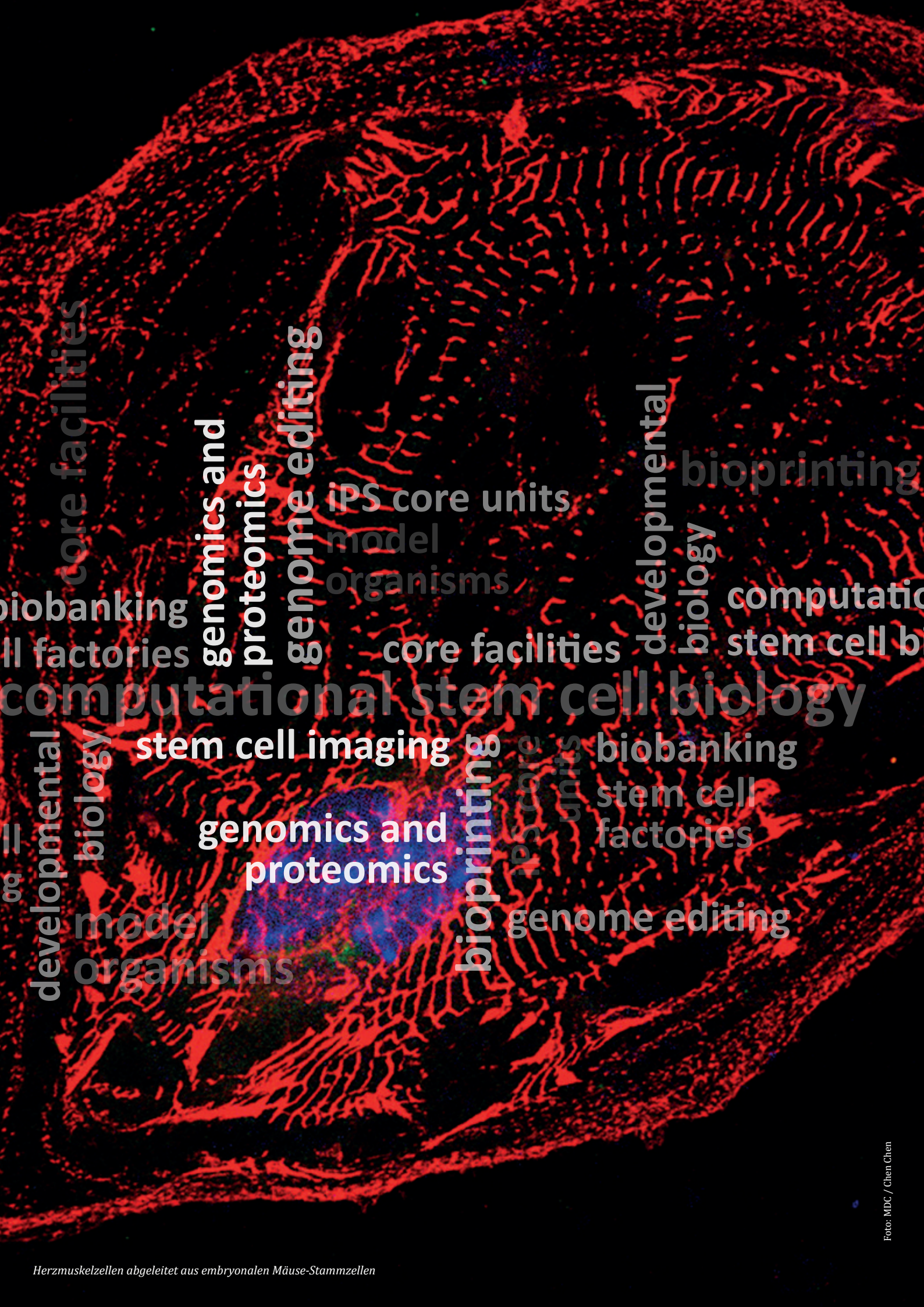


Foto: MDC / Chen Chen

Herzmuskelzellen abgeleitet aus embryonalen Mäuse-Stammzellen

Stammzellen vermessen

Den Stammzellen-Code entziffern

Dank hochempfindlicher Messinstrumente kommen Forscher den besonderen Eigenschaften von Stammzellen immer besser auf die Spur. Leistungsfähige Sortierverfahren helfen dabei, spezielle Zelltypen zu gewinnen. Analytische Hochdurchsatzverfahren erlauben es, die molekulare Signatur von Stammzellen zu entziffern. Sogar in einzelnen Zellen lässt sich mittlerweile das Zusammenspiel der Biomoleküle verfolgen. Das System Stammzelle wird so exakt wie nie zuvor vermessen.

