

Biologie der Herzstammzellen: Projekt- und Versuchsplanung sowie aktuelle Literatur – Ein Arbeitshypothesenseminar

Thema der Lehrveranstaltung:

Untersuchungen zur molekulare Regulation der Selbsterneuerung und Entwicklung von Herzstammzellen zu Herzmuskelzellen

Was machen wir? / Unserem Forschungsvorhaben:

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

Forschungsgegenstand unserer Arbeiten ist, die Rolle von Desmin und SPARC bei der molekularen Kontrolle der Stammzellfunktionen zu untersuchen.

- Desmin ist die muskelspezifische Untereinheit der Typ III Intermediärfilamente.
- SPARC ist ein sezerniertes ECM-assoziiertes multifunktionelles Protein.

Dabei konzentrieren wir uns auf transkriptionelle und post-translatorische (Signalübertragung) Einflüssen.

Ziel ist es eine genetische und molekulare Wechselwirkung zwischen dem Desmin und SPARC Gen und deren Genprodukte aufzuklären, und damit verbunden, aufzuzeigen, wie erstens

- diese beiden Gene die Herzmuskelzellenentwicklung beeinflussen, und zweitens,
- welche Funktion Herzstammzellen im adulten Herzen haben.

Faktum ist, dass viele Experimente nicht nur nicht, zum erwarteten Ergebnis führen, sondern auch noch vollkommen widersprüchliche, also vorerst unerklärbare Resultate ergeben. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit ständig neue Arbeitshypothesen aufzustellen und zu testen. –*die hier geübt werden sollen.*

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 vorhandenen Daten und der Literatur und von dazugehörigen experimentellen Ansätzen, die diese Hypothesen testen können.

Grundlagen für diese Lehrveranstaltung:

1. Entwicklungsbiologie: Embryonale Kardiomyogenese, Aufbau des Herzens
2. Zellbiologie: Biologie der (adulten Herz-) Stammzellen inklusive deren Nische(n)
3. Biochemie und Molekularbiologie: Signalübertragung und transkriptionelle Kontrolle
4. Unsere Forschung: Einfluss von SPARC und Desmin auf die Selbsterneuerung und Differenzierung von Herzstammzellen

Literatur zu den Grundlagen:

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](https://doi.org/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](https://doi.org/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)

Diese Publikationen sind bis 21.3. zu lesen; siehe auch <https://homepage.univie.ac.at/georg.weitzer/>

Erste Beispiele für Konkrete Probleme zu denen Lösungsvorschläge – d.h. neue und überprüfbare Arbeitshypothesen - ausgearbeitet 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.**

Faktum: *sparc*^{+/-} CVPCs haben in Gegenwart von Leukemia Inhibitory Factor (LIF) und feeder cells (LIF sezernierende mitotisch inaktivierte Fibroblasten) mehr SPARC mRNA als *sparc*^{+/+} CVPCs und *sparc*^{+/+/ect} CVPCs haben weniger SPARC mRNA als *sparc*^{+/+} CVPCs. Warum ist das so? Gibt es eine Autoregulation des SPARC Gens? Auf welcher Ebene könnte diese stattfinden?

- **Gegensätzlicher Einfluss von i und e SPARC.**

Faktum: Gegensätzlicher Einfluss auf die Expression des Nkx2.5 Gene (*i*SPARC → erhöhte Expression von Nkx2.5; *e*SPARC → verringerte Expression von Nkx2.5). Was könnte da der Grund sein? (*i* = intrinsisches, in der Zelle produziertes SPARC; *e* = extrinsisches, also parakrin oder autokrin wirkendes SPARC)

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

Welche Signalübertragungswege werden von SPARC benutzt? – Wie wird SPARC in die Zelle aufgenommen? Unbekannte / neue Interaktionspartner von SPARC und Desmin die eine Interaktion dieser Proteine / Gene erklären könnten?

- **Einfluss von Desmin auf die SPARC Expression und *vice versa*.**

Faktum: Erhöhte Desmin Expression führt zu höherer SPARC Expression und zu einer Steigerung der Kardiomyogenese in CSCs. Wie kann ein Extra-zelluläres Matrix-assoziiertes Protein, wie SPARC mit einem Zytoskelett-Protein, wie Desmin interagieren? Was ist der „missing link“?

