wir wissen bereits, dass Jugendliche mit bestimmten Mutationen im Per2-Gen mehr trinken als ihre Altersgenossen. Außerdem leiden Schichtarbeiter, Flugzeugpersonal und andere Menschen, bei denen der Tag-Nacht-Rhythmus durcheinander geraten ist, häufiger an Alkoholproblemen.

Mäuse mit der Mutation im Per2-Gen nahmen in Versuchen dreimal so viel Alkohol zu sich wie ihre Artgenossen. Nach einer genauen Untersuchung der Tiere stießen wir auf eine Erklärung für dieses Verhalten: Im Gehirn der Mäuse lagen hohe Konzentrationen des aktivierenden Botenstoffs Glutamat vor. Glutamat ist auch im Gehirn alkoholkranker Menschen vermehrt zu finden. Bisher wurde das damit erklärt, dass der Körper die einschläfernden Effekte des Alkohols auszugleichen versucht, indem er größere Mengen des „Muntermachers“ Glutamat produziert. Unsere neuen Studienergebnisse sprechen aber dafür, dass manche Menschen genau wie die Mäuse mit mutiertem Per2-Gen von Anfang an relativ viel Glutamat im Gehirn haben. Sie vertragen dann mehr Alkohol und trinken deshalb auch mehr.

Mit dem Medikament Acamprosat lässt sich die Glutamatwirkung im Gehirn abschwächen. Therapeuten setzen die Arznei deshalb zur Behandlung der Alkoholsucht ein. Allerdings spricht nur ein Teil der Alkoholiker auf Acamprosat an. Bei unseren alkoholkranken Mäusen erzielten wir aber mit dem Medikament sehr gute Erfolge: Die Glutamatkonzentration im Gehirn der Tiere sank – parallel dazu normalisierte sich ihr Alkoholkonsum. Dieser Versuch liefert wichtige Hinweise für die Therapie der Alkoholkrankheit beim Menschen. Wir vermuten jetzt, dass das Medikament hauptsächlich bei Personen wirkt, deren Glutamatstoffwechsel gestört ist, zum Beispiel wegen einer Mutation im Per2-Gen. Mittlerweile arbeiten wir an einem Test, der diese Patienten zuverlässig identifiziert. Dadurch können wir hoffentlich bald vorhersagen, wem Acamprosat hilft.



Prof. Dr. rer. nat. Rainer Spanagel  
Universität Heidelberg  
Zentralinstitut für Seelische Gesundheit  
Abteilung Psychopharmakologie  
J5  
68159 Mannheim

Tel.: 06 21/17 03-62 51  
Fax: 06 21/17 03-62 55  
E-Mail: [spanagel@zi-mannheim.de](mailto:spanagel@zi-mannheim.de)

geboren am 24. Juni 1961 in Reutlingen

### Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang

1982–1984	Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Vordiplom in Biologie
1985–1989	Technische Universität München, Diplom in Biologie
1988–1989	Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abt. Neuropharmakologie, Martinsried, Diplomarbeit: „Mikrodialyseuntersuchungen an der frei beweglichen Ratte“
1989–1991	Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Abt. Neuropharmakologie, Martinsried, Doktorarbeit bei Prof. Albert Herz: „Modulation des mesolimbischen dopaminergen Systems von Ratten durch Opiode“
1991–1995	Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Klinisches Institut, München, wissenschaftlicher Assistent bei Prof. Florian Holsboer
1995	Forschungskurzaufenthalte in den USA (NIDA, Baltimore; Rockefeller, New York) im Rahmen des INVEST-Programms
1996–1999	Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Klinisches Institut, München, Leiter der Arbeitsgruppe Suchtforschung
1997	Ludwig-Maximilian-Universität, München, Habilitation in Pharmakologie und Toxikologie: „Alkoholsucht im Tiermodell: Neuropharmakologische Untersuchungen des Verhaltens“
1999	Ruf auf eine C3-Professur für Psychopharmakologie an die Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit (ZI), Mannheim
2000	Abteilungsleiter der Psychopharmakologie am ZI
2001	Leiter des Zentrums für Grundlagenforschung am ZI
2003	Chefredakteur von „Addiction Biology“



### Wissenschaftliche Preise

1995	INVEST Travel-Award/NIDA
1998	Wilhelm-Feuerlein-Forschungspreis
2003	Sir Hans Krebs-Preis

### Ausgewählte Publikationen

Timpl P, **Spanagel R**, Sillaber I, Kresse A, Reul JM, Stalla J, Planquet V, Steckler T, Holsboer F, Wurst W (1999) Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1. *Nature Genet* 19: 162-166.

**Spanagel R**, Weiss F (1999) The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci.* 22: 521-527.

**Spanagel R** (1999) Is there a pharmacological basis for therapy with rapid opioid detoxification? *The Lancet* 354: 2017-2018.