Welche inneren und äußeren Faktoren einer Stammzelle ihre besonderen Eigenschaften verleihen, ist eine der Kernfragen, die Stammzellforscher in aller Welt beschäftigt. Die molekulare Signatur von Stammzellen zu entschlüsseln, hat sich jedoch als Herausforderung erwiesen. Schließlich liegen Phänomenen wie Selbsterneuerung oder der Differenzierung sehr komplexe und dynamische biologische Programme zugrunde. Zudem sind Stammzellen, ob pluripotente Stammzellen oder Gewebestammzellen, äußerst vielgestaltig.

Doch immer empfindlichere Analysetechniken liefern den Stammzellforschern Werkzeuge an die Hand, mit denen sie ihre Studienobjekte immer besser vermessen können. Solche Instrumente stehen im Mittelpunkt der strategischen Fachgruppe „Technologien in der Stammzellforschung" des German Stem Cell Network (GSCN), die von Frank Emmrich von der Universität Leipzig und Andreas Bosio geleitet wird. Bosio ist Head of R&D der Abteilung Stammzellen bei der Miltenyi Biotec GmbH in Bergisch Gladbach. „Wir möchten in der Fachgruppe die Vielfalt an neuen Verfahren diskutieren und den Austausch darüber fördern", sagt Bosio. Ein Ziel sei es auch, die zukünftige Entwicklung wichtiger Zelltechnologien zu beeinflussen und sogar mitzubestimmen.

Ordnung in den Zellmix bringen

Wer spezielle Stammzelltypen genauer unter die Lupe nehmen möchte, benötigt Exemplare in konzentrierter und möglichst reiner Form: „Das Grundproblem im Umgang mit Gewebestammzellen ist, dass wir es mit heterogenen Zellpopulationen zu tun haben", sagt der Blutstammzellspezialist Michael Rieger vom LOEWE-Zentrum für Zell- und Gentherapie am Universitätsklinikum in Frankfurt am Main. Noch dazu sind die Zellen rar: Im Knochenmark findet sich unter 100.000 Zellen eine hämatopoetische Stammzelle (Hematopoietic Stem Cell – HSC).

Um Ordnung in diesen Zell-Mix zu bringen, kommen Verfahren der Zellsortierung zum Einsatz. Bei der Durchflusszytometrie fließen Zellen in hohem Tempo an optischen oder elektrischen Detektoren vorbei. Sie werden auf der Basis von charakteristischen Molekülen auf der Zelloberfläche – sogenannten Markern – sortiert. Die fluoreszenzaktivierte Zellsortierung, kurz FACS, ist inzwischen aus den Forschungslaboren nicht mehr wegzudenken. Das Unternehmen Miltenyi setzt auf die seit vielen Jahren etablierte magnetische Zellsortierung: Magnetische Nanopartikel werden hierzu an Antikörper gekoppelt, die gezielt an einen Marker an der Oberfläche von Stammzellen andocken. Der Vorteil: Mit Hilfe eines Magneten kann man auf diese

Foto: Goethe-Universität

Analyse von FACS-Daten im Labor

Weise die begehrten Zellen sehr schonend und unter sterilen Bedingungen aus großen Zellmengen herausfischen. Das Verfahren wird bereits routinemäßig in der Klinik eingesetzt.

Ein neues Zellsortiersystem aus Bergisch Gladbach basiert hingegen auf Mikrofluidik: „Wir haben einen Mikrochip mit winzigen Kanälen und Schaltern entwickelt, der basierend auf Fluoreszenzmarkern hindurchströmende Zellen noch schneller und schonender als bei herkömmlichen Durchflusszytometern sortieren kann“, erläutert Bosio. Das sei ebenfalls unter sterilen Bedingungen möglich – ein deutlicher Vorteil für einen möglichen Einsatz in regenerativen Therapien.

