



Cancer research: What proteins reveal about a tumor

*Basic research for practical application: The interdisciplinary team of biochemists, bioanalytical scientists and bioinformaticians at the Chair of Proteomics aims to more deeply investigate how tumors grow and how medications work and, in this way, provide ideas for new targeted cancer therapies. To achieve this, they investigate the human proteome – the entirety of proteins that the human body can produce. **KREBSFORSCHUNG: WAS PROTEINE ÜBER EINEN TUMOR VERRATEN** · Grundlagenforschung für die Praxis: Das interdisziplinäre Team aus Biochemikern, Bioanalytikern und Bioinformatikern am Lehrstuhl für Proteomik will besser verstehen, wie Tumore wachsen und wie Medikamente funktionieren und so neue Ideen für gezielte Krebstherapien liefern. Dafür untersuchen sie das menschliche Proteom – also die Gesamtheit aller Eiweiße, die der menschliche Körper bilden kann.*

Gentle ionization: Using electrospray ionization, biomolecules such as proteins can be introduced into a mass spectrometer. Typically, fragments of proteins (called peptides) that are dissolved in a liquid pass through a metal capillary that is electrically charged. This generates a fine spray of small droplets. Inside the mass spectrometer, the molecular mass, amino acid sequence and quantity of the peptides can be determined. Sanfte Ionisierung: Mittels der sogenannten Elektrospray-Ionisierung lassen sich Biomoleküle wie Proteine in Massenspektrometer einbringen. Typischerweise werden Bruchstücke von Proteinen (Peptide genannt) in flüssiger Phase durch eine elektrisch geladene Metallkapillare geleitet, wodurch ein Nebel aus kleinen Tröpfchen entsteht. Im Gerät werden dann die Molekulargewichte, Aminosäureabfolge und die Menge einer Vielzahl von Peptiden bestimmt.



A caterpillar and a butterfly contain the same genes but look completely different. This is due to the protein molecules that regulate practically all molecular processes in a cell. "Proteins are formed on the basis of genome information and have an enormous influence on what happens in a cell and on the entire organism," says Professor Bernhard Küster from the Chair of Proteomics. He and his colleagues are focusing their investigations on the medical benefits of this research field by understanding what drives tumors and how drugs actually work. They have already succeeded multiple times in predicting the efficacy of drugs based on the protein pattern of human cancer cells. "In order to understand how different tumors develop and how the individual biomolecules interact with each other, we first need to know the healthy state as comprehensively as possible," explains Küster. To achieve this, the scientists created an atlas of the human proteome that maps most of the proteins in most human tissues.

Atlas of the human proteome

This atlas was the result of collecting massive quantities of data generated at the Technical University of Munich and in the rest of the world in a publicly accessible database (www.proteomicsdb.org). Küster adds: "There, individual proteins can be selected, and background information can be displayed – for example, which amounts of the respective proteins are present at different locations in the body."



Highly sensitive measurement: A mass spectrometer records the number and abundance of different proteins in a cell as well as their molecular variations. Using these details, the scientists can analyze, e.g. a tissue sample and search for tumor-specific proteins. Hochempfindliche Messung: Ein Massenspektrometer erfasst die Zahl und Menge von Proteinen in einer Zelle und gibt Aufschluss über deren molekulare Abwandlungen. Mithilfe dieser Details können die Forscher zum Beispiel eine Gewebeprobe analysieren und nach Tumor-spezifischen Proteinen suchen.

