

Aus der Forschung der Max-Planck-Gesellschaft

Research insights from the Max Planck Society

Seite **54**
LESEPROBEN
aus dem Jahrbuch

FORSCHUNGSAUSBLICK

Seite **58**
Johannes Krause
Die genetische Herkunft der Europäer:
Biologische Anpassung und Mobilität in
der Vorgeschichte.

Seite **68**
Volker Mailänder und Katharina Landfester
Wirkstofftransporter für die Nanomedizin

Seite **77**
Matthias Mann
Proteomik: Von der Grundlagentechnologie
zum universellen Diagnose-Tool

Seite **86**
TECHNOLOGIETRANSFER

Page **54**
EXTRACTS
from the Yearbook

RESEARCH OUTLOOK

Page **63**
Johannes Krause
The genetic history of Europe:
biological adaptation and mobility
in prehistory

Page **73**
Volker Mailänder and Katharina Landfester
Drug delivery in nanomedicine

Page **82**
Matthias Mann
Proteomics: From basic technology to
universal diagnostic tool

Page **86**
TECHNOLOGIETRANSFER

Leseproben

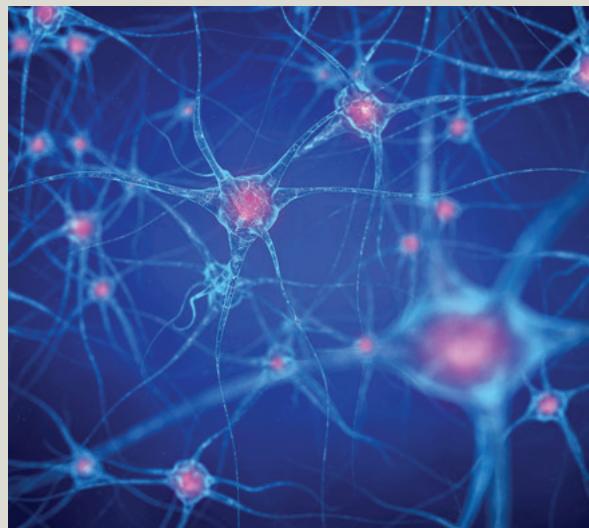
aus dem Jahrbuch der Max-Planck-Gesellschaft

Extracts

from the Yearbook of the Max Planck Society

Das Jahrbuch der Max-Planck-Gesellschaft dient der wissenschaftlichen Rechenschaftslegung. Je nach Größe des Instituts werden ein oder mehrere Artikel über die Forschung am Institut vorgelegt. Am Ende sind es mehr als 110 Berichte über die an den Max-Planck-Instituten geleisteten Forschungsarbeiten, die das Jahrbuch bündelt. Eine kleine Auswahl von Jahrbuch-Beiträgen wird im Folgenden in Form von Kurzmeltdungen vorgestellt. Sie sollen das Interesse wecken, im Internet weiter zu stöbern beziehungsweise die vollständigen Beiträge nachzulesen unter www.mpg.de/166008/jahrbuecher.

The Max Planck Society's Yearbook serves the purpose of scientific reporting. Depending on its size, an Institute submits one or two articles on its research activities. In total, the yearbook contains more than 110 reports about the research carried out at the Max Planck Institutes. A small selection of contributions from the Yearbook is presented below in the form of synopses which should stir the reader's interest to browse for more information online or to read the entire contributions at <https://www.mpg.de/yearbooks>



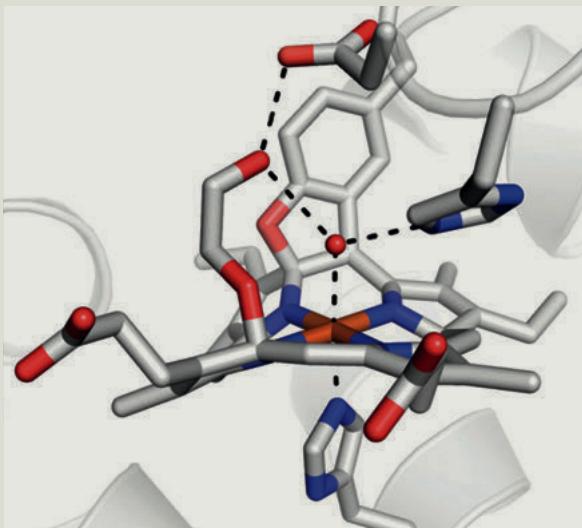
© FOTOLIA

WIRKSTOFF GEGEN PARKINSON

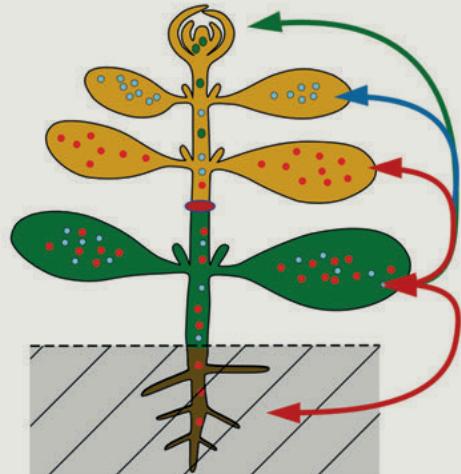
Neurodegenerative Krankheiten wie Alzheimer oder Parkinson gehen mit Proteinklumpen einher, die sich in den Nervenzellen ablagern und stark toxisch wirken. Die betroffene Zelle büßt ihre Funktion ein und geht zugrunde. Im Fall der Parkinson-Erkrankung verklumpt das Protein α -Synuclein zu Lewy-Körperchen. Die Krankheit ist bislang nicht heilbar. Forscher suchen daher seit langem nach Therapien, die nicht nur auf die Symptome abzielen, sondern die Ursachen bekämpfen. Ein Team um Christian Griesinger am MPI für biophysikalische Chemie hat in Kooperation mit dem Team von Armin Giese an der LMU eine Substanz entdeckt, die direkt am Protein ansetzt und die Verklumpung hemmt. Der oral verfügbare Wirkstoff namens anle138b erwies sich im Mäuseversuch als vielsprechend: An Parkinson erkrankte Nager, die damit behandelt wurden, schnitten in Bewegungsexperimenten deutlich besser ab als ihre unbehandelten Artgenossen. Ab 2017 soll das Präparat in einer Phase-1-Studie am Menschen getestet werden.

ACTIVE AGENT TO COMBAT PARKINSON'S

Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's or Parkinson's are associated with protein clumps that are deposited in nerve cells with heavily toxic effects. The affected cell loses its function and dies. In the case of Parkinson's, the protein α -synuclein clumps to form Lewy bodies. The disease has so far proved incurable. Researchers have therefore long been searching for therapies that not only target the symptoms but also combat the causes. A team working with Christian Griesinger at the MPI for Biophysical Chemistry in collaboration with Armin Giese's team at the LMU has discovered a substance which targets the protein directly and prevents clumping. The active agent by the name of anle138b proved very promising in tests on mice: rodents suffering from Parkinson's which were treated with it, scored significantly better in mobility experiments than their fellow untreated mice. The drug is to be tested on humans in a Phase 1 study from 2017.



© MPI FÜR MEDIZINISCHE FORSCHUNG | BAREND



© MPI FÜR MOLEKULARE PFLANZENPHYSIOLOGIE | KRAGLER

RAKETENTREIBSTOFF IN BAKTERIEN

Ob als Bestandteil von Proteinen oder der Erbsubstanz – ohne Stickstoff gäbe es kein Leben. Im Stickstoffkreislauf wird das Element ständig umgewandelt und zwischen organischer Materie und Atmosphäre ausgetauscht. Einer der wichtigsten chemischen Schritte in diesem Kreislauf wurde erst in den 1990er-Jahren entdeckt: der Anammox-Prozess. Bestimmte Bakterien nutzen ihn, um aus Ammoniak und Nitrit molekularen Stickstoff herzustellen. Als Zwischenprodukt entsteht Hydrazin, eine extrem reaktionsfreudige Verbindung, die auch als Raketentreibstoff dient. Wie die Mikroben mit derbrisanten Fracht umgehen beschäftigt Thomas Barends und seine Kollegen am MPI für medizinische Forschung. Im Fokus der Forscher steht das Enzym Hydrazinsynthase, das aus Ammoniak und Stickstoffmonoxid Hydrazin herstellt. Es besteht aus zwei aktiven Zentren, die über ein Tunnelsystem verbunden sind. Damit gleicht es einer Fabrik im Miniaturformat – inklusive Reaktionsgefäß und Chemikalienleitungen.

ROCKET FUEL IN BACTERIA

Whether as a component of proteins or genetic material – without nitrogen there would be no life as we know it. In the nitrogen cycle, the element is constantly converted as it circulates between organic material and the atmosphere. One of the most important chemical steps in this cycle was only discovered in the 1990s: the anammox process. Certain bacteria use it to make molecular nitrogen from ammonia and nitrite. Hydrazine is created as an intermediate product, and this is an extremely reactive compound that also serves as rocket fuel. Thomas Barends and his colleagues at the MPI for Medical Research are looking at how the microbes deal with their explosive cargo. The researchers are focusing on the enzyme hydrazine synthase which makes hydrazine from ammonia and nitrogen monoxide. It consists of two active centres connected by a system of tunnels. In this it resembles a miniature factory – complete with reaction vessels and chemical pipelines.

GENTECHNIK AN DIE WURZEL GEPACKT

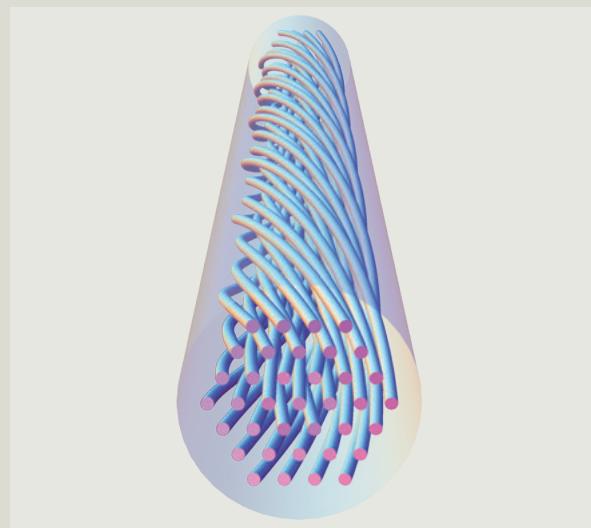
Woher weiß eine Pflanze, wann sie etwa Früchte bilden soll? Um dies zu steuern, müssen unterschiedliche Pflanzenteile miteinander kommunizieren. Eine wichtige Rolle dabei spielen mobile Messenger-Ribonukleinsäuren (mRNAs). Diese kleinen Signalmoleküle werden über die Leitbündel transportiert und an ihrem Zielort in Proteine übersetzt. Mehr als 2000 individuelle mRNAs haben Forscher bereits entdeckt. Friedrich Kragler und sein Team am MPI für molekulare Pflanzenphysiologie versuchen, die Signale zu entschlüsseln – entscheidend auch für die Pflanzenzucht: Viele Früchte, die wir essen, stammen von veredelten Pflanzen. Dabei werden die Früchte tragenden Teile einer bestimmten Sorte auf einen genotypisch andersartigen Wurzelstock gepfropft, um etwa den Ertrag zu steigern. Eine transgen veränderte Wurzel kann somit mRNA-Botschaften an eine nicht-transgene Blüte senden. So ließen sich die Pflanzen hochspezifisch modifizieren, ohne gentechnisch veränderte Früchte zu produzieren.

GETTING TO THE ROOTS OF GENETIC ENGINEERING

How does a plant know when to form fruit, for example? Different parts of the plant have to communicate with each other in order to control these developments. Mobile messenger Ribonucleic Acids (mRNAs) play an important role in this process. These small signal molecules are transported via vascular bundles and converted to proteins at their destination. Researchers have already discovered more than 2000 individual mRNAs. Friedrich Kragler and his team at the MPI for Molecular Plant Physiology are trying to decode the signals – of crucial importance also for plant breeding. Many fruits that we eat, come from grafted plants. In the process, the fruit-bearing parts of a particular variety are grafted onto a genetically different rootstock, for example to improve the yield. A transgenically modified root can therefore send mRNA messages to a non-transgenic bloom. This opens up the opportunity to modify plants highly specifically without producing genetically modified fruit in the process.



© RICARDO RAMIREZ UND JAMES JENKINS



© SCIENCE 2016/MPI FÜR DIE PHYSIK DES LICHTS

PLANET BEI PROXIMA CENTAURI ENTDECKT

Proxima Centauri ist mit einer Entfernung von vier Lichtjahren der sonnennächste Stern. Mitte 2016 haben Astronomen, zu denen auch Martin Kürster vom Heidelberger MPI für Astronomie gehört, einen Planeten entdeckt, der Proxima Centauri alle 11,2 Tage in einem Abstand von sieben Millionen Kilometern umläuft. Der Planet, der etwa 1,3 Erdmassen schwer ist, befindet sich in einer Zone, in der es möglicherweise flüssiges Wasser und, bei Vorhandensein einer geeigneten Atmosphäre, die richtigen Bedingungen für Leben geben könnte. Allerdings gibt es zwei Einflüsse, die die Entstehung von Leben auf diesem Planeten vermutlich erschweren: Wahrscheinlich wendet der Planet seiner Sonne immer die gleiche Seite zu, so dass auf der einen Seite ewiger Tag, auf der anderen ewige Nacht herrscht. Außerdem ist Proxima Centauri ein sehr aktiver Stern: Er erzeugt zeitweise hochenergetische Strahlung, die den Planeten trifft – auch das eher ungünstige Voraussetzungen für Leben.

PLANET DISCOVERED NEAR PROXIMA CENTAURI

At a distance of four light years, Proxima Centauri is the nearest star to the sun. Mid-2016, some astronomers including Martin Kürster from the MPI for Astronomy in Heidelberg, discovered a planet which orbits Proxima Centauri every 11.2 days at a distance of seven million kilometres. The planet that is roughly 1.3 times more massive than Earth, is in a zone in which there could be liquid water and the right conditions for life if there is a suitable atmosphere. There are two factors, however, which will probably make it hard for life to evolve on this planet. It is likely that the planet always keeps the same side facing its sun with the result that one side has permanent daylight and the other everlasting night. Proxima Centauri is also a very active star: from time to time, it emits high-energy radiation that strikes the planet — this too creating somewhat unfavourable conditions for life.