- **Gegensätzlicher Einfluss von Desmin auf die Kardiomyogenese in EBs und CBs.**

Faktum: In EBs fördert erhöhte Desmin Expression die Kardiomyogenese; hingegen in CBs wird dies durch mehr Desmin inhibiert. Was könnte da der Grund dafür sein? Verringerte Expression von Desmin in EBs und CBs führt aber in beiden Fällen zu einer verzögerten und verringerten Kardiomyogenese.

- **Quorum Sensing in Stammzellpopulationen:**

Faktum: T und Nkx2.5 Expression fluktuierend anhaltend; Mesp1 nicht, d.h. Mesp1 positive Zellen sind anreicherbar! Welches Modell könnte so ein Verhalten erklären? –und generell: Wie kann man das „**Rauschen = stochastische Genexpression**“ – Fluktuationen der Genexpression in Stammzellen erklären?

Programm: Ablauf und Arbeitsschritte jeweils 9:15 bis 10:45

- Do. 14.3. Vorstellung des Arbeitsprogrammes und des Forschungsgebietes unserer Arbeitsgruppe. → *Literaturstudium der Grundlagen bis 21.3.*
- Di. 19.3. Vorstellung der Grundlagen und kurze Einführung in die vorliegenden experimentellen Ergebnisse, die die Basis ihrer Überlegungen, Recherchen und Lösungsvorschläge sind. → *Auswahl des Themas und neue Literatursuche I.*
- Di. 21.3. Ergänzungen zu den Grundlagen und den ausgewählten Themen für jede/n Studierende/n. → *Beginn der Arbeit am eigenem Projekt.*
- Do. 11.4. Vorstellung der gewählten Themen und Abstimmung untereinander. Diskussion der Themen untereinander! → *bis Do. 18.4. Detaillierte Literatur- und Faktensuche zu den ausgewählten Themen.*
- Do. 18.4. 90 Sekunden Vorstellung des gefundenen Lösungsansatzes (Arbeitshypothese) zum ausgewählten Problem inklusive Vorstellung der relevanten und meistversprechenden neuen Literatur und Fakten. Fragen und Diskussion zu den gewählten Themen und der bereits gefundenen Lösungsansätze und Literatur. Diskussion der Themen untereinander! → *bis Do. 25.5. Endgültige Ausarbeitung der ausgewählten Themen und Erstellung einer neuen Arbeitshypothese.*
- Do. 25.4. Gemeinsame Erstellung des Vortragsprogramms. Diskussion noch offener Fragen. → *bis Do. 16.5. Fertigstellung des Lösungsansatzes = Arbeitshypothese und der Seminararbeit und der Power Point Präsentation.*
- Do. 16.5. Abgabe der Seminararbeiten und Beginn der Vorstellung des Lösungsansatzes Vorträge á 15 min mit nachfolgender Kritik und Diskussion durch alle Teilnehmer. *Anwesenheits- und Mitarbeitspflicht für alle!*
- Do. 23.5. Fortsetzung der Vorstellung des Lösungsansatzes Vorträge á 15 min. – und – Abschließende Zusammenführung und Diskussion der Arbeitshypothesen, der unterschiedlichen neuen Aspekte aus der Literatur und der erhobenen Fakten zu unseren ungelösten Problemen. *Anwesenheits- und Mitarbeitspflicht für alle! Ende der Lehrveranstaltung.*

Bei mehr als 12 Teilnehmern, auch Vorträge und abschließende Diskussion am 6.6.2024.

Ziel der Lehrveranstaltung:

A. Erstellung von testbaren, neuen und auch modifizierten **Hypothesen** und Konzepte für eine experimentelle Lösung eines der vorgestellten Probleme mit Hilfe der vorgestellten und diskutierten experimentellen Daten und der dazu passenden Primär-Literatur.

1 bis 2 seitige **Seminararbeit** mit folgenden Aufbau: Status quo – Problemstellung – Arbeitshypothese – Vorschläge zur experimentellen Überprüfung derselben – Mögliche Resultate. *Abgabe Do. 16. 5 2024. Darin muss auch enthalten sein →*

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. Do. 16. bis 23.5. (oder 6.6.) 2024.