Omics-Technologien

Der Blick der Molekularbiologen auf Zellen hat mit den Omics-Technologien einen völlig neuen Grad an Präzision erreicht. Omics-Technologien sind bioanalytische Hochdurchsatztechniken. Sie erlauben in einem weitgehend automatisierten Prozess in relativ kurzer Zeit die parallele, umfassende Untersuchung von Biomolekülen einer biologischen Probe.

Die rasanteste Entwicklung hat es zweifellos in der DNA-Sequenzierung gegeben. Durchbrüche in der Mikrosystemtechnik und der Nanotechnologie haben die Entzifferung von Erbinformation nicht nur um das Millionenfache beschleunigt, sondern auch die Kosten um die gleiche Größenordnung gesenkt.

„In den vergangenen Jahren sind die Omics-Verfahren dabei so empfindlich geworden, dass man mit wenig Zellmaterial arbeiten kann“, sagt Michael Rieger, der zum erweiterten Vorstand des German Stem Cell Network (GSCN) gehört. Für besonders relevant hält er die neuesten technologischen Fortschritte in der Transkriptom-Analyse. Hierbei wird anhand der abgelesenen RNA-Moleküle der Aktivitätszustand von Genen in definierten Zelltypen gemessen. Bis vor kurzem wurden Transkripte mittels DNA-Microarrays ausgelesen. „Doch nun ist die RNA-Sequenzierung auf dem Vormarsch“, sagt Rieger. Mit der RNA-Seq-Technik lassen sich die Identität und Menge an vorhandenen RNA-Molekülen sehr präzise erfassen.

RNA-Universum erkunden

Ein weiteres Plus: die Technik eröffnet völlig neue Einblicke in das kaum ergründete RNA-Universum der Zelle. Damit lassen sich nun auch funktionelle Klassen von RNA-Molekülen identifizieren, welche nicht in ein Protein übersetzt werden. Dazu zählen die kurzen microRNAs oder die langen nicht-kodierenden RNAs (lncRNAs). Welche Rolle diese Moleküle in Stammzellen spielen, enträtseln derzeit immer mehr Forscher.

Für eine weitere Ebene der Genregulation sorgen epigenetische Veränderungen, also chemische Modifikationen an der DNA. Auch Epigenom-Analysen, etwa der Blick auf Methylierungsmuster im Erbgut, sind heute dank der modernen Sequenzierverfahren optimiert worden. Die Erfassung des vollständigen Repertoires an Eiweißmolekülen in einer Zelle, die Proteom-Analyse, ist ebenfalls unabdingbar für das genaue Verständnis biomolekularer Prozesse. Dank der Entwicklung hochsensitiver Verfahren der Massenspektrometrie (MS) lassen sich selbst in geringsten Spuren vorhandene Proteine nicht mehr bloß identifizieren, sondern auch quantifizieren.

Die durchleuchtete Blutstammzelle

Wie intensiv die Omics-Technologien von Stammzellforschern in Deutschland bereits eingesetzt werden, doku-

Foto: MDC / Himsel

Heidelberg Institute for Stem Cell Technology and Experimental Medicine

HI-STEM gGmbH

HI-STEM
HEIDELBERG INSTITUTE FOR STEM CELL TECHNOLOGY AND EXPERIMENTAL MEDICINE

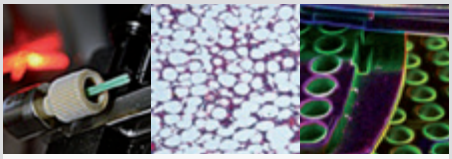
Die HI-STEM gGmbH ist eine gemeinnützige öffentlich-private Partnerschaft des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) und der Dietmar-HoppStiftung.

Angesiedelt am DKFZ in Heidelberg, betreibt das HI-STEM Institut innovative Forschung an Stammzellen mit der Zielsetzung, die Ergebnisse in neue klinische Anwendungen zu überführen. Diese beinhalten die Entwicklung neuartiger Diagnose-Verfahren und Strategien, um Tumorstammzellen in Blutkrebs und soliden Tumoren sowie Metastasen zu verfolgen und gezielt zu bekämpfen.