NEUER MECHANISMUS DER LICHTLEITUNG

Wissenschaftlern um Philip Russell, Direktor am MPI für die Physik des Lichts in Erlangen, ist es das erste Mal gelungen, Licht durch eine kernlose Faser zu leiten. Glasfasern enthalten normalerweise einen lichtleitenden Kern, dessen Glas einen höheren Brechungsindex hat als das Glas der äußeren Hülle. Dadurch wird das Licht an der Hülle reflektiert und im Kern gehalten. Die Wissenschaftler erforschen photonische Kristallfasern, eine spezielle Art von Glasfasern, die regelmäßige Hohlräume aufweisen. Verdreht man diese Fasern entlang ihrer Längsachse, ist das Licht gezwungen, sich auf einer schraubenförmigen Bahn auszubreiten. Zur Überraschung der Wissenschaftler zeigte sich, dass durch das Verdrehen auch kernlose photonische Kristallfasern in der Lage sind, Licht robust zu leiten. Die Wissenschaftler zeigten ebenfalls, dass es eine enge Verbindung zwischen dem Leitungsmechanismus und der Krümmung eines Raumes durch eine Masse in Einsteins Allgemeiner Relativitätstheorie gibt.

LIGHT ON A TORTUOUS PATH

Scientists working with Philip Russell, Director at the MPI for the Science of Light in Erlangen, have succeeded for the first time in guiding light through a coreless fibre. Glass fibres act like „pipes“ for light: normally they contain a light-guiding core whose glass has a higher refractive index than that of the outer shell. As a result, the light is reflected by the shell and trapped in the core. The Max Planck researchers have been studying photonic crystal fibres for a number of years, a special kind of glass fibre which has a regular pattern of hollow channels. If these fibres are helically twisted, the light is forced to follow a spiral path. To the scientists' surprise, it turned out that as a result of the twisting, coreless photonic crystal fibres are also able to channel light very well. The scientists also showed that there is a close connection between the mechanism by which the light is guided and the curvature of space due to mass in Einstein's General Theory of Relativity.



© ISTOCK



© ANNE PETERS

STEUEROASEN UNTER DRUCK

Die Bekämpfung von Steueroasen ist seit Jahren auf der Tagesordnung der OECD und der G-20-Länder. Der Kampf gegen die Steuerflucht gestaltet sich allerdings schwierig. Der Finanzwissenschaftler Kai Konrad und sein Doktorand Tim Stolper vom MPI für Steuerrecht und Öffentliche Finanzen haben die Rolle der Erwartungen der Anleger untersucht. Sie zeigen, dass mehrere Gleichgewichte unterschiedlicher Erwartungen existieren, die maßgeblich über den Fortbestand einer Steueroase bestimmen. Mithilfe eines Ansatzes aus der angewandten Spieltheorie leiten Konrad und Stolper eine eindeutige Gleichgewichtsprognose ab, deren wirtschaftspolitische Implikationen die Anreize für die individuellen Steuerzahler in den Vordergrund rücken. So hängt die Wirksamkeit des internationalen Drucks beispielsweise sehr davon ab, wie hoch die Gebühren für die Vermögensverwaltung in der Steueroase sind. Der Druck ist besonders wirksam, wenn die Gebühren sehr niedrig oder sehr hoch sind.

TAX HAVENS UNDER PRESSURE

Combating tax havens has been on the OECD's agenda and that of the G20 countries for many years. The fight against tax evasion is proving difficult. The economist Kai Konrad and his doctoral student Tim Stolper from the MPI for Tax Law and Public Finances have examined the role the expectations of investors play in a new study. They show that there are several different expectations of equal weight that represent the determining factors behind the survival of a tax haven. With the aid of an approach used in applied game theory, Konrad and Stolper have derived a clear equilibrium forecast, the economic implications of which focus on the incentives for individual tax-payers. For example, the effectiveness of international pressure depends to a large extent on how high the fees for asset management in the tax haven are. The pressure is particularly effective when the fees are very low or very high.

GLOBALE TIERRECHTSWISSENSCHAFT

Tierschutz durch Recht hat in Europa einen hohen Stellenwert. Das Tierwohl wurde im Recht der Europäischen Union in den vergangenen Jahren aufgewertet und Tierschutz 2002 als Staatsziel in das deutsche Grundgesetz aufgenommen. Auch heben immer mehr Staaten die Gleichsetzung von Tieren und Sachen im Recht auf. Über das Tierschutzrecht hinaus geht es Rechtswissenschaftlern nun darum, ein neues Rechtsgebiet des „Globalen Tierrechts“ abzustecken und auszufüllen. Anne Peters und ihre Mitarbeiterin Saskia Stucki vom MPI für Völkerrecht in Heidelberg verfolgen die Forschungsagenda einer globalen Tierrechtswissenschaft. Rechtswissenschaft wird hier als eine gesellschaftsbezogene Wissenschaft verstanden, die zur Bekämpfung sozialer Missstände beitragen soll. Da Tierproduktion und Tierhandel meistens transnational sind, muss hierauf mit globalem Recht reagiert werden, also mit einer Kombination von internationalem und nationalem Recht.

GLOBAL ANIMAL LAW

The protection of animals by law enjoys a high status in Europe. Animal welfare has been upgraded in European Union law in the last few years, and the protection of animals was included in Germany's Basic Law as a state objective in 2002. More and more countries have also ceased to equate animals with objects in their law. The challenge facing legal scholars now is to define a new legal field of „Global Animal Law“, extending beyond animal welfare law, and to give it substance. Anne Peters and her employee Saskia Stucki from the MPI for International Law in Heidelberg are pursuing the research agenda of a global animal law jurisprudence. Jurisprudence here is understood as a science in relation to society the purpose of which is to contribute to the fight against social ills. As animal production and the trade in animals are usually transnational, the response to them must come from global law, in other words a combination of international and national law.

JOHANNES KRAUSE
MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR MENSCHHEITSGESCHICHTE, JENA

Die genetische Herkunft der Europäer: Biologische Anpassung und Mobilität in der Vorgeschichte



Die genetische Forschung hat im vergangenen Jahrzehnt eine wahre Revolution erlebt. Mit der Entwicklung hochmoderner Technologien zur DNA-Sequenzierung gelang es, die Leistungsfähigkeit und Effizienz genomischer Untersuchungen in nur wenigen Jahren um den Faktor zehn Millionen zu steigern. In wenigen Stunden und für wenige hundert Euro können wir heute komplette menschliche Genome mit ihren Milliarden von Basenpaaren entschlüsseln. Wir leben in einer Art „Sequenzierzeitalter“. Zehntausende Genome von Menschen aus der ganzen Welt wurden bereits entschlüsselt – und täglich kommen neue hinzu.

Der Reiz und die Hoffnung dieser massiven genetischen Forschung besteht darin, Antworten auf große Fragen der Menschheit zu finden: Wie hat sich der Mensch entwickelt und woher kommt er? Welche Rolle spielen Gene für die Entwicklung und Ausbreitung von Krankheiten? Welche genetisch bedingten Gemeinsamkeiten und Unterschiede gibt es zwischen menschlichen Populationen? So hat die Genetik, entgegen ihrer fatalen Assoziation mit rassistischen und kolonialistischen Regimes im 19. und 20. Jahrhundert die Erkenntnis geliefert, dass der Großteil der genetischen Vielfalt nicht zwischen, sondern innerhalb einzelner menschlicher Populationen existiert: Mehr als 80 Prozent aller genetischen Unterschiede in der DNA-Sequenz von Menschen, die als Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) bezeichnet werden, treten innerhalb ein und derselben menschlichen Population auf, wie zum Beispiel Europäern oder Asiaten. Mit anderen Worten: Um den Großteil der genetischen Vielfalt der Menschen außerhalb Afrikas zu erfassen, ist es nicht notwendig, geografisch möglichst weit voneinander entfernte Individuen zu untersuchen, sondern es genügt, ein paar Hundert Thüringer oder Rheinländer genetisch zu vergleichen.

Eine weitere wichtige Erkenntnis populationsgenetischer Forschung ist, dass Afrikaner eine höhere genetische Vielfalt aufweisen, als die Populationen außerhalb Afrikas. Dieser Befund wird als Beweis für den Ursprung des modernen Menschen in Afrika interpretiert. Auch wenn man mit Hilfe der Erbsubstanz Stammbäume rekonstruiert, wird dies deutlich. In diesen Stammbäumen stellen sich die Menschen außerhalb Afrikas nur als ein kleiner Zweig innerhalb der afrikanischen Diversität dar oder anders gesagt: Genetisch gesehen sind alle Menschen dieser Erde Afrikaner!

MUTATIONEN ALS TREIBSTOFF DER EVOLUTION

Genetische Analysen erlauben auch evolutionäre Abspaltungen menschlicher Populationen zeitlich einzuordnen. Dazu kalibriert man die sogenannte molekulare Uhr. Dabei geht man davon aus, dass die Rate an genetischen Veränderungen immer ungefähr gleich hoch ist und dass jeder Mensch in etwa 100 Basenveränderungen (Mutationen) in sich trägt, die in der Keimbahn beider Eltern neu entstanden sind und damit nicht Teil der elterlichen DNA waren. Umgerechnet auf ein einzelnes Genom (jeder Mensch hat zwei, eines von der Mutter und eines vom Vater) ergibt sich eine Mutationsrate des Menschen von circa 50 Veränderungen pro Generation. Anhand der genetischen Unterschiede zwischen zwei Populationen und der durchschnittlichen Generationendauer (25–30 Jahre) lässt sich dann berechnen, wann sich diese Populationen voneinander getrennt haben. Betrachtet man beispielsweise die genetischen Unterschiede zwischen Afrikanern und Nicht-Afrikanern errechnet sich eine Abspaltung vor etwa 2 000 bis 2 500 Generationen, was einer Zeitspanne von rund 50 000 bis 60 000 Jahren entspricht. Diese Berechnung steht im Einklang mit archäologischen und paläoanthropologischen Befunden, die darauf hinweisen, dass vor etwa 42 000

Jahren die ersten modernen Menschen nach Europa einwanderten und den dort ansässigen Neandertaler verdrängten. Ähnliche Berechnungen lassen sich für Populationsaufspaltungen zwischen Asiaten und den Ureinwohnern Australiens oder Amerikas durchführen.

Oft werden für solche Berechnungen Verschiebungen in der Frequenz häufig vorkommender Genveränderungen verwendet, zum Beispiel SNPs. Die Häufigkeit dieser SNPs in menschlichen Populationen verändert sich im Laufe der Zeit. Solche Veränderungen können „gerichtet“ sein, wenn etwa eine bestimmte genetische Variante zu einem biologischen Vorteil führt, wie beispielsweise die Fähigkeit, als Erwachsener Milch zu verdauen und so die Versorgung mit Nährstoffen zu verbessern. Eine solche gerichtete Verschiebung wird auch als positive Selektion bezeichnet. Ebenso kann das Gegenteil, eine negative Selektion, auftreten, wenn eine bestimmte genetische Veränderung mit biologischen Nachteilen verbunden ist. Eine solche Veränderung würde im Laufe der Zeit negativ selektiert und wahrscheinlich nach wenigen Generationen wieder verschwinden.

Der Großteil der genetischen Unterschiede zwischen menschlichen Populationen verhält sich jedoch neutral und führt nicht zu einer Selektion. Das heißt, sie ist „ungerichtet“. Je länger Populationen geographisch voneinander isoliert leben, also keine Gene miteinander austauschen, desto mehr Unterschiede in der Frequenz dieser SNPs sammeln sich an. Dieser Prozess wird als genetische Drift bezeichnet. Geographisch benachbarte Populationen oder Populationen, die sich erst kürzlich voneinander getrennt haben, weisen dementsprechend weniger Frequenzunterschiede auf. Es besteht also ein enger Zusammenhang zwischen menschlicher Genetik und geographischer Herkunft.

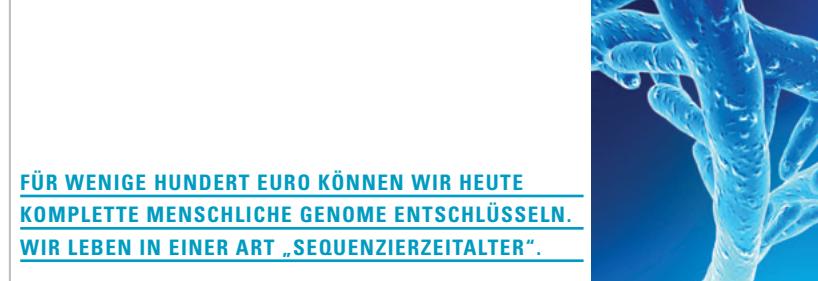
Eine Studie von John Novembre und Kollegen aus dem Jahre 2008 konnte diesen Zusammenhang eindrucksvoll darlegen. Der Forschungsgruppe gelang es, allein anhand der genetischen Unterschiede zwischen heutigen Einwohnern, die nicht weiter als 200 Kilometer vom Wohnort ihrer Großeltern entfernt leben, annähernd die Europakarte zu reproduzieren. Damit wurde deutlich, dass aus den genetischen Daten eines Menschen die geographische Herkunft seiner Vorfahren abgelesen werden kann. Bemerkenswert ist darüber hinaus, dass die Studie für Europa einen genetischen Gradienten aufzeigt, also eine kontinuierliche genetische Veränderung, die sich keineswegs mit den existierenden National- oder Sprachgrenzen deckt. Genetisch betrachtet sind Ländergrenzen unhaltbar, und der für das Festland charakteristische Gradient

belegt, dass benachbarte europäische Populationen im Laufe ihrer Geschichte immer auch Gene ausgetauscht haben. Hingegen macht sich geographische Isolation, wie die Insellage Sardiniens, genetisch deutlich bemerkbar: Die Sarden stellen eine vom italienischen Festland abgegrenzte genetische Population dar.