Eine Raupe und ein Schmetterling haben die selben Gene, sehen aber komplett unterschiedlich aus. Verantwortlich dafür sind die Eiweißmoleküle in den einzelnen Zellen, die praktisch alle Lebensvorgänge regeln. „Proteine werden auf Basis der Genominformationen gebildet und haben einen enormen Einfluss auf das Geschehen in einer Zelle und auf den gesamten Organismus“, sagt Professor Bernhard Küster vom Lehrstuhl für Proteomik. Er und seine Kollegen konzentrieren sich bei ihren Untersuchungen auf den medi-

zischen Nutzen dieses Forschungsgebiets – und versuchen zu verstehen, welche grundlegenden Mechanismen das Tumorwachstum bestimmen und wie Medikamente wirklich funktionieren. So ist es ihnen bereits mehrfach gelungen, die Wirksamkeit von Medikamenten aus dem Proteinmuster menschlicher Krebszellen vorherzusagen. „Um zu verstehen, wie unterschiedliche Tumore entstehen und wie die einzelnen Biomoleküle miteinander wechselwirken, müssen wir zunächst den gesunden

Ausgangszustand sehr genau kennen“, erklärt Küster. Die Wissenschaftler erstellten dazu einen Atlas des humanen Proteoms, der den Großteil aller Proteine in den meisten Organen abbildet. Dafür sammelten die Wissenschaftler große Mengen eigener Daten sowie die Forschungsergebnisse von Kollegen in einer öffentlich zugänglichen Datenbank (www.proteomicsdb.org). Küster: „Dort lassen sich einzelne Proteine auswählen und Hintergrundinformationen dazu anzeigen – zum Beispiel, an welchen Körperstellen



19,629

The human proteome contains 19,629 different proteins. Das menschliche Proteom umfasst 19.629 verschiedene Proteine.

Source: <https://www.proteomicsdb.org/>



Complex data: For proteomic research on human tumors, the doctoral students and staff scientists have to apply a lot of care in sample preparation (right; Jana Zecha, Dr. Stephanie Heinzlmeir) so that the subsequent mass spectrometric analysis performed here by Yun-Chien Chang and Florian Bayer (left) can generate high-quality data. Bioinformatics and machine learning algorithms are then used to derive relevant information from the raw data and make useful predictions. Die Forschung an humanen Tumoren verlangt von den Doktoranden und wissenschaftlichen Mitarbeitern große Sorgfalt bei der Vorbereitung der Proben (rechts; Jana Zecha, Dr. Stephanie Heinzlmeir) damit die nachfolgende massenspektrometrische Analyse (links; durchgeführt von Yun-Chien Chang und Florian Bayer) hochqualitative Daten erzeugen kann. Mittels Bioinformatik und maschinellen Lernens lassen sich dann relevante Informationen aus den Rohdaten ableiten und nützliche Vorhersagemodelle entwickeln.

Yet Küster and his team aim for more. “We want to identify the disease triggers for every single patient – and then find the appropriate medication,” says the biochemist. However, there is often more than one cause. With cancer in particular, it is usually a combination of many genetic mutations that pathologically alter proteins, and these differ from patient to patient.

The long-term goal of the protein specialists is personalized cancer therapy. This type of treatment is already possible for selected tumors. Breast cancer is one prime example. There are special forms of this disease that are already treated. The medicines attack cancer cells that are driven by a particular protein. Using drugs against this protein, cancer cells can be destroyed in a highly targeted manner. This is a major difference from conventional chemotherapies that have less targeted effects. The cytostatic drugs used in chemotherapy destroy all cells that are actively dividing; thus, not only the tumor cells are destroyed. Common side effects are hair loss, nausea and immune deficiencies. “With our analyses, we want to make a contribution to new, targeted, effective cancer therapies with reduced side effects,” says Küster.

To achieve their goals, the researchers rely on a high-throughput process. Küster’s team produces the majority



welche Mengen des jeweiligen Proteins vorhanden sind.“

Doch Küster und sein Team wollen mehr: „Wir wollen die Krankheitsauslöser bei jedem einzelnen Patienten identifizieren – und dann das dazu passende Medikament finden“, sagt der Biochemiker. Allerdings gibt es häufig nicht nur eine Ursache. Gerade bei Krebs ist es meist eine Kombination aus vielen genetischen Fehlern, die Eiweiße krankhaft verändern und die von Patient zu Patient verschieden sind.