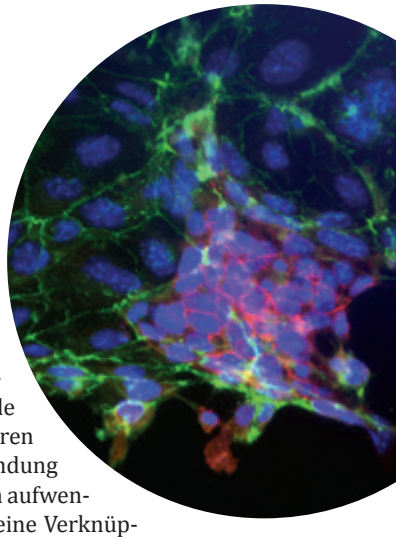
Professor Dr. Andreas Trumpp und vier Nachwuchsgruppenleiter führen ein internationales Team von mehr als fünfzig Wissenschaftlern.

Die HI-STEM-Forschungsgruppen:

- Hematopoetische und leukämische Stammzellen (A. Trumpp)
- Experimentelle Hämatologie (M. Milsom)
- Stress-induzierte Aktivierung von HSCs (M. Essers)
- Krebs-Stammzellen und Metastasierung (A. Trumpp & M. Spick)
- Metastatische Nischen (T. Oskarsson)



HI-STEM gGmbH
im Deutschen Krebsforschungszentrum DKFZ
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg
www.hi-stem.de



mentiert eine kürzlich im Fachjournal *Cell Stem Cell* veröffentlichte Studie, die Heidelberger Wissenschaftler vom Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) und vom European Molecular Biology Laboratory (EMBL) vorgelegt haben. In der von GSCN-Alterspräsident Andreas Trumpp koordinierten Arbeit wurden hämatopoetische Stammzellen (HSCs) und Vorläuferzellen in bisher unerreichtem Detail molekular vermessen. Dazu durchleuchteten die Forscher das Transkriptom, das Proteom und das Methylom der verschiedenen Zelltypen. Die Kombi-Analyse hat rund 500 Transkriptionsfaktoren und etwa 700 lncRNAs zutage gefördert, die in den betrachteten Zelltypen ein unterschiedliches Aktivitätsmuster zeigen. Für Michael Rieger, der nicht an der Studie beteiligt war, ist die Publikation aus Heidelberg eine wertvolle Datenressource für alle Blutstammzellforscher weltweit. „Jetzt ist es nötig, aus den multiplen Ebenen der Information biologischen Sinn und Hypothesen herauszuarbeiten", so Rieger.

3D-Organisation des Genoms

Wie funktioniert das molekulare Programm einer Stammzelle? Das Team um den Molekularbiologen Frank Buchholz von der Medizinischen Fakultät der TU Dresden geht mithilfe genomweiter funktioneller Screens auf die Jagd nach wichtigen molekularen Akteuren, die für die Stammzellerhaltung notwendig sind. Dabei setzen die Dresdner insbesondere auf die Technik der RNA-Interferenz, um die Gene in Zellen systematisch auszuschalten und die Auswirkungen dieses Eingriffs zu untersuchen. Auch die neuen gentechnischen Präzisionswerkzeuge, die Designer-Nukleasen, beflügeln derzeit die Fantasie der Genomforscher (siehe Kapitel Genome Editing, S.32). „Immer wichtiger wird es zudem, die räumliche Organisation des Genoms in der Zelle zu betrachten", sagt Buchholz. Nach Ansicht des Dresdner Bioingenieurs ist die Chromosome-Conformation-Capture-Methode eines der derzeit heißesten Themen in der molekularen Zellbiologie.

Einzelzellanalyse wird möglich

Die Omics-Technologien sind inzwischen so leistungsfähig und empfindlich geworden, dass selbst Analysen auf der Ebene einzelner Zellen möglich sind. Stammzellforscher können von solchen Einzelzell-Analysen enorm profitieren. Andreas Bosio sieht in dieser Technik besonders für die Krebsforschung großes Potenzial. Beim Studium von extrem seltenen Krebsstammzellen etwa kann die Untersuchung einzelner Zellen wertvolle Einblicke in die Entstehung von Tumoren offenbaren. „Für eine breitere Anwendung ist das Verfahren derzeit noch ziemlich aufwendig", sagt Bosio, „es kann aber durch eine Verknüpfung mit der Zellsortierung erheblich erleichtert werden."