MOLEKULARE ZEITREISEN

Archäogenetik ist ein Begriff, der in den 1990er Jahren geprägt wurde. Er steht für die Gewinnung und Analyse genetischen Materials aus archäologischen Funden. Die Revolution in der Sequenziertechnologie führte auch hier zu neuen spektakulären Erkenntnissen. Bereits im Jahr 2008 gelang es erstmals, das vollständige Genom eines ausgestorbenen Mammuts zu entschlüsseln. Die Rekonstruktion der Genome eines 4 000 Jahre alten Paläo-Eskimos sowie des ausgestorbenen Neandertalers zwei Jahre später stellten weitere Meilensteine in der Erforschung ausgestorbener Populationen dar. Noch im selben Jahr 2010 konnte sogar eine bis dahin unbekannte Menschenform, der Denisova-Mensch, allein aufgrund der genetischen Untersuchung eines kleinen Fingerknochens nachgewiesen und sein Genom entschlüsselt werden. Mittlerweile konnte bis zu 500 000 Jahre alte Erbsubstanz aus menschlichen Knochen gewonnen werden.

**FÜR WENIGE HUNDERT EURO KÖNNEN WIR HEUTE
KOMPLETTE MENSCHLICHE GENOME ENTSLÜSSELN.
WIR LEBEN IN EINER ART „SEQUENZERZEITALTER“.**



Während die Untersuchung von genetisch im Austausch stehenden eng verwandten heutigen Populationen nur begrenzt Rückschlüsse auf deren Vorgeschichte zulässt, eröffnet der Vergleich heutiger mit alter DNA neue Einblicke in die Menschheitsgeschichte. Der Rückgriff auf genomweite Daten aus der Vergangenheit macht es möglich, größere Verschiebungen in der genetischen Struktur menschlicher Populationen über längere Zeiträume aufzuzeigen. Er kann zudem wertvolle Einblicke in epochale Populationsumbrüche und Veränderungen in der Mobilität liefern, ebenso in die Ausbreitung einzelner Gruppen in der Vorgeschichte. Die Analyse alter Erbsubstanz ermöglicht es, Hypothesen aus Archäologie und Geschichts-

forschung zu testen und zu beleuchten, inwieweit kultureller Wandel mit veränderter Mobilität, mit Einwanderung und den daraus resultierenden Genflüssen korreliert.

DIE SESSHAFTWERDUNG DES MENSCHEN

Eine der wohl wichtigsten Fragen im Hinblick auf die Frühgeschichte Europas lautete lange Zeit, ob der Übergang von Jägern und Sammlern zu Ackerbauern vor rund 7 500 Jahren auch mit einem Bevölkerungswechsel einherging. Zwei Hypothesen standen sich gegenüber: Nach der ersten war die sogenannte Neolithische Revolution eine reine Verbreitung von Kultur und Wissen, welche von Region zu Region weitergegeben wurden, ohne dass die Menschen selbst wanderten. Die andere Hypothese nahm an, dass der Beginn des Ackerbaus in Europa auf eine Einwanderung von Menschen aus dem Nahen Osten zurückzuführen ist. Genauer aus der Region des sogenannten Fruchtbaren Halbmonds, wo die ältesten Spuren von Ackerbau gefunden wurden.

Populationen, ebenso wenig über deren biologischen Beitrag zu den heutigen Europäern. In einer wegweisenden Studie gelang es im Jahr 2014 erstmals, die vollständigen Genome von einem Dutzend später Jäger und Sammler, die vor etwa 8 000 Jahren gelebt hatten, und früher Ackerbauern in Europa aus der Zeit vor 7 200 bis 5 400 Jahren zu entschlüsseln und miteinander zu vergleichen. Dabei stellte sich einerseits heraus, dass sich auch die Zellkern-DNA, also das Genom beider Gruppen stark voneinander unterscheidet. Andererseits wurde sichtbar, dass die frühen Ackerbauern genetisch eine größere Ähnlichkeit mit heutigen Einwohnern des Nahen Ostens aufweisen als mit europäischen Jägern und Sammlern. Damit konnte die Einwanderungstheorie der frühen Ackerbauern aus dem Fruchtbaren Halbmond auch genomweit bestätigt werden.

Die Studie brachte weitere bahnbrechende Erkenntnisse über die Herkunft und Entwicklungsgeschichte der Europäer: Alle heutigen Europäer tragen nicht nur die genetischen Spuren der Ur-Europäer in sich und sind damit eine genetische Mischung aus frühen Ackerbauern sowie Jägern und Sammlern, sondern sie sind offenbar noch durch eine dritte Population geprägt worden, die aus Nordeurasien zu stammen scheint. Diese dritte genetische Komponente ist bei allen heutigen Europäern zu finden, jedoch weder bei den untersuchten Jägern und Sammlern noch bei den frühen Ackerbauern. Damit ist sie ein eindeutiger Hinweis auf eine weitere spätere Einwanderungswelle.

Drei weitere im Jahr 2015 publizierte Studien untersuchten die Genome von insgesamt 230 prähistorischen Individuen aus Westeurasien. Diese lebten vor 8 000 bis 3 000 Jahren und ihr Erbgut belegt den großen genetischen Unterschied zwischen den frühen Ackerbauern und den späteren Jägern und Sammlern Europas. So konnte gezeigt werden, dass die ersten Ackerbauern Europas eine verblüffend große genetische Ähnlichkeit mit den frühen Ackerbauern Anatoliens sowie den heutigen Einwohnern Sardiniens aufweisen. Hieraus folgt, dass in Sardinien nach der Besiedlung durch frühe Ackerbauern vor etwa 7 000 Jahren kaum noch zusätzliche genetische Komponenten von außerhalb der Insel hinzukamen. Entwicklungsgeschichtlich konnte mithilfe der Genomanalysen der 230 Skelette gezeigt werden, dass der Anteil an Jäger- und Sammler-DNA geraume Zeit nach der Einwanderung der frühen Ackerbauern wieder anstieg. Die zugewanderten Bauern verdrängten also nach ihrer Einwanderung die Jäger und Sammler in Europa nicht, sondern beide Populationen existierten mehrere tausend Jahre parallel und vermischten sich erst dann.



**DURCH DIE ANALYSE ALTER ERBSUBSTANZ KÖNNEN
WIR HYPOTHESEN AUS ARCHÄOLOGIE UND GESCHICHTSFORSCHUNG TESTEN UND SEHEN, WIE KULTURELLER WANDEL MIT EINWANDERUNG UND DEN DARAUS RESULTIERENDEN GENFLÜSSEN KORRELIERT.**

Um diese Hypothesen mit Hilfe der Genetik zu testen, wurden in einer Reihe von Studien kurze Abschnitte der – nur über die weibliche Linie vererbten – mitochondrialen DNA von Skeletten früher Ackerbauern und später Jäger und Sammlern untersucht. Die Ergebnisse der Gegenüberstellung waren eindeutig: Die genetische Zusammensetzung der Jäger und Sammler unterschied sich deutlich von der der frühen Ackerbauern. Folglich begannen die Neolithische Revolution und die Sesshaftwerdung des Menschen mit einer Einwanderung.

Da ausschließlich mitochondriale DNA und keine DNA des Zellkerns untersucht wurde, blieben diese Pionierarbeiten zunächst auf die maternale Linie beschränkt und erlaubten keine detaillierten Erkenntnisse über die Herkunft und die genaue genetische Zusammensetzung der prähistorischen

DIE EINWANDERUNG DER STEPPENNOMADEN

Eine weitere Studie konnte außerdem die Frage nach der späteren Einwanderung und der Herkunft der dritten genetischen Komponente heutiger Europäer näher beleuchten. Die ersten genetischen Spuren dieser Einwanderung und der daraus resultierenden genetischen Verschiebung fanden sich in Skeletten, die mit der vor etwa 4 800 Jahren beginnenden Schnurkeramik-Kultur in Zentraleuropa in Verbindung stehen. Das heißt, die Einwanderung nach Zentraleuropa erfolgte in der Kupferzeit am Übergang zwischen Mittel- und Endneolithikum.

Die mit der Schnurkeramik in Verbindung stehenden Skelette zeigten eine unerwartet hohe genetische Ähnlichkeit zu rund 5 000 Jahre alten Individuen aus der pontischen Steppe nördlich des Schwarzen und Kaspischen Meeres. Die dortigen Individuen standen mit der materiellen Kultur der Jamnaja in Verbindung, einer Population von Hirtenvölkern, die einen nomadischen Lebensstil in der Steppe pflegten. Ihre Kultur zeichnet sich durch eine vermehrte Nutzung von Rad und Wagen aus, was mutmaßlich eine erhöhte Mobilität zur Folge hatte. Die Gene dieser Menschen breiteten sich offenbar im frühen fünften Jahrtausend vor unserer Zeit in wenigen hundert Jahren über die Steppe nach Osten bis ins Altai-Gebirge und nach Westen bis in die Schweiz aus. Für die Mittel-Elbe-Saale-Region, aus der ein Großteil der untersuchten Skelette stammt, ließ sich berechnen, dass mehr als 75 Prozent der gefundenen Ackerbauern-Gene durch die mit den Schnurkeramik assoziierten Gene aus der Pontischen Steppe verdrängt wurden. Heute sind die Gene aus der Steppe bei allen Europäern zu finden, wobei der Anteil der Steppen-DNA im Nordosten Europas am höchsten ist und in Richtung Südwesten graduell abnimmt: Die größte genetische Steppen-Komponente findet sich heute bei den Einwohnern Estlands, die niedrigste bei den Sarden.

Die erste große Einwanderung nach Europa vor etwa 7 500 Jahren lässt sich gut durch die Veränderung des Lebensstils erklären: Ackerbau und Viehzucht verbesserten die Versorgung mit Lebensmitteln und führten zu einer Bevölkerungszunahme, die eine territoriale Ausbreitung der Ackerbauern nach sich zog. Die zweite große Einwanderungsbewegung aus der pontischen Steppe lässt sich damit nicht erklären, da es sich – zumindest in Zentraleuropa – sowohl bei den Einwanderern als auch bei den bereits Ansässigen um Ackerbauern und Viehzüchter handelte. Mögliche alternative Erklärungen sind eine höhere Lebensmittelproduktion der Einwanderer aus der Steppe durch die Erschließung von Weideflächen, die für Ackerbau nicht geeignet waren, oder kriegerische Auseinandersetzungen, worauf archäologische Funde hindeuten, oder

aber ein Zusammenbruch der ansässigen Ackerbauern-Population durch das Auftreten von Krankheiten.

Der letzte Erklärungsansatz bekam im Jahr 2015 Aufwind, als es erstmals gelang, aus Skeletten der frühen Bronzezeit, Pesterreger-Genome zu rekonstruieren. Die ältesten untersuchten Pesterreger stammen aus etwa 5 200 Jahre alten Skeletten aus der zentralasiatischen Steppe. Dort könnte die Krankheit ihren Ursprung genommen und sich nach Westen ausgebreitet haben, denn auch in etwa 4 500 Jahre alten Skeletten Zentraleuropas und des Baltikums fanden Forscher die DNA des Pesterregers. Denkbar ist also, dass es vor 5 000 Jahren zu einer ersten großen Pestepidemie kam, die sich mit den Steppenbewohnern nach Westen ausbreitete und die frühen Ackerbauern Europas stärker beeinträchtigte, als es bei den Nomaden der pontischen Steppe der Fall war. Letztere lebten wohl bereits seit Jahrhunderten mit dem Pesterreger und besaßen daher möglicherweise eine höhere Immunität. Ein seuchenbedingter Zusammenbruch der Ackerbauern-Population Europas könnte wiederum ein Vakuum verursacht haben, in das die Steppennomaden vordringen konnten.

ALLE HEUTIGEN EUROPÄER SIND EINE GENETISCHE MISCHUNG AUS FRÜHEN ACKERBAUERN SOWIE JÄGERN UND SAMMLERN; ZUGLEICH SIND SIE DURCH EINE Dritte POPULATION GEPRÄGT, DIE AUS DER PONTISCHEN STEPPE STAMMT.



DUNKLE HAUT UND BLAUE AUGEN – DAS ERSCHEINUNGSBILD DER FRÜHEN EUROPÄER

Die Analyse unterschiedlich alter Genome erlaubt es auch, zu bestimmen, wie sich das Aussehen der frühen Europäer im Laufe der Zeit veränderte. So gibt es genetische Varianten, die bestimmte Phänotypen verursachen und in hoher Frequenz bei heutigen Europäern zu finden sind. Ein Beispiel wäre das Gen HERC2, das in einer mutierten Form seinen jeweiligen Trägern eine helle Augenfarbe verleiht. Diese Variante des Gens trugen alle bisher untersuchten Jäger und Sammler Europas vom Ende der letzten Eiszeit vor etwa 14 500 Jahren bis zum Beginn des Neolithikums vor etwa 7 500 Jahren. Zugleich ergaben genetische Analysen, dass

die Hautfarbe der meisten dieser frühen Europäer der Hautfarbe heutiger Afrikaner entsprach. Die für die heutigen Europäer typische helle Haut breitete sich erst mit der Einwanderung der frühen Ackerbauern aus dem Nahen Osten aus. Es wird vermutet, dass es sich dabei um eine Anpassung an das Leben als Ackerbauern in Europa handelt: Über die Nahrung nehmen Ackerbauern – im Gegensatz zu Jägern und Sammlern – nur geringe Mengen Vitamin D auf. Dieses Vitamin ist wichtig für den Aufbau der Knochen und des Immunsystems. Im Gegensatz zu anderen Vitaminen kann es vom Körper des Menschen mithilfe von Sonneneinstrahlung selbst hergestellt werden. Eine stark pigmentierte Haut lässt weniger UV-Licht durch und reduziert darüber die Vitamin D-Produktion. In den meisten Regionen der Erde, in denen Landwirtschaft betrieben werden kann, scheint auch im Winter genügend Sonne, um ausreichend Vitamin D über die Haut zu produzieren. Mitteleuropa und vor allem Skandinavien bilden geografische Ausnahmen, sodass hier eine dunkle Haut vermutlich zu einem Mangel an Vitamin D führen würde.