Das langfristige Ziel der Proteinspezialisten ist die personalisierte Krebstherapie. Aktuell ist das bei ausgewählten Tumoren schon möglich. Beispiel Brustkrebs: Hier gibt es spezielle Formen, die heute schon

Individuelle Therapien für Krebspatienten

mit Medikamenten behandelt werden können, die die Krebszellen auf Ebene eines bestimmten Proteins, welches das Tumorwachstum antreibt, angreifen. So lassen sich die Zellen hochspezifisch zerstören. Das ist ein großer Unterschied etwa zu den gängigen Chemotherapien, die weniger zielgerichtet wirken. Die Zytostatika, also Zellgifte, einer Chemotherapie zerstören alle besonders teilungsaktiven Zellen – und treffen damit nicht nur die Tumorzellen. Häufige Nebenwirkungen sind daher Haarausfall, Übelkeit und Immunschwächen. „Wir möchten mit unseren Analysen einen Beitrag für neue, zielgerichtete, effektive und nebenwirkungsarme Krebstherapien leisten“, sagt Küster.



Teamwork: Many biological parameters have to be considered in order to understand cancer. Professor Bernhard Küster (center) and his chair therefore bring together molecular biologists, chemists, biochemists, analytical scientists and computer scientists to form interdisciplinary project teams. Teamwork: Damit man Krebserkrankungen wirklich verstehen kann, müssen viele Aspekte bedacht werden. Am Lehrstuhl von Prof. Bernhard Küster (Mitte) finden sich daher Molekularbiologen, Chemiker, Biochemiker, Analytiker und Informatiker zu interdisziplinären Projektteams zusammen.

of the data using a technique called mass spectrometry. With this method, proteins are first broken into smaller fragments, known as peptides. The molecular mass, amino acid sequences and

From molecules to clinical therapy

signal strengths can thus be determined for each peptide. From this data, the researchers can then determine which proteins are present in a sample and in what quantities. Mass spectrometers generate extremely complex data sets because they capture all proteins within a cell. "The amount of data is not extremely large. We are still in the terabyte range," says Küster. Dr. Mathias Wilhelm, junior group leader in Küster's group further explains, "But analyzing this data and

deriving the important information is very complex. Machine learning does help us here. For example, today, it is possible to predict mass spectra from peptide sequences alone. These predictions make the interpretation of complex data that is generated much easier."

From the molecules that trigger cancer through to clinical therapy, the protein researchers consider all aspects of the disease. "In so-called molecular tumor boards, we work closely with oncologists and discuss particularly difficult cancer cases," says Dr. Stephanie Heinzlmeir, also a member of Küster's team. The clinicians benefit not only from the knowledge of the cancer-causing processes, but also from the second research focus of the Proteomics Chair: the precise analysis of which proteins respond to approved cancer drugs. Küster adds,



Dafür setzen sie auf molekulare Hochdurchsatzverfahren. Den Großteil der Daten produziert Küsters Forscherteam mithilfe der sogenannten Massenspektrometrie. Bei diesem Verfahren werden die Proteine zunächst in kleinere Bruchstücke zerlegt sowie deren Molekulargewichte, Aminosäureabfolgen und Signalstärken bestimmt. Daraus können die Forscher letztlich ermitteln, welche Proteine eine Probe in welcher Menge enthält.