Dem Zellschicksal auf der Spur

Für den Frankfurter Forscher Michael Rieger ist es jedoch nicht nur wichtig, Zellen auf ihr molekulares Profil hin zu durchleuchten. Um die Funktion von Stammzellen zu verstehen, müsse man auch ihre äußere Gestalt und ihr Verhalten genau in den Blick nehmen. Dazu wurde in den vergangenen Jahren mit Timm Schroeder, der an der ETH Zürich in Basel forscht, ein Einzelzell-Tracking-System entwickelt. „Damit lässt sich das Schicksal der Stammzellen über lange Zeiträume im Videomikroskop verfolgen". Mittels Epifluoreszenz-Zeitraffermikroskopie werden einzelne Zellen in der Kulturschale kontinuierlich abgelichtet. Teilt sich die Zelle, so vergibt eine Tracking-Software den Abkömmlingen Nummern und verfolgt deren Weg wiederum in Echtzeit weiter. Auf diese Weise lässt sich quasi eine Biographie der Stammzelle verfilmen. „Wir kennen ihre Verwandtschaft, ihren Aufenthaltsort, die Nachbarschaftsverhältnisse und den Differenzierungsgrad jeder Zelle", sagt Rieger. Das System eigne sich deshalb ideal dafür, den Einfluss äußerer Faktoren auf das Verhalten von Stammzellen zu studieren.

Das Arsenal der Messinstrumente wird immer leistungsfähiger, die verfügbaren Informationen immer dichter. So kommen die Forscher hierzulande ihrem Ziel Stück für Stück näher, den komplexen Code zu entziffern, der Stammzellen so besonders macht. *Text: Philipp Graf*

Foto: MDC / Torben Redmer

Fraunhofer-Einrichtung für Marine Biotechnologie EMB

Innovative Forschung & Entwicklung im Institutsneubau der Fraunhofer EMB in Lübeck

Fraunhofer EMB

Die Fraunhofer EMB hat am 15. Dezember 2014 den Institutsneubau auf dem BioMedTec Wissenschaftscampus in Lübeck bezogen. Der Neubau besitzt modern ausgestattete Labore, Aquakulturanlagen, ein Lebensmitteltechnikum und Biobanken mit vollautomatischen State-of-the-Art-Technologien auf einer Gesamtfläche von 8 292 m² (BGF). Zur technischen Neuausstattung gehören ein Röntgenmikroskop, ein Kleintier-MRT sowie verschiedene 3D-Drucker der neuesten Generation, die bei der Entwicklung neuer Laborgeräte eingesetzt werden.
„Wir freuen uns, dass wir mit diesen hervorragenden Forschungskapazitäten die Life Science-Kompetenz der Fraunhofer-Gesellschaft weiter ausbauen können. Das neue Forschungsgebäude eröffnet uns die Möglichkeit, zukunftsträchtige Themenfelder für die angewandte Forschung zu erschließen und vorhandene Geschäftsfelder mit modernstem Equipment auszubauen" so Prof. Charli Kruse, Geschäftsführender Direktor der Fraunhofer EMB.
Die Fraunhofer EMB befasst sich mit industrienaher Forschung im Bereich der Lebenswissenschaften. Hier werden neue Technologien, Verfahren und Instrumente in den Bereichen der Zellisolierung und verwertung entwickelt. Die Wissenschaftler der EMB arbeiten zudem an innovativen Aquakultursystemen und der Verwertung aquatischer Rohstoffe für die Lebensmitteltechnik. Mit dem „Cryo-Brehm" unterhält die EMB eines der größten Archive für Zellkulturen aus Wildtieren weltweit.

Fraunhofer-Einrichtung für Marine Biotechnologie EMB
Mönkhofer Weg 239a
23562 Lübeck
www.emb.fraunhofer.de
Kontakt: Jessica.Barnewitz@emb.fraunhofer.de