DIE FÄHIGKEIT MILCH ZU TRINKEN

Rund 70 Prozent der heutigen Europäer können auch als Erwachsene größere Mengen von Milchzucker verdauen. Verantwortlich hierfür ist eine Variante des Laktase-Gens. Häufig wird die Abwesenheit dieser Genvariante auch als Laktoseintoleranz bezeichnet, wobei die meisten Menschen auf der Welt sowie alle Säugetiere laktoseintolerant sind. Die genetische Untersuchung alter Skelette zeigt, dass in der frühen Bronzezeit die mutierte Variante des Laktase-Gens nur bei wenigen Individuen aus der Steppe vorlag, die frühen Ackerbauern Europas waren zu dieser Zeit noch alle laktoseintolerant. Dass die mutierte Variante des Gens heute bei der Mehrheit aller Zentraleuropäer zu finden ist, ist offenbar einer starken positiven Selektion zu verdanken, die vermutlich frühestens nach der Einwanderung aus der Steppe vor etwa 4 800 Jahren begann. Diese Variante des Laktase-Gens

weist die stärkste positive Selektion auf, die bisher bei einem menschlichen Gen detektiert worden ist. Über die Ursachen dafür kann bislang nur spekuliert werden. Eventuell wurde die Milchwirtschaft stark intensiviert und die Milchproduktion pro Kuh durch gezielte Züchtung verstärkt. So können heutige Kühe bis zu zwanzig Mal mehr Milch produzieren als die Kühe der ersten Ackerbauern Europas.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Analyse der Genome alter Skelette aus der Vorgeschichte Europas erstaunlich viele biologische Veränderungen erkennen lässt. Innerhalb nur weniger tausend Jahre kam es zu zwei massiven Einwanderungswellen nach Europa, die die genetische Zusammensetzung der ansässigen Jäger und Sammler deutlich erweiterten. Mit den Einwanderern aus dem Nahen Osten vor rund 8 000 Jahren kamen auch Landwirtschaft und Viehzucht nach Europa und damit die Grundlage moderner Gesellschaften. Gleichzeitig begannen sich Gene in Europa auszubreiten, die eventuell eine wichtige biologische Anpassung an das Leben als Ackerbauer in Europa darstellen. Die Steppenbewohner Osteuropas brachten vor rund 5 000 Jahren in einer zweiten massiven Einwanderungswelle neben neuen Techniken und Kulturen auch Gene nach Europa, die es unter anderem Erwachsenen erlauben, größere Mengen Milch zu verdauen. Andererseits lassen die genetischen Untersuchungen auch vermuten, dass die zunehmende Bevölkerungsdichte und Mobilität der Europäer die Ausbreitung von Krankheiten begünstigte, mit eventuell katastrophalen Folgen. Mit den Einwanderern kamen wahrscheinlich auch neue Sprachen nach Europa. Vieles deutet darauf hin, dass die von den meisten heutigen Europäern gesprochenen indoeuropäischen Sprachen sich ursprünglich mit den Steppennomaden ausbreiteten. Genetische Untersuchungen bestätigen eindrucksvoll, dass Migration und Mobilität schon immer Teil der Menschheitsgeschichte waren: Alle heutigen Europäer sind ein Potpourri von Genen aus unterschiedlichen Teilen Eurasiens, eine klare genetische Abgrenzung zwischen den heutigen Einwohnern Europas ist daher unmöglich. Aus genetischer Sicht lassen sich keine Nationen als eigenständige Population erkennen. Eine weitere Erkenntnis besteht darin, dass in der frühen europäischen Geschichte mit großen Einwanderungswellen immer auch Innovationen nach Europa gelangten, die das Leben der Menschen hier grundlegend veränderten.



DIE MEISTEN JÄGER UND SAMMLER IN EUROPA UM ETWA 10.000 VOR CHRISTUS HATTEN EINE HAUTFARBE ÄHNLICH WIE DIE HEUTIGEN AFRIKANER, ALLERDINGS MEIST BLAUE AUGEN.

The genetic history of Europe: biological adaptation and mobility in prehistory

Genetic research has undergone a genuine revolution in the past decade. The development of advanced DNA sequencing technologies has increased the power and efficiency of genomic studies by a factor of ten million within a few years. We can now sequence whole human genomes with their billions of base pairs in just a few hours and at a cost of only a few hundred euros. We live in the “sequencing age”, so to speak. Tens of thousands of genomes from people all over the world have already been sequenced, and new ones are added every day.

The appeal and aim of this vigorous genetic research is to find answers to mankind’s big questions: How did humans evolve and where do they come from? What role do genes play in the development and spread of diseases? What genetic similarities and differences exist between human populations? Despite its dire association with racist and colonialist regimes in the 19th and 20th centuries, the field of genetics has shown that genetic diversity exists mainly within – not between – individual human populations. More than 80 per cent of all genetic differences in the DNA sequence of humans, known as single nucleotide polymorphisms (SNPs), occur within a single human population, such as Europeans or Asians. This means that to capture the bulk of the genetic diversity of people outside Africa, it is not necessary to test individuals located as far apart as possible geographically. It is sufficient to compare the genomes of a few hundred individuals from, say, Thuringia or the Rhineland region.

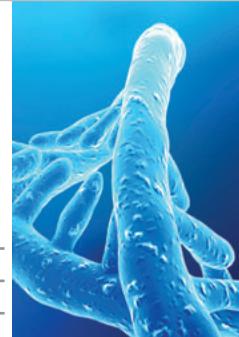
Another important realisation to come out of population-based genetic research is that Africans possess greater genetic diversity than populations outside of Africa. This finding is interpreted as evidence that modern humans originated in Africa. This is also evident from genealogical trees based on DNA analyses. According to such genealogical trees, people outside Africa represent only a small branch within the diversity that characterises African populations. Genetically speaking, all humans on Earth are Africans.

MUTATIONS: THE MOTOR FOR ADAPTATION AND GENETIC HISTORY

Genetic analyses can also be used to determine the time when human populations branched off from other populations in the course of evolution. This is done by calibrating what is known as the molecular clock. It is assumed that the rate of genetic changes remains more or less constant and that every human carries around 100 base changes

(mutations) that originated for the first time in the germline of one of their parents and were therefore not part of their ancestral DNA. For a single genome (humans have two, one from their mother and one from their father), that gives a mutation rate in humans of around 50 changes per generation. Based on the genetic differences between two populations and the average time span of each generation (25–30 years), it is possible to calculate when the two populations separated from each other. When we consider, for example, the genetic differences between Africans and non-Africans, we calculate a separation point between 2,000 and 2,500 generations ago, which corresponds to approximately 50,000 to 60,000 years ago. This calculation is consistent with archaeological and paleoanthropological findings, indicating that the first modern humans migrated to Europe and displaced the Neanderthals already residing there some 42,000 years ago. Similar calculations can be done for population separations between Asians and the natives of Australia or the Americas.

WE CAN NOW SEQUENCE A COMPLETE HUMAN GENOME FOR A FEW HUNDRED EUROS. WE LIVE IN A SEQUENCING AGE, AS IT WERE.



These calculations often make use of shifts in the frequency of commonly occurring gene changes, for example SNPs. The frequency of SNPs in human populations changes over time. Changes of this kind can be “directed”, for example if a genetic variant confers a biological advantage, such as the ability to digest milk as an adult, thus improving the supply of food, it might quickly rise in frequency and become common in the population. Such a directed shift is also referred to as positive selection. Conversely, the opposite, negative selection, can occur if a genetic change is associated with biological disadvantages. Such a change would be negatively selected over time and would probably disappear after a few generations.

However, most genetic differences between human populations are neutral, i.e. they do not lead to selection. In other words, they are undirected. The longer populations live geographically isolated from each other so that no exchange of genes occurs, the more differences accumulate in the frequency of SNPs. This process is referred to as genetic drift. Geographically adjacent populations or populations that have only recently separated show correspondingly fewer frequency differences. A close relationship therefore exists between human genetics and geographic origin.

A 2008 study by John Novembre and colleagues impressively demonstrated this relationship. The research group succeeded in roughly reproducing the map of Europe solely on the basis of the genetic differences between present-day inhabitants who live no more than 200 kilometres from their grandparents' place of birth. This clearly shows that the geographic origin of an individual's ancestors can be read from his or her genetic data. It is also noteworthy that the study showed a genetic gradient for Europe, a genetic continuum that does not coincide with today's national or linguistic boundaries. From a genetic point of view, national borders are untenable, and the gradient that characterises the mainland shows that neighbouring European populations have continuously exchanged genes in the course of their history. On the other hand, geographic isolation, as occurred on the island of Sardinia, is clearly reflected in the fact that Sardinians form a genetic population distinct from that on the Italian mainland.

BY ANALYZING ANCIENT DNA, WE CAN TEST HYPOTHESES IN THE FIELDS OF ARCHAEOLOGY AND HISTORICAL RESEARCH AND SEE HOW CULTURAL CHANGE CORRELATES WITH MIGRATIONS AND RESULTING GENE FLOWS.

MOLECULAR TIME TRAVEL

Archaeogenetics is a term that was coined in the 1990s. It describes the collection and analysis of genetic material from archaeological finds. The revolution in sequencing technology also led to spectacular new insights in this field. In 2008, the genome of an extinct mammoth was deciphered for the first time. Further milestones were the reconstruction of the genomes of a 4,000-year-old Palaeo-Eskimo and, two years later, that of the now extinct Neanderthal. Also in 2010 a previously unknown hominin, the Denisovan, was identified and its genome decrypted solely on the basis of a genetic analysis of a small finger-bone fragment. Meanwhile, scientists have obtained DNA from up to 500,000-years-old human bones.

While the study of genetically interacting and closely related modern populations permits only limited conclusions to be drawn about their prehistory, comparing modern DNA to ancient DNA provides new insights into the history of mankind. Reference to genomic data from the past makes it possible to show major shifts in the genetic structure of human populations over extended periods of time. It can also provide valuable insights into epochal population shifts and mobility changes as well as the spread of individual groups in prehistory. Analysis of ancient genetic material makes it possible to test archaeological and historical hypotheses and to examine the extent to which cultural change correlates with changes in mobility, migration and resulting gene flows.

HUMANS ADOPT A SEDENTARY LIFESTYLE

For a long time, one of the most important questions about early European history was whether the transition from hunters and gatherers to farmers that occurred in central Europe about 7,500 years ago was accompanied by a population shift. Two opposing hypotheses were put forth. According to the first, the Neolithic revolution was brought about by the spread of culture and knowledge, which were passed on from one region to another without the people themselves migrating there. The other hypothesis assumed that agriculture in Europe was due to the migration of people from the Middle East – to be precise, from the region known as the Fertile Crescent, where the oldest traces of farming have been discovered.

In order to test these hypotheses, a series of genetic studies were carried out to examine short segments of mitochondrial DNA obtained from the skeletons of early farmers and late hunters and gatherers. Mitochondrial DNA is

inherited only through the maternal line. The results of the comparison clearly showed that the genetic make-up of the hunters and gatherers differed significantly from that of the early farmers. Consequently, the Neolithic revolution and the permanent settlements by humans were both triggered by human migration.

Because only mitochondrial DNA was examined – not nuclear DNA – this pioneering work was initially restricted to the maternal line and did not provide details on the origin and precise genetic composition of prehistoric populations or their biological contribution to modern-day Europeans. A groundbreaking study in 2014 sequenced and compared the complete genomes of a dozen late hunters and gatherers who lived about 8,000 years ago and early European farmers who lived between 7,200 and 5,400 years ago. It was found that the two groups also differed significantly in terms of their nuclear DNA, i.e. their genomes. It also became apparent that early farmers are genetically more similar to today's inhabitants of the Middle East than to European hunters and gatherers. Thus, the theory of the early farmers migrating from the Fertile Crescent was confirmed across the entire genome.

The study brought to light other groundbreaking findings on the geographical and genetic origins of Europeans: all modern-day Europeans not only carry genetic traces of proto-Europeans, making them a genetic amalgamation of early farmers and foragers, they also evidently bear the genetic imprint of a third population that appears to originate from northern Eurasia. This third genetic component can be found in all present-day Europeans, but not among the hunters and gatherers or early farmers that were studied. This is a clear indication of a later migration wave.

Three other studies published in 2015 examined the genomes of 230 prehistoric individuals from western Eurasia who lived before 8,000 to 3,000 years ago. Their genome confirms the significant genetic differences between early farmers and the late hunters and gatherers in Europe. It was shown, for example, that the first farmers in Europe were astonishingly similar genetically to the early farmers of Anatolia and the present-day inhabitants of Sardinia. It follows that ever since Sardinia was settled by early farmers about 7,000 years ago, few genetic components have been introduced from outside the island. Genetic analysis of the 230 skeletons showed that the proportion of hunter-and-gatherer DNA increased again long after the influx of early

farmers. This means that the migrant farmers did not supplant the hunters and gatherers in Europe. The two populations co-existed for several millennia in parallel and only then intermingled.

THE MIGRATION OF STEPPE NOMADS

One of these studies shed light on the later migration and origins of the third genetic component of modern-day Europeans. The first genetic evidence of this migration and the resulting genetic shift were found in skeletons associated with the Corded Ware culture of central Europe, which began about 4,800 years ago. This means that the migration to central Europe took place in the copper age at the transition between the middle and late Neolithic.

ALL EUROPEANS TODAY POSSESS A COCKTAIL OF GENES FROM HUNTERS AND GATHERERS AND EARLY FARMERS. THEIR DNA ALSO CONTAINS GENES FROM A THIRD POPULATION FROM THE PONTIC-CASPION STEPPE.