Azad SC, Marsicano G, Eberlein I, Putzke J, Zieglgänsberger W, **Spanagel R**, Lutz B (2001) Differential role of the nitric oxide pathway on delta(9)-THC-induced central nervous system effects in the mouse. *Eur. J. Neurosci.* 13: 561-568.

Sillaber I, Rammes G, Zimmermann S, Mahal B, Zieglgänsberger W, Wurst W, Holsboer F, **Spanagel R** (2002) Enhanced and delayed stress-induced alcohol drinking in mice lacking functional CRH1 receptors. *Science* 296: 931-933.

Abarca C, Albrecht U, **Spanagel R** (2002) Cocaine sensitization and reward are influenced by circadian genes and rhythm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 9026-9030.

**Spanagel R**, Sigmund S, Cowen M, Schroff KC, Schumann G, Fiserova M, Sillaber I, Wellek S, Singer MV, Putzke J (2002) The neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene is critically involved in neurobehavioral effects of alcohol. *J. Neurosci.* 22: 8676-8683.

Deroche-Gamonet V, Sillaber I, Aouizerate B, Izawa R, Jaber M, Ghozland S, Kellendonk C, **Spanagel R**, Le Moal M, Schütz G, Tronche F, Piazza PV (2003) The Glucocorticoid receptor as potential target to reduce cocaine abuse. *J. Neurosci.* 23: 10-16.

Werner C, Raivich G, Cowen M, Strekalova T, Sillaber I, **Spanagel R**, Hofmann F (2004) Importance of NO/cGMP signalling via cGMP-dependent protein kinase II for mediating emotionality and neurobehavioral effects of alcohol. *Eur. J. Neurosci.* 20: 3498-3506.

**Spanagel R**, Pendyala G, Abarca C, Zghoul T, Sanchis-Segura, Magnone MC, Lascorz J, Depner M, Holzberg D, Soyka M, Schreiber S, Matsuda F, Lathrop M, Schumann G, Albrecht U (2005) The circadian clock gene *Period2* alters the glutamatergic system and thereby modulates alcohol consumption. *Nature Med.* 11: 35-42.



## **DIE PARKINSON-KRANKHEIT: VOM GEN ZUR THERAPIE**

**Prof. Dr. Thomas Gasser**

Bei der Parkinson-Krankheit – benannt nach dem englischen Arzt James Parkinson, der die Krankheit 1817 erstmals beschrieb – handelt es sich um eine chronische, unaufhaltsam fortschreitende motorische Störung. Bei den Patienten sterben in einem bestimmten Teils des Gehirns (der sog. Substantia nigra) zehntausende Nervenzellen ab, die den Botenstoff Dopamin produzieren. Dopamin wird dort, wohin die Nervenbahnen der Substantia nigra hauptsächlich ziehen (zum Corpus striatum), zur Kommunikation zwischen den Nervenzellen benutzt. Aufgrund des Dopaminmangels kommt es bei den Patienten zu unterschiedlich ausgeprägten Bewegungsstörungen (Bewegungsarmut, Muskelsteifigkeit und Muskelzittern). Die Parkinson-Krankheit ist die zweithäufigste neurodegenerative Erkrankung des Menschen: In Deutschland sind etwa 250.000 bis 350.000 Menschen betroffen. Die Ursache der Erkrankung ist in den meisten Fällen weiterhin unbekannt. Durch genetische Untersuchungen konnten aber bereits eine ganze Reihe von Genen identifiziert werden, die zu seltenen erblichen Formen der Krankheit führen. Dadurch lassen sich die molekularen Mechanismen der Neurodegeneration aufklären mit dem Ziel, kausal wirkende Therapiestrategien zu entwickeln.

### **Krankhafte Proteinablagerungen**

Das erste „Parkinson-Gen“, das 1997 gefunden wurde, ist das Gen für  $\alpha$ -Synuclein. Aufgrund dieser Entdeckung war es möglich, die Natur der für die Parkinson-Krankheit charakteristischen Proteinablagerungen in Nervenzellen, der so genannten Lewy-Körper, aufzuklären: Sie bestehen im Wesentlichen aus defektem  $\alpha$ -Synuclein-Protein, das kaum noch abgebaut werden kann und sich deshalb in Form der Lewy-Körper ablagert. Wir nehmen heute an, dass diese Aggregation des  $\alpha$ -Synuclein-Proteins entscheidend zur Entstehung der Parkinson-Krankheit beiträgt. Im Rahmen des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) wurden nun umfangreiche Untersuchungen durchgeführt um festzustellen, ob Varianten im  $\alpha$ -Synuclein-Gen auch für die sporadische Parkinson-Erkrankung, also die nicht erblichen Formen der Erkrankung, verantwortlich sein könnten. Derartige Varianten wurden tatsächlich gefunden, so dass man nun durch genetische Untersuchungen das Risiko, an Parkinson zu erkranken, genauer einordnen kann. Präklinische Studien mit dem Ziel, die  $\alpha$ -Synuclein-Produktion in Nervenzellen zu beeinflussen und damit das Parkinson-Risiko zu senken, wurden bereits eingeleitet.