Massenspektrometer erzeugen sehr komplexe Datensätze, da sie die Gesamtheit aller Proteine in einer Zelle erfassen. „Die Datenmenge ist nicht extrem groß. Wir bewegen uns noch im Terabyte-Bereich“, sagt Küster. „Aber die Daten zu analysieren und daraus die wichtigsten Informationen abzuleiten, ist sehr komplex. Hier hilft uns auch maschinelles Lernen. Damit ist es heute beispielsweise möglich, aus der Peptidsequenz das zugehörige Massenspektrum vorherzusagen“, erklärt Dr. Mathias Wilhelm, Gruppenleiter für Bioinformatik an Küsters Lehrstuhl. „Diese Vorhersagen erleichtern die Interpretation der komplexen Daten enorm.“

Die Proteinforscher betrachten Krebs von den auslösenden Molekülen bis zur Therapie in der Klinik. „In sogenannten molekularen Tumorboards arbeiten wir eng mit Onkologen zusammen und diskutieren

Patient-based research: Using cryo-preserved cancer cells from patients, scientists are investigating the exact mode of action of medicines and developing new ideas for future cancer therapy. Patientennahe Forschung: An kältekonservierten Krebszellen von Patienten erforschen die Wissenschaftler die genaue Wirkungsweise von Medikamenten und entwickeln neue Ideen für die Krebstherapie der Zukunft.



”

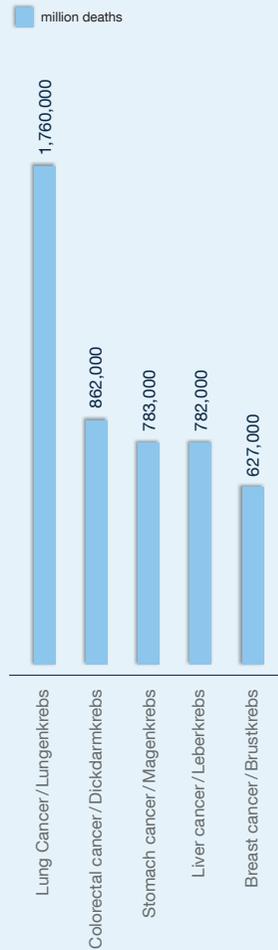
**We are working on the medicines of the future.
Wir arbeiten an der Medizin von übermorgen.**

Professor Bernhard Küster,
Proteomics

“We are constantly discovering new potential effects of approved cancer drugs, thus expanding their therapeutic applications.” He is convinced that this strategy will become the standard in the long term. “First we will analyze the molecular characteristics of a cancer patient’s tumor and then we will have the best available drug at hand.”

besonders schwierige Krebsfälle“, sagt Dr. Stephanie Heinzlmeir, ebenfalls wissenschaftliche Mitarbeiterin des Lehrstuhls. Dabei profitieren die Kliniker nicht nur von dem Wissen über die krebsauslösenden Prozesse, sondern auch vom zweiten Forschungsschwerpunkt des Proteomik-Lehrstuhls: der genauen Analyse, welche Proteine auf zugelassene Krebsmedikamente ansprechen. Küster: „Wir entdecken immer wieder neue nützliche Effekte von zugelassenen Krebsmedikamenten und erweitern so den ‚Therapie-Baukasten‘.“ Er ist überzeugt, dass diese Strategie langfristig zum Standard wird: „Dann analysieren wir bei einem Krebspatienten zunächst, welche molekularen Charakteristika sein Tumor aufweist und haben hiernach passend dazu den besten Wirkstoff parat.“

The deadliest cancers



After cardiovascular diseases, cancer is the second leading cause of death worldwide. In 2018, an estimated 9.6 million people died of cancer. Krebs ist nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache weltweit. Die Zahl der Krebstoten lag im Jahr 2018 bei geschätzten 9,6 Millionen Menschen.

Source: WHO

Targeting protein molecules: Tiny structural features of a protein can be decisive for the efficacy and selectivity of a drug. Researchers at the TUM School of Life Sciences are looking for these details to understand how drugs interact with proteins. Eiweißmoleküle im Visier: Winzige Struktureigenschaften eines Proteins können ausschlaggebend für die Wirksamkeit und Selektivität eines Medikaments sein. Forscher der TUM School of Life Sciences suchen nach diesen Details, um zu verstehen, wie Medikamente mit Proteinen interagieren.