The skeletons associated with the Corded Ware culture showed an unexpectedly high degree of genetic similarity to individuals from around 5,000 years ago found in the Pontic-Caspian steppe north of the Black Sea and Caspian Sea. The local inhabitants were associated with the material culture of the Yamna, a population of pastoralists who practised a nomadic lifestyle on the steppe. Their culture is characterized by frequent use of wheels and wagons, which increased mobility. In the early fifth millennium before present, the genes of these people apparently spread across the steppe eastwards into the Altai mountains and westward as far as Switzerland within the space of a few hundred years. For the middle-Elbe and Saale region, where many of the skeletons originated, it was calculated that more than 75 percent of the farmers' genes identified were displaced by genes associated with the Corded Ware culture from the Pontic-Caspian steppe. Genes from the steppe occur in all

present-day Europeans. The proportion of steppe DNA is highest in northeastern Europe and gradually declines towards the southwest. The largest genetic steppe component is found today among the inhabitants of Estonia, the lowest in Sardinia.

The first large-scale migration to Europe about 7,500 years ago can be explained by the change in lifestyle: agriculture and animal husbandry improved food security and led to a population boom, which, in turn, led to the territorial spread of farmers. However, that does not explain the second major migration movement from the Pontic-Caspian steppe, because – in central Europe at least – both the migrants and the established population were farmers. Other possible explanations are that the migrants from the steppe were able to produce more food by creating pastures from land that was unsuitable for farming, or that armed conflicts occurred, a theory that is supported by archaeological evidence, or alternatively that the settled farming population was decimated by diseases.

The last explanation received a boost in 2015, when geneticists succeeded in reconstructing the genome of the plague bacterium *Yersinia pestis* from early Bronze Age skeletons. The oldest investigated plague pathogens were obtained from approximately 5,200-year-old skeletons from the Central Asian steppe, where the disease may have originated and spread westward, because researchers also found the DNA of the plague bacterium in skeletons from central Europe and the Baltic region that date back to around 4,500 years. It is therefore conceivable that the first major plague epidemic began 5,000 years ago. It then spread westward with the inhabitants of the steppes, affecting the early farmers of Europe more than the nomads from the Pontic-

Caspian steppe. The latter had probably already been living with the plague pathogen for centuries, and may therefore have developed a higher level of immunity to it. A plague-triggered collapse of the farming population in Europe may, in turn, have created a vacuum which the steppe nomads were able to fill.

DARK SKIN AND BLUE EYES: THE APPEARANCE OF EARLY EUROPEANS

Genomes of various ages can be analysed to determine how the appearance of early Europeans changed over time. Genetic variants exist that produce specific phenotypes and are common in today's Europeans. One example is the *HERC2* gene, which in mutated form endows its carriers with a light eye colour. This gene was carried by all European hunters and gatherers so far studied who lived between the end of the last ice age, some 14,500 years ago, and the beginning of the Neolithic period, about 7,500 years ago. At the same time, genetic analyses have shown that the skin colour of most early Europeans corresponded to the skin colour of today's Africans. The light skin colour typical of present-day Europeans only started to spread with the migration of early farmers from the Middle East and became highly frequent in the Bronze Age. It is suspected that this is an adaptation to life as farmers in Europe: compared to hunters and gatherers, early farmers had only small amounts of vitamin D in their diet. This vitamin is essential for the development of bones and the immune system. Unlike other vitamins, the human body itself can produce vitamin D through exposure to sunlight. However, a strongly pigmented skin transmits less UV light, thus reducing vitamin D production. In most regions of the world where farming is possible, there is sufficient sunlight in winter to produce a sufficient supply of vitamin D via the skin. Central Europe and especially Scandinavia, are geographical exceptions. In those regions a dark skin would probably lead to vitamin D deficiency.

THE ABILITY TO DRINK MILK

Around 70 percent of modern-day Europeans can digest large amounts of lactose as adults. This ability is due to a variant of the lactase gene. Absence of this gene variant is also frequently referred to as lactose intolerance, however most people in the world and all mammals are lactose intolerant. In other words modern Europeans are the exception and carry a mutation for that gene. Genetic analysis of the ancient skeletons showed that, in the early Bronze Age, the mutated variant of the lactase gene was only present in a few individuals from the steppe. Early European farmers



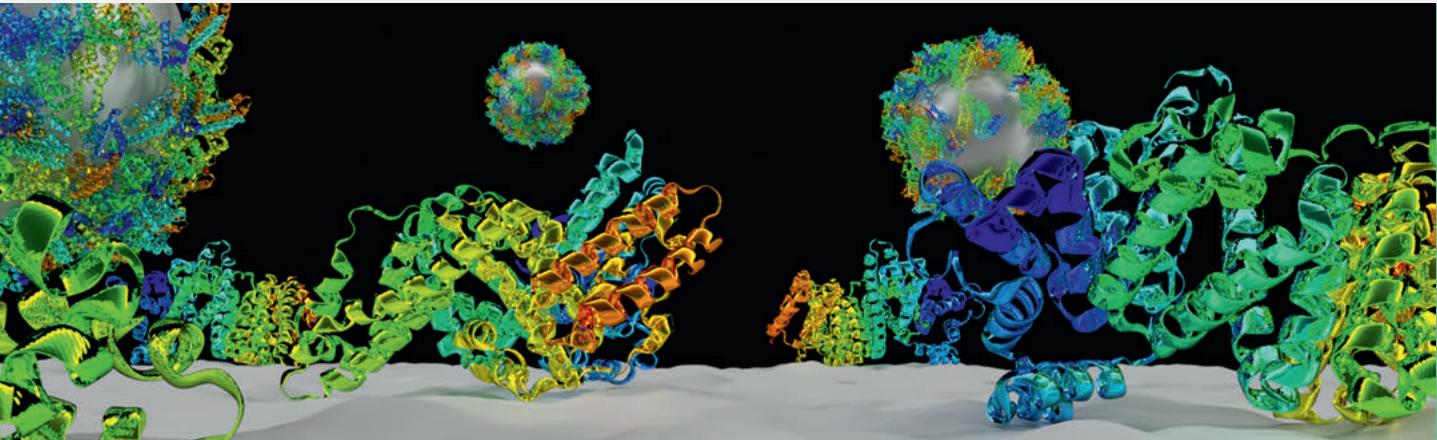
THE SKIN PIGMENTATION OF HUNTERS AND GATHERERS LIVING IN EUROPE AROUND 10,000 BC WAS SIMILAR TO THAT OF MODERN-DAY AFRICANS, THOUGH MOST HAD BLUE EYES.

were still lactose intolerant at the time. The fact that the mutated variant of the gene is found among the majority of central Europeans today is evidently due to strong positive selection, which probably began no earlier than the migration of people from the steppe some 4,800 years ago. This variant of the lactase gene exerts the strongest positive selection so far detected in a human gene. We can only speculate as to the reasons for this. Dairy farming may have intensified, while milk production per cow may have been boosted through selective breeding. Today's cows can produce up to twenty times more milk than the cows owned by the first farmers in Europe.

In summary, analysis of the genomes of ancient skeletons from European prehistory reveals a surprisingly large number of biological changes. Within just a few thousand years two massive migration waves into Europe occurred, significantly increasing the genetic composition of resident hunters and gatherers. Migrants from the Middle East around 8,000 years ago brought agriculture and animal husbandry, the basis of modern societies, to Europe. At the same time in Europe, genes began to spread that may have been important biological adaptations to a farming life. In a second massive migration wave that occurred around 5,000 years ago, the steppe inhabitants of eastern Europe introduced new technologies and cultures to Europe as well as genes that allowed adults to digest large amounts of milk. On the other hand, genetic studies also suggest that the increasing population density and mobility of Europeans favoured the spread of diseases, sometimes with catastrophic consequences. The migrants probably also introduced new languages to Europe. Much evidence indicates that the Indo-European languages spoken by most of today's Europeans originally spread with the steppe nomads. Genetic studies also confirm that migration and mobility have always been part of the history of mankind. All Europeans alive today are a potpourri of genes from various parts of Eurasia. A clear genetic demarcation between today's inhabitants of Europe is therefore impossible. From a genetic point of view, no nation can be recognized as a distinct population. Another finding is that large-scale migration waves in early European history introduced innovations that fundamentally changed the lives of the people living here.

VOLKER MAILÄNDER UND KATHARINA LANDFESTER
MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR POLYMERFORSCHUNG, MAINZ

Wirkstofftransporter für die Nanomedizin



Nanomaterialien für diagnostische und therapeutische Zwecke in der Medizin einzusetzen, ist eins der zukunftsträchtigsten Felder der Nanotechnologie. Besonders interessant ist es dabei, Medikamente gezielt zu Krankheitsherden zu bringen, statt, wie heute üblich, den ganzen Körper eines Patienten damit zu fluten. So schädigen etwa Krebsmedikamente, die Tumorzellen abtöten sollen, heute immer noch viele andere Zellen. Gelänge es die damit verbundenen gravierenden Nebenwirkungen zu vermeiden, wäre dies ein großer Erfolg. Wir entwickeln daher künstliche Nanotransporter, die Wirkstoffe zu gewünschten Zielzellen im Körper bringen.

Die meist kugelförmigen Nanoträger, die im Durchmesser nur etwa 100 Nanometer messen, sollen Wirkstoffe dabei in hoher Konzentration geschützt durch den Körper transportieren, biologische Barrieren wie etwa die Wände von Blutgefäßen oder bei Bedarf auch die Blut-Hirn-Schranke durchdringen und die Wirkstoffe zielgenau in Organen und anderen Geweben freisetzen. Indem solche Nanotransporter Zellen dazu bringen, sie mit Zellmembran einzuschließen, können sie sogar ins Zellinnere gelangen. Wenn sie innerhalb der Zelle ihren Wirkstoff abgeben, kann dieser gezielt mit Zellorganellen, Proteinen oder DNA interagieren und damit eine Krankheit besonders wirkungsvoll bekämpfen.

Die Effizienz einer Therapie lässt sich zusätzlich erhöhen, indem ein Wirkstoff in einem Nanoträger, der ihn zu einem Krankheitsherd bringt, verpackt wird. Denn in Nanokapseln verpackt lassen sich wasserunlösliche Wirkstoffe im Körper deutlich besser verfügbar machen. Zudem bleiben verkapselfte Wirkstoffe beim Transport durch den Körper vor dem biologischen Abbau geschützt. Und Nanokapseln kön-

nen auch Substanzen mit hoher Molekülmasse aufnehmen, die sich in der Medizin bislang nur begrenzt einsetzen lassen. So könnten als innovative Biopharmazeutika in verkapselfter Form auch Nukleinsäuren oder Proteine Verwendung finden. Nukleinsäuren wirken äußerst spezifisch und potent, sie sind wegen ihrer hohen Molekülmasse und Instabilität im Blutstrom bislang allerdings nur eingeschränkt medizinisch verwendbar.

Bekannte Chemotherapeutika für die Krebstherapie wie Doxorubicin und Paclitaxel gehörten zu den ersten Wirkstoffen, die in Form von Nanoträgern dargereicht werden, sodass sie sich im Körper anders verteilen als in herkömmlicher Form. Diese beiden Wirkstoffe gehören aber auch zu den ganz wenigen, die als Nanoträger-basierte Arzneimittel überhaupt auf dem Markt verfügbar sind. Von den vielen verschiedenen Nanoträgern, die Chemiker inzwischen entwickelt haben, haben es mithin bislang nur wenige aus dem Labor in ein Arzneimittel geschafft. Das liegt zum einen an den Hürden, die bei der Übertragung von Ergebnissen der Grundlagenforschung in eine medizinische Anwendung zu nehmen sind. Zum anderen müssen wir auf Seiten der Grundlagenforschung zunächst genau verstehen, wie Nanotransporter mit der biologischen Umgebung im Körper interagieren. So ergeben sich letztlich drei große Herausforderungen, die es zu bewältigen gilt: 1. Verschiedene Wirkstoffe in Nanokapseln zu verpacken; 2. diese an Zielzellen zu bringen und 3. die Wirkstoffe dort gezielt freizusetzen.

Verschiedene Verfahren erlauben es, Nanotransporter je nach den Anforderungen spezieller Anwendungen so herzustellen, dass die Nanoträger die erforderlichen physikali-

schen, chemischen und biologischen Eigenschaften aufweisen und als multifunktionale Nanopartikel-Plattformen zur Verfügung stehen.

Die Nanotransporter können aus verschiedenen Materialien hergestellt werden, zum Beispiel aus anorganischen Materialien wie etwa Gold, Eisenoxid oder Silicium, oder aus organischen Polymeren wie dem biologisch nicht abbaubaren Polystyrol oder der im Körper abbaubaren Polymilchsäure. Nanoträger lassen sich aber auch aus Biopolymeren, also Proteinen, Kohlenhydraten oder Lipiden produzieren. Die Nanotransporter jedoch so zu erzeugen, dass sie einen oder mehrere Wirkstoffe einkapseln, ist schwierig. Dabei ist genau diese Verkapselung besonders erfolgversprechend, um Nanotransporter verstärkt in die medizinische Anwendung zu bringen.

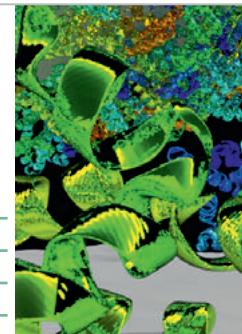
Mit der speziellen Emulsionsform der Miniemulsionen ist es uns am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPIP) gelungen, verschiedene Wirkstoffe zu verkapseln und die Nanotransporter mit einer breiten Palette an Funktionen auszustatten. Bei einer Emulsion wie etwa einer gut durchmischten Vinaigrette-Sauce oder bei Milch handelt es sich um ein Gemisch zweier Flüssigkeiten, die wie Öl und Wasser nicht ineinander löslich sind. Die ölige Flüssigkeit lässt sich allerdings in Form feiner Tropfen im Wasser verteilen. Bei einer Miniemulsion, die wir mit Hilfe von Ultraschall erzeugen, sind diese Tröpfchen wie bei der Milch besonders klein, und alle Tröpfchen weisen ziemlich genau die gleiche Größe und Struktur auf. Dabei können wir die Größe gezielt einstellen.

