

Biologie der Herzstammzellen: Projekt- und Versuchsplanung sowie aktuelle Literatur

Thema der Lehrveranstaltung (Was machen wir?):

Wir untersuchen einige molekulare Aspekte der Regulation der Selbsterneuerung von Herzstammzellen und deren Entwicklung zu funktionellen Herzzellen. Ziel dieser Untersuchungen ist es zur Erforschung der physiologischen Bedeutung von Herzstammzellen im adulten und alternden Herzen beizutragen.

“Mission Statement” zu unserem Forschungsvorhaben

“We pursue to unravel some molecular aspects of early mammalian cardiomyogenesis. We are interested in signaling and genetic regulation of commitment and differentiation of cardiac stem cells and the transcriptional balancing of self-renewal and differentiation in adult and ageing cardiac stem cells.”

Faktum ist das viele Experimente nicht nur nicht, zum erwarteten Ergebnis führen, sondern auch noch vollkommen widersprüchliche, also vorerst unerklärbare Resultate ergeben.

Ziel der Lehrveranstaltung:

Das Erarbeiten von Erklärungen für ungelöste Probleme und widersprüchliche experimentelle Daten in der aktuellen Herzstammzellforschung.

D.h.: Das Erarbeiten von neuen Hypothesen mit Hilfe der Literatur und von dazugehörigen experimentellen Ansätzen, um diese zu testen.

Grundlagen:

Entwicklungsbiologie: Embryonale Kardiomyogenese, Aufbau des Herzens

Zellbiologie: Biologie der (adulten Herz-) Stammzellen inklusive deren Nische(n)

Biochemie und Molekularbiologie: Signalübertragung und transkriptionelle Kontrolle

Unsere Forschung: Einfluss von SPARC und Desmin auf die Selbsterneuerung und Differenzierung von Herzstammzellen

Literatur zu den Grundlagen: (bis 24.3. zu lesen; siehe <https://homepage.univie.ac.at/georg.weitzer/>)

Mechanisms of Cardiogenesis in Cardiovascular Progenitor Cells. Taubenschmid, J. and Weitzer, G. (2012) Int Rev Cell Mol Biol. 293, 195- 267. DOI: 10.1016/B978-0-12-394304-0.00012-9

Embryonic Stem Cells Facilitate the Isolation of Persistent Clonal Cardiovascular Progenitor Cell Lines and Leukemia Inhibitor Factor Maintains Their Self-Renewal and Myocardial Differentiation Potential in vitro. Hoebaus, J., Heher, P., Gottschamel, T., Scheinast, M., Auner, H., Walder, D., Wiedner, M., Taubenschmid, J., Miksch, M., Sauer, T., Schultheis, M., Kuzmenkin, A., Seiser, C., Hescheler, J., Weitzer, G. *Cells, tissues, organs.* 2013;197(4):249-268 DOI: 10.1159/000345804

Desmin enters the nucleus of cardiac stem cells and modulates Nkx2.5 expression by participating in transcription factor complexes that interact with the nkx2.5 gene. Fuchs, C., Gawlas, G., Heher, P., Nikouli, S., Paar, H., Ivankovic, M., Schultheis, M., Klammer, J., Gottschamel, T., Capetanaki, Y., and Weitzer, G. (2016) *Biology Open* [Link to Biology Open DOI: 10.1242/bio.014993](https://doi.org/10.1242/bio.014993)

Parietal endoderm secreted SPARC promotes early cardiomyogenesis in vitro. Stary, M., W. Pasteiner, A. Summer, A. Hrdina, A. Eger, and G. Weitzer. 2005. *Exp Cell Res.* 310, 331-343. [link https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.07.013](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.07.013)

Konkrete Probleme zu denen Lösungsvorschläge erarbeitet werden sollen:

- die bei unseren früheren und laufenden Experimenten mit *cardiovascular progenitor cells* (CVPCs; bzw. *cardiac stem cells*, CSCs) aufgetreten sind.

- **SPARC Genregulation in wild Typ und transgenen CVPC Linien.**

sparc^{+/-} CVPCs haben mehr SPARC mRNA als sparc^{+/+} CVPCs und sparc^{+/-/ect} CVPCs haben weniger SPARC mRNA als sparc^{+/+} CVPCs.

- **Autoregulation des SPARC, desmin und Nkx2.5 Genes.** - Einfluss von eRNA und lncRNA auf die transkriptionelle Kontrolle der SPARC, Desmin und Nkx2.5 Gene.

- **Wie wird das „SPARC – Signal“ in die Zelle übertragen?**

Welche Signalübertragungswege werden von SPARC benutzt? - Unbekannte / neue Interaktionspartner von SPARC, Desmin und Nkx2.5, die eine Interaktion dieser Proteine / Gene erklären könnten. - SPARC und seine Rolle im „cell signaling“.

- **Gegensätzlicher Einfluss von i und e SPARC** - auf die Expression des Nkx2.5 Gene und auf die Differenzierung und Selbsterneuerung in CVPCs.