### **Häufige genetische Ursache entdeckt**

Eine weitere wichtige Entdeckung der Arbeitsgruppen des NGFN war, dass Mutationen in einem Gen auf Chromosom 12, dem Gen für die Leucin Rich Repeat Kinase 2 (LRRK2) eine weitere, und im Vergleich zu Mutationen im  $\alpha$ -Synuclein-Gen sehr viel häufigere Ursache für das familiäre Parkinson-Syndrom sind. Wahrscheinlich werden bis zu fünf Prozent aller Parkinson-Erkrankungen durch Mutationen in diesem Gen verursacht. Es enthält den Bauplan für ein großes Eiweißmolekül, das wahrscheinlich in der Zelle als Signalübermittlungsprotein fungiert. Derartige Proteine sind prinzipiell Ansatzpunkte für Medikamente. Sollte sich also herausstellen, dass eine gestörte Signalübermittlung dieses Stoffwechselweges zum Sterben von Dopamin-Nervenzellen beiträgt, könnte dies ein wichtiger neuer Zugang zu präventiven oder kurativen Therapiestrategien sein.



Prof. Dr. med. Thomas Gasser  
Zentrum für Neurologie der Universität Tübingen  
Hertie-Institut für klinische Hirnforschung  
Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt Neurodegenerative Erkrankungen  
Hoppe-Seyler-Straße 3  
72076 Tübingen

Tel.: 0 70 71/29-8 65 29  
Fax: 0 70 71/29-48 39  
E-Mail: thomas.gasser@med.uni-tuebingen.de

geboren am 23. Juni 1958 in Stuttgart

### Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang

- 1978–1980 Studium der Humanmedizin in Stuttgart und Freiburg
- 1980–1982 Visiting medical student am Department of Pharmacology, Yale University, School of Medicine
- 1985 Medizinisches Staatsexamen und Approbation als Arzt
- 1985 Dissertation zum Thema: „Synthese, Utilisation und Abbau von Pyrimidinnukleosiden in Leber, Hepatozyten und Hepatomzellen“, Note: „summa cum laude“
- 1985–1986 Zivildienst als wissenschaftlicher Assistent am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Psychiatrische Klinik, München
- 1986–1988 Wissenschaftlicher Assistent am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, Neurologische Abteilung, München
- 1988–1991 Wissenschaftlicher Assistent in der Neurologischen Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München; Teilprojektleiter innerhalb des BMBF-Forschungsschwerpunkts „Morbus Parkinson und andere Basalganglienerkrankungen“
- 1991–1993 Research Fellow, Department of Neurology, Harvard Medical School; Molecular Neurogenetics Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, USA
- 1993–1996 Wissenschaftlicher Assistent, Neurologische Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 1.4.1993 Leiter der Arbeitsgruppe Neurogenetik der Neurologischen Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 1.3.1996 Leiter der Ambulanz für Bewegungsstörungen der Neurologischen Klinik, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 14.5.1996 Facharzt für Neurologie
- 13.11.1996 Anerkennung der Lehrbefähigung für das Fach Neurologie
- 12.12.1996 Erteilung der Lehrbefugnis für das Fach Neurologie
- 1.4.1997 Oberarzt der Neurologischen Klinik, Klinikum Großhadern



- 1.9.2002 Direktor der Abteilung Neurologie mit Schwerpunkt Neurodegenerative Erkrankungen, Neurologische Klinik und Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Zentrum für Neurologie der Universität Tübingen
- 1.10.2004 Prodekan für Forschung, Medizinische Fakultät der Universität Tübingen

### Mitgliedschaften

- Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN)
- Sprecher des Arbeitskreises Neurogenetik der DGN
- Präsident der Deutsche Gesellschaft für Neurogenetik (DGNG)
- Movement Disorder Society (MDS)
- MDS-European Section, Secretary-elect
- Scientific Issues Committee, MDS
- European Federation of Neurological Societies: Scientific panel chairman „Neurogenetics including Molecular Genetics“
- Deutsche Parkinson Vereinigung (dPV)

### Wissenschaftliche Preise

- 1985 Goedecke Forschungspreis für die Arbeit: „Synthesis, utilisation and catabolism of pyrimidine nucleosides by liver, hepatocytes and hepatoma cells“ (Science 1981;213:7778)
- 1988 Parkinson-Preis der Deutschen Gesellschaft für Neurologie für die Arbeit: „Mapping of a new locus for Parkinson’s disease to chromosome 2p13 (PARK3)“ (Nature Genet. 1998;18:2625)