Während sich eine Salat-Sauce aus reinem Essig und Öl schnell entmischt, bleibt eine Miniemulsion sehr lange stabil, auch wenn sie einen hohen Anteil an Ölen enthält. Die Tröpfchen und somit die Nanokapseln, die durch eine chemische Reaktion aus den Tröpfchen an deren Grenzfläche entstehen, lassen sich zudem in hohen Konzentrationen mit Wirkstoffen beladen. Und über das Material und die Struktur der Kapselwand können wir steuern, wie der Container mit synthetischen und biologischen Materialien wechselwirkt. Nicht zuletzt lassen sich die Nanokapseln in Miniemulsionen auch im Tonnenmaßstab produzieren. Dank dieser Vorteile bietet uns die Miniemulsion ein ausgezeichnetes Werkzeug, um Nanotransporter zu konstruieren, die medizinische Wirkstoffe gezielt zu Krankheitsherden befördern. Doch auch in der Technik könnten die Nanokapseln, die wir erzeugen, Anwendung finden. Etwa um Kratzer in Korrosionsschutzschichten von Stählen autonom zu heilen, die Effizienz von

Solarzellen zu verbessern oder die Kapazität von Speicherchips zu erhöhen.

Sowohl für medizinische als auch technische Anwendungen ist es natürlich wichtig, dass die Nanokapseln ihren Inhalt dicht verpacken und erst dort freisetzen, wo es gewünscht ist. Zudem soll die Hülle verhindern, dass Substanzen in die Kapseln eindringen und den Inhalt verändern. Die Wände von Nanokapseln jedoch so abzudichten, dass sie auch für Substanzen, die aus kleinen Molekülen bestehen oder leicht flüchtig sind, undurchdringlich sind, erwies sich dabei als besonders anspruchsvoll. Denn diese Substanzen diffundieren durch jede noch so kleine Öffnung aus der Kapsel. In *Mikrokapseln* werden die Kapselwände einfach entsprechend dick gemacht, im *Nanobereich* geht das aber nicht. Daher haben wir für das Schalenmaterial ein Polymer gewählt, das aufgrund seiner chemischen Eigenschaften viele Verknüpfungen zwischen einzelnen Polymerketten und somit ein dünnes Netz mit kleiner Maschenweite bildet. So ist es uns gelungen, dichte Nanokapseln für leicht flüchtige Substanzen wie Medikamente oder Duftstoffe herzustellen.

**DURCH MINIEMULSIONEN IST ES UNS GELUNGEN,
VERSCHIEDENE WIRKSTOFFE ZU VERKAPSELN
UND DIE NANOTRANSPORTER MIT EINER BREITEN
PALETTE AN FUNKTIONEN AUSZUSTATTEN.**



Damit selbst Sauerstoffmoleküle nicht durch die Kapselwand dringen und die eingekapselten Substanzen schädigen können, bedarf es einer besonders dichten Nanohülle: Inspiriert von Baumblättern benutzt unsere Gruppe Cellulose als undurchlässiges Nanopapier für die Wände von Nanokapseln, die diese Anforderung erfüllen müssen. Solche Nanokapseln könnten weniger in der Medizin als vielmehr in der Nahrungsmittelindustrie Verwendung finden, und zwar als eine neuartige Konservierungsmethode. So könnten sie etwa sauerstoffempfindliche Lebensmittel wie zum Beispiel Fischöl schützen.

Wie sich Nanotransporter in der Medizin einsetzen lassen, wurde in den vergangenen Jahren umfangreich erforscht, bislang jedoch vor allem in Zellkultur-Modellen. Aufgrund der Erkenntnisse, die in diesen Studien gewonnen wurden, lässt sich jedoch kaum vorhersagen, welche Wege die Nanotransporter im Körper nehmen und wie sie mit dem biologischen Umfeld eines Organismus interagieren werden. Unsere Gruppe am MPIP untersucht diese Fragen für Nanocontainer, die gezielt eine bestimmte Zellart im Körper eines Patienten adressieren sollen. Damit dies gelingt, muss eine ‚nackte‘ Kapsel mit den meisten Zellen möglichst wenig interagieren. Sie muss sich daher, einmal ins Blut gespritzt, zunächst tarnen. Diese Tarnung wird dadurch erschwert, dass die Nanoträger mit den Proteinen aus dem Blut wechselwirken. Wie wir und andere Forscher weltweit herausgefunden haben, bedeckt nämlich schnell eine Vielzahl von Proteinen die Oberfläche der Nanotransporter, sobald diese ins Blut gelangen. Sie werden von einer so genannten Proteinkorona eingehüllt. Und hier liegt genau das Problem, wenn es darum geht, Nanotransporter in der Medizin einzusetzen: Alles was sich Chemiker ausgedacht haben, um die Transporteroberfläche zu modifizieren, wird im Blut hinfällig. Denn hier verändert sich die Oberfläche der Nanoträger dramatisch.

Die Proteinkorona verändert die Eigenschaften der Nanoträger, einschließlich ihrer Größe, Oberflächenladung und ihres Aggregationsverhaltens. Die ursprünglich chemische Identität der Oberfläche der unbedeckten Nanopartikel wird dadurch in eine biologische Identität umgewandelt. Nanoträger, die zum Beispiel in Wasser stabil waren, klumpen in Blut aus und stellen damit eine Gefahr für den Organismus dar.

Das Phänomen der Proteinanlagerung ist zwar schon seit einiger Zeit bekannt, aber erst seit kurzem lässt sich dank der hochauflösenden Massenspektrometrie analysieren, welche Proteine in den komplexen Gemischen enthalten sind. Darüber hinaus haben wir und andere Forschergruppen weltweit aufgeklärt, wie die Nanotransporter mit Zellmembranen wechselwirken und wie die auf der Transporteroberfläche adsorbierten Proteine die Aufnahme der Nanoträger in die Zelle beeinflussen. Wir wissen nun, dass die Korona die biologische Identität der Nanopartikel definiert und die toxische Wirkung auf Zellen, die Verteilung im Körper und die Aufnahme in spezifische Zellen beeinflusst. Wenn also Nanotransporter in die Blutbahn gespritzt werden, so ist es deren Proteinkorona, die von den Zellen eigentlich wahrgenommen wird. Wir müssen also unbedingt die Proteinkorona berücksichtigen, um vorhersagen zu können, wie Nanoträger mit Zellen interagieren.

Angesichts der Bedeutung der Proteinkorona für medizinische Anwendungen von Nanomaterialien ist die Entwicklung von Nanokapseln als Wirkstofftransporter nicht nur eine synthetische Herausforderung. Nötig sind auch Methoden, um die Nanoträger und vor allem die Proteinkorona im Blut charakterisieren zu können. Dafür kommen verschiedene Techniken in Frage. Neben massenspektrometrischen Untersuchungen, um die Zusammensetzung der Korona zu analysieren, setzen wir am MPIP zum Beispiel die isotherme Titrationskalorimetrie ein, mit der wir untersuchen, wie stark die Proteine an die Trägeroberfläche gebunden sind. Darüber hinaus verrät uns die dynamische Lichtstreuung, ob die Nanotransporter im Blut verklumpen. Schließlich können wir die Proteinschicht auf den Nanoträgern mit Hilfe der Elektronenmikroskopie sogar bildlich darstellen.

Wie alle fremden Substanzen werden Nanoträger im Blutkreislauf von Fresszellen wie zum Beispiel Makrophagen eliminiert. Zu diesem Zweck werden die Nanopartikel zunächst durch spezielle Proteine wie die Immunglobuline als Fremdkörper markiert. Wenn die Nanotransporter rasch aus dem Blutkreislauf entfernt werden, haben sie jedoch keine Chance, ihren Zielort im Körper zu erreichen. Aus diesem Grund wurden Nanotransporter mit proteinabweisenden Oberflächen ausgestattet. Die Idee dahinter: Wenn sich keine oder weniger Proteine wie etwa die Immunglobuline auf der Trägeroberfläche anlagern können, sollten die Nanotransporter länger durch den Blutkreislauf zirkulieren. Derart getarnte Nanotransporter („Stealth“-Nanoträger) sollten also das Immunsystem nicht aktivieren und Arzneimittel so zuverlässig zu Krankheitsherden bringen.

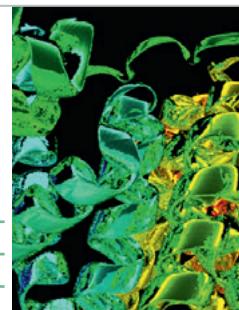


Weltweit beschichteten Forscher Nanopartikel wie Polypeptide, polymere Nanoteilchen und Liposomen daher mit wasseranziehenden Molekülen, um sie vor Fresszellen zu schützen. Die Nanotransporter mit Polyethylenglykol (PEG) zu beschichten, ist dafür der Standardansatz, der auch PEGylierung genannt wird. Dies verhindert die unspezifische Anlagerung von Proteinen und erhöht die Verweildauer der Nanovehikel im Blut. Doch die PEGylierung verhindert die Bildung der Proteinkorona nicht vollständig. Und das ist auch gut so, wie wir am MPIP mit einer wichtigen Entdeckung herausgefunden haben. Es kommt nämlich anders, als man bislang dachte, nicht darauf an, dass sich möglichst wenige oder gar keine Proteine an die Oberfläche eines Nanotransporters heften, sondern darauf, dass sich dort die richtigen Proteine ablagern. Damit die Nanopartikel vor dem Immunsystem getarnt werden, müssen sie auf ihrer Hülle das Protein Clusterin tragen. Genau dieses Protein lagert sich auf einer PEG-Hülle bevorzugt ab und macht das Polymer so zu einer guten Tarnkappe. Eine Beschichtung, auf der sich andere oder gar keine Proteine absetzen, können die Nanopartikel dagegen nicht tarnen. Diese Erkenntnis vermittelt uns eine ganz neue Sicht auf den Mechanismus des Tarneffekts.

Da wir den Effekt nun besser verstehen, ist es uns am MPIP besonders gut gelungen, Nanocontainer herzustellen, die im Körper zunächst von keiner Zelle erkannt werden. Da Polyethylenglykol nicht biologisch abgebaut wird, könnte es sich im Körper anreichern. Daher haben wir nach alternativen Tarnkappen für unsere Nanotransporter gesucht und diese zum Beispiel in einer Hülle aus modifizierten Stärkemolekülen gefunden. Nanokapseln aus diesem Polymer können relativ lange durch den Körper zirkulieren, ohne zunächst vom Immunsystem erkannt zu werden, werden aber abgebaut, sobald sie ihre Fracht bei den Zielzellen abgeliefert haben. Ein Nachteil sowohl von PEG als auch von Stärke als Hüllmaterial der Nanokapseln ist jedoch, dass sie im Körper die Bildung spezifischer Antikörper und Hypersensitivitätsreaktionen bewirken können. Antikörper bewirken bei einer wiederholten Gabe, dass die Nanotransporter rascher aus dem Blut entfernt werden. Das vermeiden wir, indem wir als Hüllmaterial Polyphosphorsäureester verwenden, die abbaubar sind und den Nukleinsäuren, einem wichtigen Grundbaustein des Organismus, sehr ähneln. Daher lösen Nanopartikel mit einer Hülle aus Phosphorsäure keine Bildung von Antikörpern aus und bleiben auch bei einer wiederholten Anwendung lange genug im Blut, um ihre Zielzellen zu finden.

Damit Wirkstofftransporter genau dorthin gelangen, wo sie gebraucht werden, benötigen sie jedoch eine Art Adresslabel. Daher bringen wir auf den Oberflächen der Nanopartikel Moleküle an, für die nur die Zielzellen, also etwa Tumorzellen und sogenannte dendritische Zellen des Immunsystems, die richtigen Rezeptoren aufweisen. Nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip binden die Adressmoleküle der Nanotransporter an die Rezeptoren und werden dann von den Zielzellen aufgenommen. Für eine aktuelle Studie haben wir am MPIP PEGylierte Nanokapseln mit verschiedenen Adress-Molekülen ausgestattet, damit die Container von dendritischen Zellen aufgenommen werden. Dann haben wir analysiert, welche und wie viele Proteine sich an den Nanotransportern anlagern. Dabei haben wir insgesamt wenige Proteine auf ihrer Oberfläche gefunden und wie bei Nanopartikeln ohne Adress-Moleküle vor allem Clusterin. Die Adress-Moleküle beeinflussen die Proteinkorona also kaum.

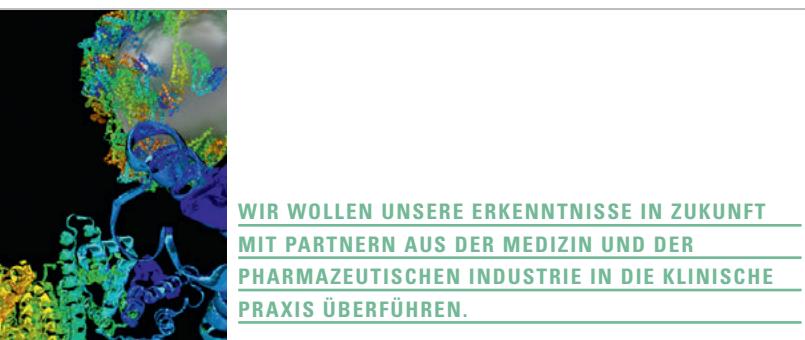
**WIR VERFOLGEN DIE VISION, „INTELLIGENTE“
PARTIKEL AUS MEHREREN INEINANDER GESCHACHTEN KAPSELN ZU ENTWICKELN.**



In einer weiteren Studie mit Nanokapseln aus Stärke haben wir zudem festgestellt, dass umgekehrt zumindest eine Korona aus manchen Proteinen nicht verhindert, dass die Adress-Moleküle auf der Kapseloberfläche an ihre Zielrezeptoren binden und die Nanokapseln von dendritischen Zellen aufgenommen werden. Bislang haben wir allerdings nur den Einfluss einiger weniger Koronaproteine darauf untersucht, wie die Adress-Moleküle an die Ziel-Rezeptoren binden. Genau zu verstehen, wie verschiedene Koronaproteine den Weg eines Nanotransportes durch den Körper und in die Zielzelle beeinflussen, ist allerdings entscheidend für den Erfolg von künstlichen Nanotransportern in der Medizin. Daher liegt ein Schwerpunkt unserer künftigen Forschungsaktivitäten am MPIP darauf, die Bildung der Proteinkorona durch die Eigenschaften der Nanopartikel noch besser zu kontrollieren und die Proteinkorona so für spezifische biomedizinische Anwendungen nutzbar zu machen.