- **Gegensätzlicher Einfluss von Desmin auf die Kardiomyogenese in EBs und CBs.**
In EBs fördert Desmin die Kardiomyogenese; hingegen in CBS wird dies durch Desmin inhibiert.
- **Einfluss von Desmin auf die SPARC Expression und *vice versa*.**
Wie kann ein Extra-zelluläres Matrix-assoziiertes Protein, wie SPARC mit einem Zytoskelett-Protein, wie Desmin interagieren?
- **Quorum Sensing in Stammzellpopulationen:** - T und Nkx2.5 Expression fluktuierend anhaltend; Mesp1 nicht, d.h. Mesp1 positive Zellen sind anreicherbar! Warum? –und generell: „**Rauschen**“ – Fluktuationen der Genexpression in Stammzellen.

Allgemeine Probleme zu denen Lösungsvorschläge erarbeitet werden können:

Auf CSCs bezogen:

- **Nischenbedingungen in vivo und ex vivo, im Herzen. Wie ist die Herzstammzellnische aufgebaut?** - Welche Analogie-Schlüsse können mit Daten von anderen Nischen gemacht werden?
- Änderungen im Metabolismus in Stammzellen beim Übergang von der Selbst-Erneuerung zur Entwicklung zu somatischen Zellen.

Für alle SCs gültig:

- Wie kann man beweisen, dass iPSCs NICHT von somatischen Stammzellen aus den Zellpopulationen, die für die iPSC-Herstellung verwendet wurden, abstammen?
- **Wie kann man beweisen, dass die isolierten CVPCs nicht bei der Isolierungsprozedur mit Hilfe von ESCs aus somatischen Herzzellen durch Re-programmierung hergestellt wurden?**
ESCs interagieren mit Nachbarzellen auf vielfältige Weise und beeinflussen so deren Verhalten. Kann dies auch zu Langzeiteffekten wie Transformation, Transdifferenzierung, Re-programmierung bei den beeinflussten Zellen führen?

Ziel:

A. Erstellung von testbaren, neuen und auch modifizierten Hypothesen und Konzepte für eine experimentelle Lösung eines der vorgestellten Probleme mit Hilfe der (aktuellen) Primärliteratur.

B. Verifizierungs- oder Falsifizierungsvorschläge für unsere Arbeitshypothesen.

1. Desmin und SPARC beeinflussen die Kardiomyogenese.
2. Desmin und SPARC interagieren miteinander in Stammzellen, in entstehenden, und in, in der Homöostase befindlichen somatische Herzzellen.
3. Desmin und SPARC tragen zur physiologischen Funktion der Herzstammzellen im adulten und im alternden Herzen bei.

C. Präsentation der eigenen Arbeitshypothese und der dazu passenden Literatur in einem circa 15-minütigen Vortrag mit Hilfe von PowerPoint. Diskussion der Hypothesen und Lösungsvorschläge untereinander.

Programm: jeweils 9:15 bis 10:45

Do. 17.3. Vorstellung des Arbeitsprogrammes und des Forschungsgebietes unserer Arbeitsgruppe. → Literaturstudium

Do. 24.3. Vorstellung der Grundlagen und kurze Einführung in die vorliegenden experimentellen Ergebnisse, die die Basis ihrer Überlegungen, Recherchen und Lösungsvorschläge sind. → Auswahl des Themas und Literatursuche I.

Do. 31.3. Ergänzungen zu den Grundlagen und den ausgewählten Themen für jede/n Studierende/n. → Beginn der Arbeit am eigenen Projekt.

Do. 31.3. bis Do. 28.4.

Literatur- und Faktensuche zu den ausgewählten Themen. Informelle Diskussion der Themen untereinander! In diesen Zeitraum: Treffen im Seminarraum 3 nur bei Bedarf und nach Übereinkunft per E-Mail

Do. 5.5. 90 Sekunden Vorstellung des gefundenen Lösungsansatzes und gemeinsame Erstellung des Vortragsprogrammes. (Vorstellung der relevanten und meistversprechenden neuen Literatur und Fakten.) Fragen und Diskussion zu den gewählten Themen und der bereits gefundenen Lösungsansätze und Literatur. → Beginn der weiteren Präzisierung der Projektergebnisse.

Do. 5.5. bis Do. 2.6.

Endgültige Ausarbeitung der ausgewählten Themen und Erstellung einer neuen Arbeitshypothese. → Informelle Diskussion der Themen untereinander! Treffen im Seminarraum 3 nur bei Bedarf und nach Übereinkunft per E-Mail.

Do. 2.6. Erstellung des Vortragsprogramms → Fertigstellung des Lösungsansatzes und der Power Point Präsentation.

Mi. 22.6. 11:00-13:30! 4-6 Vorträge des Lösungsansatzes á 15 min. → Anwesenheitspflicht für alle!

Do. 23.6. 4-6 Vorträge des Lösungsansatzes á 15 min. → Anwesenheitspflicht für alle!

Do. 30.6. Abschließende Zusammenführung und Diskussion der Arbeitshypothesen, der unterschiedlichen neuen Aspekte aus der Literatur und der erhobenen Fakten zu unseren ungelösten Problemen. → Anwesenheitspflicht für alle! Ende der Lehrveranstaltung.