### Forschungsschwerpunkte

- Genetik der Parkinson-Krankheit und anderer Bewegungsstörungen
- Neurogenetik
- Molekulare Mechanismen der Neurodegeneration

### Ausgewählte Publikationen

**Gasser T**, Müller-Myhsok B, Wszolek Z, Dürr A, Vaughan JR, Bonifati V, Meco G, Bereznoi B, Oehlmann R, Agid Y, Brice A, Wood NW. Genetic complexity and Parkinson’s disease. Science 1997;277:3889.

**Gasser T**, Müller-Myhsok B, Wszolek ZK, Oehlmann R, Calne DB, Bonifati V, Bereznoi B, Fabrizio E, Vieregge P, Horstmann R. A susceptibility locus for Parkinson's disease maps to chromosome 2p13. *Nat Genet* 1998;18:262-5.

Zimprich A, Grabowski M, Asmus F, Naumann M, Berg D, Bertram M, Scheidtmann K, Kern P, Winkelmann J, Müller-Myhsok B, Riedel L, Bauer M, Müller T, Castro M, Meitinger T, Strom TM, **Gasser T**. Mutations in the gene encoding epsilon-sarcoglycan cause myoclonus-dystonia syndrome. *Nat Genet* 2001;29(1):66-69.

Zimprich A, Biskup S, Leitner P, Lichtner P, Farrer M, Lincoln S, Kachergus J, Hulihan M, Uitti RJ, Calne DB, Stoessl AJ, Pfeiffer RF, Patenge N, Carballo Carbajal I, Vieregge P, Asmus F, Müller-Myhsok B, Dickson DW, Meitinger T, Strom TM, Wszolek ZK, **Gasser T**. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 2004;44:1-20.

## **DEPRESSION – EINE GENVARIANTE BEEINFLUSST DIE WIRKSAMKEIT VON MEDIKAMENTEN**

**Dr. Dr. Susanne Lucae**

Die Depression ist eine der bedeutendsten Volkskrankheiten: zwölf bis 20 Prozent der Bevölkerung in den Industrieländern entwickeln mindestens einmal in ihrem Leben eine depressive Episode. Laut einer Berechnung der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wird die Depression im Jahr 2020 einer der führenden Gründe für vorzeitige Berentung sein. Die Erkrankung zeigt sich durch eine mehr als zwei Wochen andauernde gedrückte Stimmung, Interessenverlust, Freudlosigkeit und eine Verminderung des Antriebs. Zusätzlich leiden Patienten häufig unter schlechtem Konzentrationsvermögen, vermindertem Selbstwertgefühl, Schuldgefühlen, Suizidgedanken, Schlafstörungen und einem reduzierten Appetit. Viele sehen für ihr Leben keine Perspektive mehr.

### **Genetische Komponenten der Depression**

Am Max-Planck-Institut für Psychiatrie in München nahmen bisher über 350 Patienten, die wegen einer depressiven Störung stationär psychiatrisch behandelt werden müssen, an einer Studie zur Erforschung der genetischen Grundlagen der Depression teil. Inzwischen belegen eine Reihe von epidemiologischen Daten, dass die Depression eine sehr starke genetische Komponente hat. Studien dieser Art sind von besonderer Bedeutung, da die Erkrankung zwar medikamentös behandelt werden kann, die so genannten Antidepressiva aber erhebliche Nachteile haben: Nur 40 bis 60 Prozent der Patienten sprechen auf das erste Medikament an, das ihnen verabreicht wird. Zudem wirken die Mittel erst nach drei bis sechs Wochen und die Patienten müssen zum Teil erhebliche Nebenwirkungen ertragen. Von genetischen Studien erhofft man sich Hinweise für eine Verbesserung und Individualisierung der Therapie, denn die Wirksamkeit der Antidepressiva wird wahrscheinlich auch von den Genen im Erbgut des Patienten beeinflusst. Im Rahmen der Studie werden die Patienten während ihres Klinikaufenthalts in wöchentlichen Abständen genau zu ihren Symptomen befragt und so der Verlauf der Beschwerden dokumentiert. Zusätzlich zu den klinischen Routineuntersuchungen wird die Regulation der Stresshormone untersucht, die bei depressiven Patienten oft gestört ist, und es erfolgt die Analyse der Erbsubstanz DNA.