Zudem verfolgen wir die Vision, „intelligente“ Partikel aus mehreren ineinander geschachtelten Kapseln zu entwickeln. Mit ihnen ließen sich etwa Impfstoffe und zusätzlich erforderliche Adjuvantien, die das Immunsystem stimulieren, separat zu Zielzellen transportieren, wenn sie erst dort in Kontakt miteinander kommen sollten. Ähnliches gilt für Kombinationen mancher Wirkstoffe, die erst in den Zielzellen vermischt werden sollen, oder gar an unterschiedlichen Orten wirken sollen. Ineinander geschachtelte Kapseln könnten zudem mehrere biologische Barrieren durchdringen. Ein Nanovehikel etwa, das RNA oder DNA in den Zellkern bringen soll, müsste mit seiner äußeren Kapsel zunächst in die Zelle eindringen und die äußere Hülle dann abwerfen, um mit einer entsprechend präparierten inneren Kapsel in den Zellkern zu gelangen.

Dank der Erkenntnisse, die wir in den vergangenen Jahren gewonnen haben, sind wir am MPIP bei der Entwicklung von Nanocontainern vor allem, aber nicht nur für die Medizin um wichtige Schritte vorangekommen. Nun gehen wir dazu über, diese grundlegenden Erkenntnisse in engen Kooperationen mit der Universitätsmedizin in Mainz sowie Partnern der pharmazeutischen Industrie in die klinische Praxis zu überführen. Wir sind daher zuversichtlich, dass Therapien in naher Zukunft noch effektiver und werden und weniger Nebenwirkungen mit sich bringen.



Bei ineinander geschachtelten Kapseln ebenso wie bei einfachen Containern müssen wir natürlich auch dem Öffnungsmechanismus großes Augenmerk schenken. Wir nutzen dabei zum einen Stimuli, die sich berührungslos sowie zeitlich und räumlich sehr präzise anwenden lassen. Unter anderem kommen etwa Licht und Temperatur in Frage, um eine Fracht über einen molekularen Öffner in der Kapselwand sozusagen per Knopfdruck freizusetzen. Wir setzen aber auch auf äußere Reize, die entstehen, wenn sich die chemische Umgebung der Nanopartikel ändert. Von besonderem Interesse sind hierbei spezielle chemische Bedingungen in den Zielzellen. So können wir die Kapseln möglicherweise mit Enzymen öffnen, die es nur in den Zielzellen gibt. Für einen Öffnungsmechanismus können wir zudem ausnutzen, dass in Tumorzellen ein saures Milieu herrscht. Die entsprechenden molekularen Öffner eignen sich dabei nicht nur hervorragend für die Medizin, sondern auch für ganz andere Anwendungen, wie zum Beispiel für den Korrosionsschutz von Stahl. Denn auch hier geht die einsetzende Korrosion damit einher, dass sich das chemische Milieu ändert.

Drug delivery in nanomedicine

The use of nanomaterials for diagnostic and therapeutic purposes in medicine is one of the most promising areas in nanotechnology. The ability to target medications at the seat of disease instead of flooding a patient's entire body with them, as is the current practice, is of particular interest. At the moment, for example, cancer treatments that are designed to kill tumour cells still damage many other cells as well. The possibility of avoiding the associated severe side effects would be a major breakthrough. We are therefore developing artificial nanotransporters to transport drugs to the required target cells in the body.

The nanocarriers, which are usually spherical in shape and measure only around 100 nanometres in diameter, are designed to transport highly concentrated substances through the body, penetrate biological barriers such as the walls of blood vessels or, if necessary, the blood-brain barrier, and deliver the substances at precise targets in organs and other tissues. As such nanotransporters cause cells to enclose them with cell membranes they can even reach the cell interior. Once they deliver the drug to the cell, it can interact in a specific way with cell organelles, proteins or DNA and in this way fight a disease particularly effectively.

The efficiency of a treatment can be further increased by encapsulating a drug in a nanocarrier, which brings it to a seat of disease. This is because water-insoluble substances that are packaged in nanocapsules are much more easily available in the body. Moreover, the encapsulated drugs remain protected from biological degradation while they are being transported through the body. And nanocapsules can also absorb substances with a high molecular mass. Such substances could previously only be used to a limited extent in medicine. This means that encapsulated nucleic acids or proteins could also be used as innovative biopharmaceuticals. Nucleic acids have an extremely specific and potent effect; to date, however, they have had only a limited application in medicine due to their high molecular mass and instability in the bloodstream.

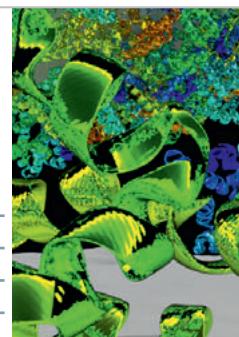
Well-known chemotherapeutic agents used in the treatment of cancer, such as doxorubicin and paclitaxel, were among the first drugs to be administered as nanocarriers, with the result that they disperse throughout the body differently than when they are administered using conventional methods. However, these two drugs are also among the very few that are even available on the market as nanocarrier-based medications. Of the many different nanocarriers that chemists have developed, very few have made it out of the lab

into a medication. This is due, on the one hand, to the obstacles that must be overcome when translating basic research results into medical application. On the other hand, on the basic research side, we first need to understand exactly how nanotransporters interact with the biological environment in the body. Ultimately, three major challenges need to be overcome: 1. Packaging various drugs in nanocapsules; 2. Transporting these drugs to target cells; 3. Releasing the drugs there in a targeted way.

Various procedures allow nanotransporters to be manufactured in accordance with the requirements of specific applications in such a way that the nanocarriers have the necessary physical, chemical and biological properties and are available as multifunctional nanoparticle platforms.

The nanotransporters can be made from a variety of materials, including, for example, inorganic materials such as gold, iron oxide or silicon, or organic polymers such as polystyrol, which cannot be biologically degraded, or polylactic acid, which can be broken down in the body. Nanocarriers can also be made from biopolymers, i.e. proteins, carbohydrates or lipids. However, it is difficult to make the nanotransporters in such a way that they encapsulate one or more drugs. However, it is precisely this encapsulation that is particularly promising in terms of increasing the use of nanotransporters for medical purposes.

USING MINIEMULSIONS WE SUCCEEDED IN
ENCAPSULATING VARIOUS ACTIVE SUBSTANCES AND
IN EQUIPPING THE NANOTRANSPORTERS WITH
A WIDE RANGE OF FUNCTIONS.



By using a special type of emulsion, known as a miniemulsion, we at the Max Planck Institute for Polymer Research (MPIP) have managed to encapsulate various drugs and to equip the nanotransporters with a broad range of functions. An emulsion like a well-mixed vinaigrette dressing or milk consists of a mixture of two liquids, which, like oil and water, are not soluble in each other. The oily liquid, however, can disperse in the form of fine drops in the water. In a miniemulsion, which we produce using ultrasound, these

droplets are particularly small, as in the case of milk, and all the droplets have almost the exact same size and structure. As a result, we can accurately specify the size.

While a salad dressing made from just oil and vinegar quickly separates, a miniemulsion remains stable for a very long time, even if it contains a high proportion of oils. The droplets and thus the nanocapsules, which are generated from a chemical reaction of the droplets on their surface, can also be loaded with drugs in high concentrations. We can control, via the material and the structure of the capsule wall, how the container interacts with synthetic and biological materials. Another important aspect is that the nanocapsules in miniemulsions can also be produced in tons. Thanks to these benefits, the miniemulsion is an excellent tool for constructing nanotransporters that transport medicines in a targeted way to the seat of disease. However, the nanocapsules that we produce could also be used in technology, for example to promote the 'self-healing' of scratches in anti-corrosion coatings for steel, to improve the efficiency of solar cells or to increase the capacity of memory chips.

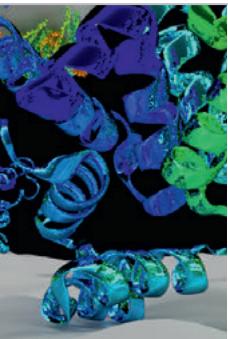
It is of course important in both medical and technical applications that the content in nanocapsules is packaged securely and only released where it is required. In addition, the shell is designed to prevent substances from penetrating the capsules and modifying the content. However, sealing the walls of nanocapsules in such a way that they are also impenetrable to substances that consist of small molecules or are highly volatile, has proved to be particularly challenging. This is because these substances diffuse out of the capsule through every cavity. In microcapsules, we simply ensure that the capsule walls are thick enough; this does not work at the nanoscale however. When choosing the shell material, we therefore selected a polymer, which

due to its chemical properties, establishes several links between individual polymer chains and thus forms a thin net with a small mesh size. We thus managed to manufacture impermeable nanocapsules for highly volatile substances like medications or aromatic substances.

A particularly impermeable nano shell was required to ensure that even oxygen molecules could not penetrate the capsule wall and damage the encapsulated substances: inspired by leaves on a tree, our group uses cellulose as an impermeable nanopaper for the walls of nanocapsules that have to fulfil this requirement. Such nanocapsules could be used more in the food industry than in medicine and even as an innovative method for preserving food. They could therefore protect oxygen-sensitive foods, such as fish oils.

Extensive research has been carried out in recent years to determine how nanotransporters can be used in medicine. To date, however, most of this research has been conducted in cell culture models. On the basis of information that was obtained in these studies, it is, however, hard to predict which routes the nanotransporters will take in the body and how they will interact with the biological environment of an organism. Our group at the MPIP is studying these issues in relation to nanocontainers, which are designed to target a specific type of cell in the patient's body. In order for this to be successful, a 'naked' capsule must interact as little as possible with most cells. Once injected into the blood, it therefore needs to camouflage itself. This attempt to camouflage is made more difficult by the fact that the nanocarriers interact with proteins in the blood. As we and other researchers around the world have discovered, a large number of proteins quickly cover the surface of the nanotransporters as soon as the nanotransporters reach the blood. They are enveloped by a 'protein corona', as it is known. And this is exactly where the problem lies when nanotransporters are used in medicine: everything that chemists have devised to modify the transporter surface becomes obsolete in the blood. This is because the surface of the nanocarrier changes dramatically here.

The protein corona modifies the properties of the nanocarriers, including their size, surface charge and aggregation behaviour. As a result, the original chemical identity of the surface of the uncovered nanoparticle is converted into a biological identity. Nanocarriers that were stable in water, for example, agglomerate in the blood and thus pose a risk to the organism. The phenomenon of protein accumulation has been known



**WE USE CELLULOSE AS IMPERMEABLE NANOPAPER
SO THAT EVEN OXYGEN MOLECULES CANNOT
PENETRATE THE CAPSULE WALL.**

about for some time. However, it has only recently been possible, due to high-resolution mass spectrometry, to analyse the complex mixtures to determine which proteins they contain. In addition, we and other research groups around the world have uncovered how the nanotransporters interact with cell membranes and how this influences the mechanism by which proteins adsorbed on the surface of the nanocarriers influence absorption into the cell. We now know that the corona defines the biological identity of the nanoparticles and influences the toxic effect on cells, the diffusion in the body and the absorption into specific cells. When nanotransporters are injected into the bloodstream, it is their protein corona that is actually perceived by the cells. The protein corona is therefore a vital consideration in predicting how nanocarriers interact with cells.

Given the importance of the protein corona in the medical application of nanomaterials, the development of nanocapsules as drug transporters is not just a synthetic challenge. Methods that can characterise the nanocarriers, and in particular the protein corona in the blood, are also needed. Various techniques can be used here. In addition to mass spectrometry studies to analyse the composition of the corona, we at the MPIP are using isothermal titration calorimetry, for example, to study how tightly the proteins are bound to the carrier surface. In addition, dynamic light scattering also tells us whether the nanotransporters are clumping together in the blood. Finally, we can even represent the protein layer on the nanocarriers visually using electron microscopy.

Like all foreign substances, nanocarriers are eliminated in the bloodstream of scavenger cells such as macrophages. For this reason, the nanoparticles are first marked by special proteins, such as immunoglobulins, as foreign bodies. If the nanotransporters are eliminated swiftly from the bloodstream, however, they have no chance of reaching their destination in the body. For this reason, nanotransporters have been equipped with protein-repellent surfaces. The idea behind this is that if no proteins or only a few proteins, such as the immunoglobulins, can absorb on the carrier surface, the nanotransporters should circulate through the bloodstream for longer. Such camouflaged nanotransporters ('stealth' nanocarriers) should not activate the immune system and thus should be able to transport medication reliably to the seat of disease.

Throughout the world, researchers coat nanoparticles like polypeptides, polymer nanoparticles and liposomes with hydrophilic molecules in order to protect them from scav-

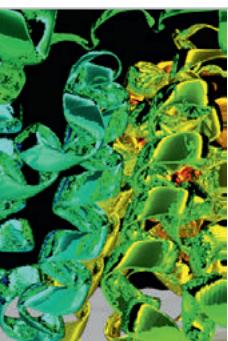
enger cells. Coating the nanotransporters with polyethylene glycol (PEG), a process known as PEGylation, is the standard approach used in such cases. This reduces the unspecific adsorptions of proteins and increases the retention time of nanovehicles in the blood. However, PEGylation does not completely prevent the formation of protein coronae. And that is a good thing, as we at the MPIP found out in an important discovery. It is not a question, as was previously believed, of as few as possible or even no proteins attaching to the surface of a nanotransporter, the important issue is whether the right proteins have accumulated there. In order for the nanoparticles to be hidden from the immune system, they need to have the protein clusterin on their shell. It is precisely this protein that prefers to accumulate on a PEG shell and in this way makes the polymer a good invisibility cloak. In contrast, the nanoparticles cannot camouflage a layer on which other proteins or no proteins at all have settled. This information provides us with a completely new perspective on the mechanism of the stealth effect.



