

Markus Gumbel  
Dr. sc. hum.

## **Eine dreidimensionale Computersimulation zur Analyse der frühen Embryogenese des Nematoden *Caenorhabditis elegans***

Geboren am 23.02.1970 in Fritzlar  
Abitur am 19.05.1989 in Fritzlar  
Studiengang der Fachrichtung Medizinische Informatik vom SS 1993 bis WS 1998  
Vordiplom am 18.05.1995 an der FH Heilbronn/Universität Heidelberg  
Diplom am 1.04.1998 an der FH Heilbronn/Universität Heidelberg

Promotionsfach: Medizinische Informatik  
Doktorvater: Prof. Dr. H.-P. Meinzer

Diese Arbeit hat erstmals im Modell die Zellbewegungen untersucht, die während der frühen Embryogenese des *C. elegans* stattfinden. Am Ende des prämorphogenetischen Stadiums haben sich etwa 350 Zellen gebildet, von denen einige der Gastrulation unterzogen werden und andere sich rechts-links-symmetrisch an der Oberfläche anordnen. Die Wanderungen der Zellen können zwar unter dem Mikroskop gut beobachtet und aufgezeichnet werden, ihre Ursache ist jedoch noch unklar. Biologische Experimente dazu lassen sich nur schwer realisieren, da die Eigenschaften der Zellen nicht direkt manipuliert werden können und nur wenige Mutanten vorliegen, die Einfluss auf die Zellbewegungen nehmen.

Um mögliche Mechanismen zu untersuchen, wurde ein dreidimensionales Computermodell entwickelt, mit dem sich die Zellbewegungen im *C. elegans* simulieren lassen. Als Plattform für die Modelle wurde eine Simulationsumgebung (*Cello*) entwickelt, die auf einem objektorientierten und erweiterbaren Framework zur Simulation biologischer Prozesse beruht. Dieses System stellt sowohl kontinuierliche wie auch ereignisorientierte Simulationsmethoden zur Verfügung, und es lassen sich sowohl die Ergebnisse der Simulationen wie auch die aufgezeichneten biologischen Daten damit analysieren.

Da die Zelllinie des *C. elegans* invariant und jede Zelle eindeutig identifizierbar ist, lassen sich in zwei Embryonen korrespondierende Zellen miteinander vergleichen. Da bisher die Zellpositionen noch nicht quantitativ verglichen wurden und dies auch für die Auswertung der simulierten Embryonen benötigt wird, wurden zwei Matching-Verfahren zum Abgleich der Zellpositionen entwickelt.

Ein Vergleich der drei zur Verfügung stehenden Embryonen untereinander hat ergeben, dass der Unterschied der Zellpositionen zunächst größer, dann aber kleiner als zu Beginn der Embryonalentwicklung wird. Die Umgebung einer Zelle — also die Zellnachbarn, mit denen sie in Kontakt steht — wird hingegen mit der Zeit immer verschiedener.

Um festzustellen, wie die Anordnung der Blastomere ohne weitere Steuerungsmechanismen aussieht, wurden Simulationen ausgeführt, bei denen nur die Richtung der Zellteilung die Positionen der Zellen beeinflusst. Das Ergebnis ist, dass weder eine Gastrulation einsetzt noch die typische Rechts-Links-Symmetrie entsteht. Die Abweichung von den echten Embryonen wird mit der Zeit immer größer. Es gibt zwei etablierte Hypothesen, die Zellbewegungen zu erklären versuchen: Die aktive Wanderung entlang eines Morphogengradienten und die differenzielle Adhäsion (DA). Da bisher keine Morphogene im *C. elegans* entdeckt wurden und die Gastrulation gut mit differenzieller Adhäsion erklärt werden kann, wurde die DA als Mechanismus näher untersucht.

Simulationen mit drei bezüglich den Adhäsionseigenschaften verschiedenen Zelltypen in einer Eischale demonstrieren, dass sich die Zellen in Schichten wie Keimblättern anordnen lassen und es somit zu einer Gastrulation kommt. Versuche in zwei Dimensionen zeigen zudem, dass eine symmetrische Anordnung, wie im *C. elegans* an der Oberfläche beobachtet, entstehen kann, wobei dies allerdings von den Ausgangspositionen der Zellen abhängig ist.

Damit die Zellbewegungen im *C. elegans* erreicht werden können, müssen diese Effekte kombiniert werden. Dadurch sind wesentlich mehr als drei verschiedene Adhäsionen nötig. Es wurden zwei Hypothesen überprüft, die sich darin unterscheiden, wie die Adhäsionen zwischen *C. elegans*-Zellen vergeben werden: Die erste Hypothese besagt, dass alle Nachfolger, die von einem Vorgänger im 12-Zellen-Stadium abstammen, gleiche Adhäsionseigenschaften haben. Die zweite unterstellt, dass Zellen mit gleicher Differenzierung gleiche Adhäsionseigenschaften haben. Die Simulationen zeigen, dass sich zwar in beiden Fällen die Gastrulation, nicht jedoch die Ausbildung der Rechts-Links-Symmetrie erreichen lässt. Dabei erzielt die erste, abstammungsbasierte Hypothese bessere Ergebnisse. Der Vergleich mittels der Matching-Verfahren verdeutlicht jedoch, dass beide Ansätze nicht in der Lage sind, die gleiche Anordnung wie in den echten Embryonen zu erzeugen. Versuche, bei denen zum einen die differenzielle Adhäsion verwendet und zum anderen die Teilungsrichtung der Zellen variiert wurde, haben vor allem die Bildung der Rechts-Links-Symmetrie und somit auch das Gesamtergebnis verbessert.

Die differenzielle Adhäsion eignet sich im *C. elegans* nur zur Erklärung der Gastrulation, nicht aber zur Erklärung der Rechts-Links-Symmetrie. Die dafür notwendigen weiten Zellbewegungen auf der Oberfläche lassen sich möglicherweise deshalb nicht erreichen, weil die dafür nötigen Adhäsionen im Vergleich zu denen, die zur Gastrulation benötigt werden, immer sehr schwach sein müssen. Dadurch sind die daraus resultierenden Zellbewegungen zu gering, um weite Wanderungen hervorzurufen.

Die Rechts-Links-Symmetrie muss folglich durch einen anderen Mechanismus erreicht werden. Die Simulationen zeigen zwar, dass die Teilungsrichtung einen entscheidenden Einfluss auf die Symmetrie nimmt, doch müsste eine Zelle in diesem Fall aus Kontakten zu ihren Nachbarn die richtige Ausrichtung der Mitosespindel ermitteln. Die Analyse der echten Embryonen liefert dafür aber keine Hinweise. Somit bleibt noch die Möglichkeit, dass die Symmetrie durch Zellwanderungen entlang eines Morphogengradienten erreicht wird.