### **Störung der Stressreaktionen**

Im Rahmen der Förderung durch das Nationale Genomforschungsnetz (NGFN) wurden inzwischen mehrere Kandidatengene aus der Stresshormon-Regulationskette auf genetische Veränderungen untersucht und auf Zusammenhänge mit dem klinischen Verlauf der depressiven Patienten überprüft. Dabei wurde eine Variante im FKBP5-Gen identifiziert, die den Wirkungseintritt von Antidepressiva bestimmt. FKBP5 ist ein Protein, das in der Stresshormon-Signalübertragung eine wichtige Rolle spielt. Die biologische Aufgabe von FKBP5 ist es, die dreidimensionale Faltung anderer Proteine zu unterstützen und damit deren Funktion maßgeblich zu beeinflussen. Auf diese Weise steuert das Protein im Organismus die Empfindlichkeit des Glukocortikoid-Rezeptors, der eine zentrale Stellung in der Körperreaktion auf Stress einnimmt. Ist seine Empfindlichkeit beispielsweise verringert, wird die Körperstressreaktion nur verzögert bzw. eingeschränkt zurückgefahren. Bei Patienten mit einer charakteristischen Variante (TT-Variante) des FKBP5-Gens besserten sich bereits nach einwöchiger Behandlung mit Antidepressiva die Symptome signifikant schneller als bei Patienten mit anderen FKBP5-Varianten, die selbst nach fünf Wochen wesentlich schlechter auf die Therapie ansprachen. Gleichzeitig trat bei Patienten mit der TT-Variante jedoch eine erhöhte Anzahl von depressiven Episoden auf. Zusätzlich konnte beobachtet werden, dass Patienten mit der TT-Variante in ihren weißen Blutkörperchen mehr FKBP5-Protein haben.



Diese Ergebnisse belegen die zentrale Rolle von Genen, die an der Stresshormon-Regulation beteiligt sind, für die Entstehung und den Verlauf der Depression. Welcher ursächliche Zusammenhang zwischen der Funktion des FKBP5-Proteins und der Wirkung von Antidepressiva besteht, ist allerdings noch nicht geklärt. Vermutlich aktiviert die TT-Variante des FKBP5-Gens weitere Regulationswege des Stresshormon-Systems, welche von Antidepressiva dann schneller angesprochen werden können.

#### **Therapie besser planbar**

Die aktuelle Studie hat neben ihrer großen Bedeutung für die klinische und grundlagenorientierte Forschung auch direkte Konsequenzen für den Patienten: In Zukunft wird es vielleicht möglich sein, die zeitliche Wirkung von Antidepressiva vorherzusagen und die Therapie bei einer Depression effizienter zu planen. Für die pharmazeutische Industrie bedeuten die Ergebnisse neue Herausforderungen, aber auch Chancen für die Markteinführung neuer Medikamente. Zukünftig wird man Patienten- und Kontrollgruppen zuerst auf ihre FKBP5-Genvarianten hin analysieren müssen, damit die nachgewiesene, rasche oder späte Wirkung des neuen Medikaments nicht lediglich auf ein unausgewogenes Verhältnis der verschiedenen FKBP5-Genvarianten in der Patientengruppe zurückzuführen ist. In der Grundlagenforschung eröffnen die Erkenntnisse zu FKBP5 neue Ansätze, um die molekularen Vorgänge besser zu verstehen, die der Wirkung von Antidepressiva zugrunde liegen.



Dr. med. univ. Dr. rer. nat. Susanne Lucae, geb. Natter  
Max-Planck-Institut für Psychiatrie  
Kraepelinstraße 2–10  
80804 München

Tel.: 0 89/3 06 22-6 08  
Fax: 0 89/3 06 22-6 05  
E-Mail: lucae@mpipsykl.mpg.de

geboren am 4. Februar 1971 in Dornbirn, Österreich

### **Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang**

- |               |  |
|---------------|--|
| 1989–1995     | Studium der Biologie, Studienzweig Genetik an der Universität Wien   |
| 1995          | Sponson im Fach Biologie,<br>Thema: „Molekulare Charakterisierung von IgE-Autoantigenen“,<br>Betreuer: Prof. Dr. Rudolf Valenta, Institut für Allgemeine und Experimentelle Pathologie der Universität Wien  |
| 1998          | Promotion im Fach Biologie,<br>Thema: „Molecular and immunological characterization of autoantigens in atopic dermatitis and celiac disease“,<br>Betreuer und Referent: Prof. Dr. Rudolf Valenta, Institut für Allgemeine und Experimentelle Pathologie der Universität Wien |
| 1999–2002     | Postdoc am Institut für Pathophysiologie (vormals Institut für Allgemeine und Experimentelle Pathologie), Prof. Dr. Rudolf Valenta   |
| 1994–2002     | Studium der Humanmedizin an der Universität Wien   |
| 2000–2002     | Tätigkeit als Tutorin im Fach „Pathophysiologie“   |
| November 2002 | Promotion im Fach Medizin<br>Wahlfachausbildung nach § 13, Seminar „Statistiksoftware zur Durchführung medizinischer Studien“ bei Prof. Dr. Barbara Schneider  |
| 2003–2004     | Ärztin im Praktikum am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München  |
| seit 2004     | Weiterbildungsassistentin für das Fach „Psychiatrie und Psychotherapie“ am Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München  |



