

11th Joint Meeting 'Signal Transduction: Receptors, Mediators and Genes'

Signalmolekülen bei der Arbeit zugeschaut: Schwerpunkt "Imaging"

Ottmar Janssen, Karlheinz Friedrich and Ralf Hass

Noch vor nicht allzu langer Zeit konnten molekulare Vorgänge, die intrazellulären Signalprozessen zugrunde liegen, nur durch Modelle und Cartoons „sichtbar“ gemacht werden. Atemberaubende technische Fortschritte haben diese Situation in den letzten Jahren grundlegend geändert. Der Traum von Biochemikern und Zellbiologen, Signaltransduktionsabläufe in der Zelle hochaufgelöst und in Echtzeit beobachten zu können, wurde zunehmend Wirklichkeit.

Wie seine Vorgänger beschäftigte sich das in Zusammenarbeit mit inzwischen fünf Arbeitskreisen der DGfI, der GBM und der DGZ ausgerichtete 11. Meeting der Signal Transduction Society (STS) mit einem weiten Spektrum von unterschiedlichsten Forschungsaspekten. Ein besonderer Fokus lag jedoch im letzten Jahr auf der Vorstellung moderner bildgebender Verfahren zur Darstellung von Signalprozessen im weitesten Sinne. Hier sollen kurz einige repräsentative "Highlights" des 11. STS-Meeting "Signal Transduction – Receptors, Mediators and Genes" berichtet werden, das vom 1. bis 3. November 2007 in Weimar stattfand.

Die Wechselwirkungen zwischen T-Zellen und dendritischen Zellen in den Lymphknoten sind ein Prozess mit vielen Unbekannten geblieben. **Ulrich von Andrian** und sein Team an der Harvard Medical School in Boston benutzten die Multiphotonen-Mikroskopie („*Multiphoton Intravital Microscopy - MP-IVM*“), um im wahrsten Sinne des Wortes Licht in dieses Dunkel zu bringen (Fig. 1). Naive T-Zellen, die mit antigentragenden dendritischen Zellen zusammentreffen, durchlaufen drei Interaktionsphasen, die in schließlich zur T-Zellaktivierung führen (1). Eindrucksvolle bewegte Bilder in von Andrians Präsentation zeigten eine durch schnelle, transiente Kontakte charakterisierte Initialphase, eine zweite Phase, in der die Zellen einen längeren stabilen Zusammenhalt zeigen, sowie eine Phase drei, in der sie zu transienten Interaktionen zurückkehren. Durch diese neuartigen Visualisierungstechniken eröffnet sich die Möglichkeit, mit der präzisen Beschreibung der Abläufe zu beginnen, die der Entscheidung der T-Zelle zum Übergang von Phase-eins- zu Phase-zwei-Interaktionen zugrunde liegen. Quantitative Analysen der Videobilder zeigten, dass die Dauer der Initialphase von der Antigen-Dosis und der Dichte der dendritischen Zellen im Lymphknoten abhängt. Für die ultimative T-Zellaktivierung ist offenbar nur eine recht kleine Zahl von antigenpräsentierenden dendritischen Zellen erforderlich. Hierzu passt, dass nur wenige MHC-gebundene Antigen-Peptide ausreichen, um eine T-Zelle von der Phase eins in den stabileren Zustand der stabileren Phase-zwei-Interaktion zu treiben (2).

Stammzellforschung wurde in den letzten Jahren auch ein beherrschendes Thema der molekularen Onkologie. Wie **Malcolm Alison** von der Queen Mary University in London ausführte, ist die Entwicklung maligner Tumoren eng mit der Aktivität von Stammzellen verknüpft, die sich an einem bestimmten Punkt von normalen in neoplastische Varianten wandeln. Nach heutiger Sicht ist bei jeder Krebsform eine Population von bisher schlecht charakterisierten, sich selbst erneuernden Zellen verantwortlich für den Erhalt des Tumors (3). Alisons Labor konnte mit Hilfe potenzieller Stammzellmarker wie Mutationen im mitochondrialen Gen für Cytochrom

c-Oxidase das Schicksal einzelner Stammzellen des Colons verfolgen. Durch spezifische Färbung gelangen eindrucksvolle Bilder von sich entwickelnden Darmkrypten und die präzise Lokalisierung von selbsterneuernden Zellen. In Anbetracht der sich abzeichnenden entscheidenden Bedeutung von Krebsstammzellen für die Malignität wird ein besseres Verständnis ihrer Biologie zweifelsohne großen Einfluss auf zukünftige therapeutische Strategien haben.

Der neueste Stand bei der translationalen Forschung, also der direkten Übertragung von Forschungsdaten in die Klinik wurde in einer Übersicht von **Christof von Kalle** vom Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen vorgestellt. Zweck der erst kürzlich etablierten neuen Einrichtung in Heidelberg ist die Optimierung interdisziplinärer klinischer Behandlung von Krebspatienten. Zu den wissenschaftlichen Projekten, die im Rahmen von Studien dort unmittelbar den Patienten zugute kommen zählt die Forschung an neuen integrierenden Vektoren für die Gentherapie. Um das Schicksal von transduzierten Zellen und ihrer klonalen Nachkommenschaft verfolgen zu können, verwenden von Kalle und Kollegen individuelle Integrationsloci der Vektoren im zellulären Genom als molekulare Marker. Mit Hilfe einer jüngst eingeführten spezialisierten PCR-Technologie wurde die Detektion und Sequenzierung unbekannter flankierender Sequenzen auf der Ebene von Einzelzellen möglich (4). Diese Arbeiten werden sicher neue Einsichten in die Physiologie genmodifizierter hämatopoietischer Repopulationen ermöglichen und dazu beitragen, mögliche insertionsbedingte Nebeneffekte zu beherrschen, die bei gentherapeutischen Ansätzen in der Vergangenheit schon zu Leukämien geführt haben.

