



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Dissecting population and single-cell heterogeneity in response to anti-cancer drugs

Autor: Saman Honarnejad
Institut / Klinik: Institut für Molekular- und Zellbiologie der Hochschule Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hafner

Die Wirkung von niedermolekularen Krebsmedikamenten wird normalerweise mittels zell-basierter Analysen getestet, um die Wirksamkeit zu optimieren, Erkenntnisse über Zellwachstum und -tod zu gewinnen, sowie Faktoren zu identifizieren, die Resistenz und Sensitivität beeinflussen. Um die Wirkmechanismen von Therapeutika zu verstehen, müssen die arzneimittelbedingten Veränderungen auch hinsichtlich des intrazellulären Zustandes (die Inhibition der Onkogen-Signalwege, Veränderungen in dem Zellzyklus und Induktion von Seneszenz oder Apoptose) charakterisiert werden. Naheliegende konventionelle Einzelparameter Screening Techniken, wie sie in der Arzneimittelforschung genutzt werden, sind nicht im Stande diese Komplexität methodisch zu bewerten. Deshalb sind Multiplex Methoden erforderlich, um den Dosis-Wirkungs-Verlauf von multiplen molekularen Signalen und zellulären Phänotypen zu erfassen. In dieser These behaupten wir, dass hochauflösende und Hochdurchsatz-Mikroskopie für diesen Verwendungszweck ideal ist, da nicht nur Aspekte wie Phänotyp- und Ziel-basierende Ansätze, sondern auch molekulare Details der medikamentös-induzierten Phänotypen der einzelnen Zellen einbezogen werden können.

Die Analyse der phänotypischen Dosis-Wirkungs-Kurven von neun Kinase-Inhibitoren, gemessen mittels Hochdurchsatz-Mikroskopie, zeigt systematische Parallelen, aber auch Variationen zwischen den verschiedenen Medikamenten. Interessanterweise verursacht die Inhibition von mTOR einen dosisabhängigen Anstieg der Phosphorylation von ERK1/2, der die Wirkung verringern könnte.

Obwohl die durchschnittlichen Messungen der Dosiswirkung zweifellos nützlich sind, um das Verhalten der gesamten Zellenpopulation auf die entsprechenden Medikamente zu erforschen, wird die Einzel-Zell-Analyse zunehmend als Möglichkeit für die Erforschung von natürlichen und induzierten Veränderungen in der Zellphysiologie anerkannt. Wir überwachten die Reaktion auf vier Kinase-Inhibitoren, die auf den frühen Signalweg wirken. Wir verwendeten dazu eine neuartige "zyklische Immunfluoreszenz" Methode (CyclIF), die fähig ist bis zu 30 Kanäle gleichzeitig abzubilden. Zur Datenanalyse wurden bereits bestehende Hilfsmittel wie *k*-means-Algorithmus, *t*SNE- und Wanderlust-Algorithmus verwendet. Wir waren in der Lage verschiedene Abschnitte des Zellzyklus mit der Wanderlust-Zeitschiene darzustellen. Mittels *t*SNE-Algorithmus konnten wir zeigen, dass verschiedene Medikamente zur Entstehung von eigenständigen Subpopulationen führen. Folglich offenbart das "Multiplex-Single-Cell-Imaging" nützliche Einblicke in die Wirkmechanismen von Medikamenten und Zell-zu-Zell-Variabilität.