### Stipendien und Preise

1995	Leistungsstipendium der Universität Wien
1996 und 1997	Forschungsstipendium der Universität Wien zur Förderung der wissenschaftlichen Arbeit
1998	Karl Landsteiner-Preis der Österreichischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) für immunologische Grundlagenforschung für die Arbeit „Isolation of cDNA clones coding for IgE autoantigens with serum IgE from atopic dermatitis patients“ (FASEB J 1998;12(14):1559-69)
1998	Reisestipendium der Österreichischen Gesellschaft für Allergologie und Immunologie (ÖGAI) für das Abstract „IgE-autoantibodies from atopic dermatitis patients specifically recognize cDNA clones coding for human intracellular proteins“ beim „17th Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology“ in Birmingham, Großbritannien

### Aktuelle Forschungsprojekte

Genetik affektiver Störungen mit dem Forschungsschwerpunkt „Genetik der unipolar rezidivierenden depressiven Störung“

### Ausgewählte Publikationen

Elisabeth B Binder, Daria Salyakina, Peter Lichtner, Gabriele M Wochnik, Marcus Ising, Benno Pütz, Sergi Papiol, Shaun Seaman, **Susanne Lucae**, Martin A Kohli, Thomas Nickel, Heike E Künzel, Brigitte Fuchs, Matthias Majer, Andrea Pfennig, Nikola Kern, Jürgen Brunner, Sieglinde Modell, Thomas Baghai, Tobias Deiml, Peter Zill, Brigitta Bondy, Rainer Rupprecht, Thomas Messer, Oliver Köhnlein, Heike Dabitz, Tanja Brückl, Nina Müller, Hildegard Pfister, Roselind Lieb, Jakob C Mueller, Elin Löhmussaar, Tim M Strom, Thomas Bettecken, Thomas Meitinger, Manfred Uhr, Theo Rein, Florian Holsboer & Bertram Muller-Myhsok. Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment Nat Genet. 2004 Dec;36(12):1319-25. Epub 2004 Nov 21.

**Natter S**, Granditsch G, Reichel GL, Baghestanian M, Valent P, Elfman L, Gronlund H, Kraft D, Valenta R. IgA cross-reactivity between a nuclear autoantigen and wheat proteins suggests molecular mimicry as a possible pathomechanism in celiac disease. Eur J Immunol 2001;31(3):918-28.

**Natter S**, Seiberler S, Hufnagl P, Binder BR, Hirschl AM, Ring J, Abeck D, Schmidt T, Valent P, Valenta R. Isolation of cDNA clones coding for IgE autoantigens with serum IgE from atopic dermatitis patients. FASEB J 1998;12(14):1559-69.



## **CHOREA HUNTINGTON: ANALYSE VON PROTEIN-NETZWERKEN UND THERAPIEENTWICKLUNG**

**Prof. Dr. Erich E. Wanker**

Chorea Huntington (HD), auch „Veitstanz“ genannt, ist eine erbliche Erkrankung des zentralen Nervensystems. Sie ist gekennzeichnet durch unwillkürliche, ungebremste Bewegungen, motorische Störungen und geistigen Verfall. In Deutschland leiden etwa 8.000 Menschen an dieser tödlichen Krankheit. Der genetische Hintergrund von HD ist teilweise geklärt, Gentests sind verfügbar und auch der Krankheitsverlauf ist gut dokumentiert. Als maßgebliches Genprodukt wurde das Protein Huntingtin (Htt) identifiziert, das in seiner mutierten Form zu viele Exemplare des Bausteins Glutamin besitzt. Durch diesen Fehler verliert das Protein Htt seine normale Struktur, bildet filzige Knäuel und führt zu Funktionsstörungen und dem Sterben der Zellen. Zudem vermuten wir, dass der Verlust der Htt-Funktion für die Entstehung von HD mitverantwortlich ist.

Die Funktion von Htt ist noch nicht vollständig geklärt. Es scheint aber klar zu sein, dass das Protein als Gerüst in Prozessen der Transkriptionsregulierung, Zellorganisation und des Vesikeltransports eingebunden ist. Um die genaue Funktionsweise von Htt in gesunden und kranken Zellen weiter aufzuklären, müssen nun die Interaktionspartner von Htt gefunden und beschrieben werden.