Zu den vielseitigsten Signalmolekülen, die an der malignen Zelltransformation beteiligt sind zählen die unterschiedlichen Isoformen der Proteinkinasen B und C. Zahlreiche Funktionen in der normalen und pathologisch veränderten Zelle sind bekannt. **Peter Parkers** Labor am London Research Institute studiert diese Enzyme seit vielen Jahren und hat aufgeklärt, wie sie trotz ihrer eng verwandten katalytischen Domänen und phosphorylierungsabhängigen Aktivierungsmechanismen so unterschiedliche Eigenschaften aufweisen können. Die charakteristischen Besonderheiten der einzelnen PKB und PKC Proteine werden offenbar durch die unterschiedlichen Abläufe bedingt, die bei Interaktionen der jeweiligen regulatorischen mit den zugehörigen katalytischen Domänen auftreten (5). Ein Beispiel für ein Mitglied der Kinasefamilie mit einer definierten Funktion in der Zellphysiologie ist die PKC epsilon, die den Transport endocytotisch aufgenommener beta1-Integrine zur Plasmamembran kontrolliert und damit die Richtung von Zellbewegungen reguliert.

Die Präsentation von **Larry Samelson** von den National Institutes of Health (NIH) in Bethesda war ein weiteres besonderes Highlight aus dem Feld moderner Imaging-Methoden. Samelsons Labor leistete Pionierarbeit bei der Entwicklung von Techniken, die die Aktivierung von T-Zellen zeitlich und räumlich mit ungekannter Präzision verfolgbar machten. T-Zellaktivierung ist das Ergebnis dynamischer Protein-Protein-Interaktionen und der Ausbildung von Multiprotein-Signalkomplexen, die aus Transmembran-Rezeptoren, Adapterproteinen und Effektormolekülen bestehen. Samelson konzentrierte sich auf den T-Zellrezeptor (TCR) und die Adapterproteine LAT (*linker for activation of T cells*) und SLP-76 und demonstrierte an diesem Modell, wie Signalkomplexe durch eine Kombination von bildgebenden und komplementierenden Techniken charakterisiert werden können (6,7). In faszinierenden hochaufgelösten Bildern konnten die Tagungsteilnehmer sehen, wie

die Adaptoren nach Antigenkontakt rasch in makromolekularen Clustern assoziierten, deren Nukleationskern der T-Zellrezeptor darstellt. Zugleich mit dieser transienten Assoziation ist ein Anstieg von Tyrosinphosphorylierung und Calcium-Einstrom zu beobachten. Am Ende steht die Segregation von Komplexen, die SLP-76 enthalten, vom TCR und ihre Translokation hin zur Kontaktfläche. Mutationsanalysen von verschiedenen Komponenten der Cluster wie LAT und SLP-76 zeigten, dass multiple Domänen innerhalb eines jeden der beteiligten Proteine Clusterbildung und -umsatz beeinflussen.

Referenzen

- (1) Mempel TR, Henrickson SE, von Andrian UH. T cell priming by dendritic cells occurs in three distinct phases. *Nature* 2004, 427:154–9.
- (2) Henrickson SE, Mempel TR, Mazo IB, Liu B, Artyomov MN, Zheng H, Peixoto A, Flynn MP, Senman B, Junt T, Wong HC, Chakraborty AK, von Andrian UH. T cell sensing of antigen dose governs interactive behavior with dendritic cells and sets a threshold for T cell activation. *Nat. Immunol.* 2008, 9:282–91.
- (3) Alison MR, Murphy G, Leedham S. Stem cells and cancer: a deadly mix. *Cell Tissue Res.* 2008, 331:109-24.
- (4) Schmidt M, Schwarzwaelder K, Bartholomae C, Zaoui K, Ball C, Pilz I, Braun S, Glimm H, von Kalle C. High-resolution insertion-site analysis by linear amplification-mediated PCR (LAM-PCR). *Nat Methods.* 2007, 4:1051-7.
- (5) Cameron AJ, De Rycker M, Calleja V, Alcor D, Kjaer S, Kostecky B, Saurin A, Faisal A, Laguerre M, Hemmings BA, McDonald N, Larijani B, Parker PJ. Protein kinases, from B to C. *Biochem Soc Trans.* 2007, 35:1013-7.
- (6) Bunnell SC, Singer AL, Hong DI, Jacque BH, Jordan MS, Seminario MC, Barr VA, Koretzky GA, Samelson LE. Persistence of cooperatively stabilized signaling clusters drives T-cell activation. *Mol Cell Biol.* 2006, 26:7155-66.
- (7) Barda-Saad M, Braiman A, Titerence R, Bunnell SC, Barr VA, Samelson LE. Dynamic molecular interactions linking the T cell antigen receptor to the actin cytoskeleton. *Nat Immunol.* 2005, 6:80-9.