Ein Ziel der Systematisch-Methodischen Plattform (SMP) „Protein“ ist es, Interaktionen zwischen Proteinen zu untersuchen, die möglicherweise bei Krankheiten eine entscheidende Rolle spielen. Bisher wurde mittels des so genannten Hefe-2-Hybrid-Systems (Yeast two-hybrid, Y2H) ein Netzwerk von 186 Proteinen für HD gefunden. Wir haben diese molekularbiologische Technik automatisiert und ein effizientes Hochdurchsatzverfahren etabliert. Nur so war es uns möglich, in kurzer Zeit hunderte von Proteinen daraufhin zu überprüfen, ob sie an Htt binden und mit diesem zusammen Funktionen ausüben. Ein Protein, GIT1, verstärkt die Ablagerung von fehlerhaftem Htt und nimmt aufgrund seiner Lokalisation und Verteilung im Verlauf von HD eine Schlüsselrolle ein.

Studien zur Aufschlüsselung der Interaktionen von Krankheitsproteinen werden wichtige funktionelle Daten für ein besseres Verständnis von Krankheitsmechanismen liefern. Grundsätzlich könnten mit Methoden der funktionellen Genomforschung auch Interaktionsnetzwerke für weitere krankheitsrelevante Proteine generiert werden, um neue Ansatzpunkte für die Therapieentwicklung zu identifizieren.

Neben den genannten Interaktionsstudien stehen der SMP Protein zudem strukturbiochemische Methoden, Massenspektrometrie und Cryo-Elektronenmikroskopie zur Verfügung, um Protein-Protein- und Protein-Medikamenten-Wechselwirkungen zu untersuchen. Damit kombiniert die SMP Protein Technologien, die für die molekulare Beschreibung von Krankheiten wichtig sind und eine Grundlage für zukünftige pharmazeutische Strategien darstellen könnten.



Prof. Dr. rer. nat. Erich E. Wanker  
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin  
Abteilung Neuroproteomik  
Robert-Rössle-Straße 10  
13125 Berlin

Tel.: 0 30/94 06-21 57  
Fax: 0 30/94 06-25 52  
E-Mail: ewanker@mdc-berlin.de

geboren am 13. Februar 1965 in Klagenfurt, Österreich

### Akademische Ausbildung und beruflicher Werdegang

1983–1989	Studium der Biochemie, Technische Universität Graz, Österreich, Master of Science
1989–1992	Promotion in Biochemie, Technische Universität Graz, Österreich
1990–1992	Wissenschaftlicher Assistent, Technische Universität Graz, Österreich
1991–1992	Forschungsaufenthalt am TNO Medical Biological Laboratory, Abteilung für Biotechnologie, Rijswijk, Niederlande
1993–1995	Postdoc, University of California, Abteilung für Zellbiologie, Los Angeles, USA
1995–1997	Leiter der Arbeitsgruppe „Huntington’s Disease Project“, Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin
1997–2000	Beratende Tätigkeit für GPC Biotech, München
1999–2001	C3-Professur am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin
seit 2001	C4-Professur für Molekulare Medizin an der Charité, Berlin; Arbeitsgruppenleiter Neuroproteomforschung am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin-Buch

### Forschungsschwerpunkte

- Aufklärung der molekularen Hintergründe von Chorea Huntington und anderer neurodegenerativer Krankheiten (wie Alzheimer-Krankheit und Prion-Krankheiten)
- Entwicklung präventiver Maßnahmen für Chorea Huntington und für die Alzheimer-Erkrankung
- Entwicklung eines Hochdurchsatzverfahrens zur Isolierung möglicher Inhibitoren, die die Proteinaggregation verhindern
- Überprüfung möglicher Inhibitoren im Zellkultur-System und im Mausmodell
- Suche nach Huntingtin-spezifischen Proteasen
- Entwicklung eines automatisierten Verfahrens mithilfe dessen man große Protein-Protein-Interaktionsnetze erstellen kann





### Aktuelle Forschungsprojekte

- HDSA-Grant „Characterization of potential drug targets and lead compounds for Huntington’s Disease Therapy“
- HDSA-Grant „Analysis of protein complexes and signaling pathways involved in Huntington’s disease pathogenesis“
- Forschergruppe „Bildung und Stabilität von  $\beta$ -Faltblättern“  
Teilprojekt „Interaktion und Aggregation von Wildtyp- und mutiertem Huntingtin mit Membranen (DFG WA 1151/5-2)“
- Nationales Genomforschungsnetz 2: Systematisch-Methodische Plattform „Protein“, Standort MDC Berlin: „Verifikation und Identifikation von Protein-Protein-Interaktionen und systematische Analyse von Targetproteinen mittels Röntgenstrukturanalyse“
- SFB 577 „Molecular basis of clinical variability in Mendelian disorders“  
Project: „Analysis of regulatory networks implicated in Huntington’s disease pathogenesis and identification of potential modifier genes“

### Mitgliedschaften

- seit 1990 Österreichische Gesellschaft für Genetik und Gentechnik (ÖGGGT)
- seit 1998 Huntington’s Disease Society of America (HDSA)
- seit 1999 Deutsche Gesellschaft für Neurogenetik (DGNG)
- seit 2002 Deutsche Gesellschaft für Proteomforschung (DGPF)

### Preise und Auszeichnungen

- 1993–1995 Erwin Schrödinger-Auslandsstipendium, Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Österreich
- 1998 Investigator-Grant, Huntington’s Disease Society of America, USA
- 1998 BioFuture-Preis, Bundesministerium für Bildung und Forschung, Deutschland
- 1999 James Heinemann-Forschungspreis, Minna-James-Heinemann-Stiftung, Deutschland

### Ad hoc reviewer

- Journal of Cell Biology
- EMBO Journal
- Human Molecular Genetics
- Gene
- Cell
- Nucleic Acids Research
- DFG, SFB, HFSP and Wellcome Trust Grants



### Editorial board

- 2002 Amyloid  
2003 Journal of Neurodegenerative Diseases

### Ausgewählte Publikationen

Goehler, H., Lalowski, M., Stelzl, U., Waelter, S., Stroedicke, M., Worm, U., Droege, A., Lindenberg, K.S., Knoblich, M., Haenig, C., Herbst, M., Suopanki, J., Scherzinger, E., Abraham, C., Bauer, B., Hasenbank, R., Fritzsche, A., Ludewig, A.H., Buessow, K., Coleman, S.H., Gutekunst, C.-A., Landwehrmeyer, Lehrach and H., **Wanker, E.E.** (2004) A protein interaction network links GIT1, an enhancer of huntingtin aggregation, to Huntington's disease. *Mol Cell.* 15(6):853-65.

Busch, A., Engemann, S., Lurz, R., Okazawa, H., Lehrach, H. and **Wanker, E.E.** (2003) Mutant huntingtin promotes the fibrillogenesis of wild-type huntingtin: a potential mechanism for loss of huntingtin function in Huntington's disease. *JBC* 278(42):41452-61.

Heiser, V., Bröcker, W., Dunkel, I., Boeddrich, A., Waelter, S., Nordhoff, E., Lurz, R., Schugardt, N., Herhaus, C., Barnickel, G., Böttcher, H., Lehrach, H. and **Wanker, E.E.** (2002) Identification of benzothiazoles as potential polyglutamine aggregation inhibitors of Huntington's disease using an automated filter retardation assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99(4):16400-406.

Wälter, S., Scherzinger, E., Hasenbank, R., Nordhoff, E., Lurz, R., Göhler, H., Gauss, C., Sathasivam, K., Bates, G.P., Lehrach, H. and **Wanker, E.E.** (2001) The huntingtin interacting protein HIP1 is a clathrin and  $\alpha$ -adaptin binding protein involved in receptor-mediated endocytosis. *Hum. Mol. Genet.* 10:1807-17.

Sittler, A., Wälter, S., Wedemeyer, N., Hasenbank, R., Scherzinger, E., Bates, G.P., Lehrach, H. and **Wanker, E.E.** (1998) SH3GL3 associates with the huntingtin exon 1 protein and promotes the formation of polyglutamine containing aggregates. *Molecular Cell.* 2:427-436.



**Herausgeber**

Nationales Genomforschungsnetz (NGFN)  
Projektmanagement  
Projekträger im DLR  
Heinrich-Konen-Straße 1  
53227 Bonn  
Tel.: 02 28/38 21-3 31  
Fax: 02 28/38 21-3 32  
E-Mail: pm-ngfn@dlr.de  
Internet: www.ngfn.de

**Projektmanagement NGFN**

Dr. Markus Albertini, Susanne Fraenkel,  
Helga Frankenstein, Alexandra Hennes,  
Dr. Anja Hügel, Dr. Olaf Krüger,  
Dr. Uta Straßer, Dr. Gesa Westermann

**Redaktion**

Projektmanagement NGFN  
MasterMedia Public Relations

**Gestaltung**

MasterMedia Public Relations

**Druckerei**

Digital Connection, Hamburg

**Bildnachweis**

- Titelmotiv: Mauritius (DNA-Sequenz)
- Grafiken in den Kapiteln „Grundlagen der Genomforschung“ und „Exkursion zum RZPD“:  
© Ernst Klett Verlag GmbH, Stuttgart. Eine Vervielfältigung der Abbildung bedarf der vorherigen Genehmigung des Ernst Klett Verlages.
- Referentenfotos: Privat
- Alle anderen Bilder und Grafiken:  
Nationales Genomforschungsnetz (NGFN)

**Stand**

Mai 2005