As we now understand the effect better, it has allowed us at the MPIP to be particularly successful in creating nanocontainers that are initially not recognised by any cell in the body. As polyethylene glycol is not biologically degraded, it could build up in the body. We therefore looked for alternative invisibility cloaks for our nanotransporters and found them for example in a shell of modified starch molecules. Nanocapsules made from this polymer can circulate for a relatively long time through the body without initially being recognised by the immune system, but are degraded as soon as they have delivered their payload to the target cells. However, the disadvantage of both PEG and starch as a material for the nanocapsule shell is that they can promote the development of specific antibodies and hypersensitivity reactions in the body. In the case of a repeated dose, antibodies can cause the nanotransporters to be eliminated

faster from the blood. We avoid this by using polyphosphoric acid esters for the shell material. These are degradable and are very similar to nucleic acids, an important building block in the organism. Nanoparticles with a shell made from polyphosphoric acid do not trigger the formation of antibodies and, even with repeated use, remain long enough in the blood to find their target cells.

In order for drug transporters to get to the exact location where they are needed, however, they need a type of address label. We therefore attach molecules to the surfaces of the nanoparticles for which only the target cells, such as tumour cells and so-called dendritic cells in the immune system, have the right receptors. According to the lock and key principle, the address molecules of the nanotransporters lock on to the receptors and are then taken up by the target cells. In a current study at the MPIP, we have equipped the stealth nanocapsules with various address molecules so that the containers are absorbed by dendritic cells. We then analysed the type and number of proteins that accumulated on the nanotransporters. On the whole, we found very few proteins at all on the surface of the nanotransporters and, as in the case of nanoparticles without address molecules, the most frequently found protein was clusterin. The address molecules therefore have very little effect on the protein corona.



WE AIM TO TRANSFER OUR INSIGHTS TO CLINICAL PRACTICE IN THE FUTURE BY COLLABORATING WITH PARTNERS FROM MEDICINE AND THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY.

In another study involving starch nanocapsules, we also established that, conversely, at least one corona consisting of certain proteins does not prevent the address molecule on the capsule surface from attaching to its target receptors and the nanocapsules are absorbed by dendritic cells. Up until now, however, we have only studied how the address molecules attach to the target receptors in the case of a few corona proteins. Understanding exactly how various cor-

ona proteins affect the route of a nanotransporter through the body and to the target cell is crucial to the success of artificial nanotransporters in medicine. For this reason, our future research activities at the MPIP will focus on even better monitoring of the formation of protein coronae as a result of the properties of the nanoparticles and on making the protein coronae useful for specific biomedical applications. Our vision is also to develop 'intelligent' particles from several nested capsules. These can be used to transport vaccines and other necessary adjuvants that stimulate the immune system separately to target cells if they are only supposed to come into contact with one another there. The same applies to combinations of certain drugs that are only supposed to mingle in the target cells or even to operate at different locations. Nested capsules could also penetrate several biological barriers. A nanovehicle that is supposed to transport RNA or DNA into the cell nucleus would first have to penetrate the cell with its outer capsule and then discard the outer shell in order to reach the cell nucleus with an appropriately prepared inner capsule.

Of course we must also pay close attention to the opening mechanism of nested capsules and simple containers. In doing so, we use stimuli that can be applied non-intrusively and very precisely in terms of time and location. Light and temperature are just two of the factors that determine how cargo is released via a molecular opener, a pushbutton as it were, in the capsule wall. However, we also rely on external stimuli that develop when the chemical environment of the nanoparticles changes. Specific chemical conditions in the target cells are of particular interest here. Thus, it is possible that we could open capsules with enzymes that are only present in the target cell. In an opening mechanism, we can also take advantage of the fact that an acidic milieu prevails in tumour cells. The corresponding molecular openers are not only eminently suitable for medicine but also for very different applications such as preventing the corrosion of steel. Here also, the incipient corrosion is associated with a change in the chemical milieu.

Thanks to the insights that we have gained in recent years, we at the MPIP have made considerable progress in the development of nanocontainers especially, but not only, in medicine. We are now beginning, in close cooperation with the Mainz University Medical Center and partners in the pharmaceutical industry, to transfer these fundamental findings to clinical practice. We are therefore confident that, in the near future, treatments will be even more effective and will cause fewer side effects.

Proteomik: Von der Grundlagentechnologie zum universellen Diagnose-Tool



Proteine sind die vielfältigsten und schönsten molekularen Gebilde in der Biologie. Sie erfüllen die Funktionen des Körpers elegant und wirtschaftlich. Proteine verleihen dem Organismus Struktur, von den Haaren bis zu den Sehnen, und orchestrieren ein riesiges Netzwerk biochemischer Funktionen in jeder einzelnen Zelle. Als Hormone dienen sie der Signalübertragung von einem Körperteil zum anderen, und die zelluläre Informationsverarbeitung erfolgt hauptsächlich über Proteinnetzwerke. Kommt es bei nur einem Proteintyp zu einer Funktionsstörung, kann dies eine Krankheit auslösen – man denke nur an Diabetes Typ 1, bei dem das Fehlen des kleinen Proteins Insulin dazu führt, dass Leber- und Muskelgewebe nicht wissen, dass sie nach dem Essen Blutzucker aufnehmen sollen. Krebs ist im Wesentlichen eine Fehlfunktion von Proteinnetzwerken, bei denen überaktive Regulatorproteine den Zellen unaufhörlich den Befehl geben zu wachsen und sich zu teilen – für gewöhnlich aufgrund einer Mutation in den Genen, welche die Blaupause für diese Proteine tragen.

Die Wissenschaft der Genetik hat dieses Konzept ins öffentliche Bewusstsein gerückt, hauptsächlich mittels raffinierter Genanalysen und leistungsstarker Technologien wie Gensequenzierung und Genmanipulation. Der Erfolg der Genetik war so überwältigend, dass der Eindruck entstand, Gene und die diesbezüglichen Unterschiede zwischen Menschen seien allesentscheidend. Diese Sichtweise trifft vom wissenschaftlichen Standpunkt aus nicht zu und führt immer wieder zu fehlgeleiteten politischen Entscheidungen.

Analog zum Genom wird die Gesamtheit aller Proteine in einem biologischen Gebilde als „Proteom“ bezeichnet. Der

Zusammenhang zwischen Proteom und Genom besteht darin, dass jedes Gen die genaue Anleitung für die Herstellung eines oder mehrerer Proteine mit exakt der Reihenfolge der Aminosäuren, wie sie im genetischen Code festgelegt ist, beinhaltet. Die Analyse des Proteoms ist viel schwieriger als die der Gene und der von ihnen hergestellten RNA-Botenmoleküle. Demzufolge hinkte die Proteomik der Genomik bislang hinterher. Dies ändert sich jedoch gerade, und technologische Fortschritte bei der Proteinanalyse kommen nun in vielen Bereichen der Biologie zum Tragen.

Mein eigener Einstieg in dieses Gebiet erfolgte als Doktorand im Rahmen meiner Zusammenarbeit mit John B. Fenn an der Yale Universität. Er hatte eine Technik namens „Eletrospray“ entwickelt, bei der Proteine in einer Flüssigkeit gelöst werden. Anschließend verteilt sich die Flüssigkeit in Form winziger geladener Tröpfchen, die rasch verdunsten. Zurück bleiben geladene Proteine in der Gasphase, die nun leicht der Massenspektrometrie (MS) unterzogen werden können – hier wird „Elefanten das Fliegen beigebracht“, wie John es nannte. Bei der MS handelt es sich um eine unglaublich leistungsstarke Technologie, die die Molekülmasse mit einer Genauigkeit von Teilen pro Million (Parts per million) misst und die Molekülhäufigkeit angibt. Nach einer Fragmentierung der Moleküle im Massenspektrometer in einem Verfahren, das als MS/MS bezeichnet wird, da es zwei MS-Stufen umfasst, kann sie sogar ihre chemische Struktur aufzeigen. Das Eletrospray-Verfahren für Proteine ist ein Beispiel für eine Technologie, die aus einer völlig unerwarteten Richtung aus der Grundlagenforschung kam und ein zentrales Problem der Biologie, Biotechnologie und Biomedizin löste. John Fenn erhielt für seine Entwicklung,

die heute die Basis einer milliardenschweren Industrie ist, im Jahr 2002 gemeinsam mit anderen den Nobelpreis für Chemie.

TECHNOLOGISCHE ENTWICKLUNG IN DER PROTEOMIK

Seit mehr als 20 Jahren nutzen meine und andere Arbeitsgruppen das Elektrospray-Verfahren als eine der zentralen Technologien, um den Traum der Proteomik wahr werden zu lassen: Proteine, Proteinkomplexe und Proteome nahezu vollständig zu charakterisieren. Im Gegensatz zum humanen Genom, das größtenteils vor der Geburt feststeht, ist das Proteom hochdynamisch, und jedes Gen kann viele verschiedene Proteinformen hervorbringen. Zudem können Proteine zur Aktivierung modifiziert werden und interagieren dann miteinander und mit anderen Molekülen in der Zelle. Daher ist die Proteomik – die Wissenschaft von der Erforschung der Proteine im großen Maßstab – eine fortlaufende Suche, die niemals „beendet“ sein wird.

Vor noch nicht allzu langer Zeit hielten viele es für unmöglich, selbst die grundlegendste Herausforderung zu meistern, nämlich mindestens einen Vertreter aller Proteine in einem Organismus zu erforschen. Ein wichtiger Meilenstein wurde kurz nach meinem Wechsel ins Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried erreicht, als wir neue Techniken zur Herstellung von Proteomproben, MS-Technologien und die Analyse riesiger Datens Mengen aus der Massenspektrometrie durch Bioinformatik kombinierten und dadurch das erste vollständige Proteom erhielten, das der Hefe.

Dieser Durchbruch, den wir nach mehr als einem halben Jahr Arbeit 2008 stolz in *Nature* präsentieren konnten, wurde durch das außerordentlich gute wissenschaftliche und soziale Umfeld im Max-Planck-Institut und die großzügige und langfristige Unterstützung durch die Max-Planck-Ge-

sellschaft möglich. Seit dieser Zeit hat der technologische Fortschritt auf dem Gebiet der Proteomik exponentiell zugenommen, so dass wir heute dieselbe Analyse in wenigen Stunden durchführen können – selbst beim komplexeren Proteom der menschlichen Zelle. Durch Elektrospray und Massenspektrometrie erfolgten bereits zahlreiche wichtige biologische Entdeckungen – einige von ihnen leisteten einen Beitrag zu Nobelpreisen auf anderen Gebieten. Dennoch erweist sich die MS-basierte Proteomik erst jetzt in Bezug auf Einsatzmöglichkeiten, Empfindlichkeit und Anwendungs-freundlichkeit als wirklich ausreichend, um ganze Proteome routinemäßig genau charakterisieren zu können. Vom Standpunkt der Anwendbarkeit aus ist dies also eher der Beginn als das Ende dieses Forschungsgebietes. Der Einfluss der MS-gestützten Proteomik ist enorm. Sie wirft ein neues Licht auf verschiedene Bereiche wie die Krebsbiologie, die Architektur von Proteinnetzwerken, die Regulierung der zirkadianen Uhr und die Diagnose des Gesundheitszustands mittels MS-Analyse eines einzelnen Blut tropfens.

Die MS-basierte Proteomik wird hauptsächlich durch die zugrundeliegende Technologie vorangetrieben. Das Max-Planck-Institut für Biochemie ist stolz darauf, seit Jahren an vorderster Front dieser Entwicklungen zu stehen. Dazu gehören effiziente und automatisierbare Methoden zur Probenherstellung, die bestmögliche Auftrennung der enormen Anzahl von Peptiden, die bei jedem Experiment entstehen (oftmals hunderttausende), die Massenspektrometrie selbst und nicht zuletzt die für die optimale Interpretation der Daten genutzte Informatik und Bioinformatik. Über mehr als zwei Jahrzehnte war der technologische Fortschritt zumindest in einigen Aspekten exponentiell, und es gibt auch jetzt kein Anzeichen für eine Verlangsamung. Die Weiterentwicklung der Technologie der Proteomik ist einerseits für die Grundlagenforschung von Bedeutung, andererseits auch von Nutzen für die Unternehmen, mit denen wir zusammenarbeiten. Auch eine Ausgründung aus unserem Institut existiert bereits.

KREBSPROTEOMIK

In den letzten zehn Jahren wurde zunehmend deutlich, dass es sich bei Krebs um eine auf jeder Ebene äußerst heterogene Krankheit handelt. Beispielsweise sind Tumorzellen genetisch unterschiedlich und weisen verschiedene Mutationen auf, die zur Malignität beitragen. Dennoch durchlaufen viele Krebsarten eine festgelegte Entwicklung vom gutartigen Wachstum über aggressive Stadien hin zur Metastasierung. In den verschiedenen Stadien durchgeführte Biopsien



PROTEINE SIND DIE VIELFÄLTIGSTEN UND SCHÖNSTEN MOLEKULAREN GEBILDE IN DER BIOLOGIE.

werden von Pathologen interpretiert, die die Tumore in verschiedene Grade mit jeweils einer anderen Prognose einstufen. Unsere Arbeitsgruppe arbeitet bei dieser Klassifizierung mit Onkologen zusammen. Wir haben beispielsweise das Proteom eines Blutkrebses, des sogenannten großzelligen B-Zell-Lymphoms, das mikroskopisch schwer einzuordnen ist, untersucht und gezeigt, dass hier eine eindeutige Kategorisierung durch MS möglich ist. Bei Darmkrebs haben wir mehr als 10.000 verschiedene Proteine während der Entwicklung vom Adenom über das Karzinom bis hin zur Metastasierung quantitativ erfasst. Beim ersten Blick auf das sich entfaltende Proteom bei Darmkrebs zeigte sich, dass die Tumore im Wesentlichen dieselben Proteine nutzen und der Grund für den Unterschied in den späteren Stadien in erster Linie die Menge der exprimierten Proteine ist.

Vor kurzem stellten wir uns gemeinsam mit Kooperationspartnern an der Universität Chicago die Frage, ob sich ein Unterschied zwischen Frauen mit Eierstockkrebs, die auf eine Chemotherapie ansprechen, und solchen, die nicht darauf ansprechen, feststellen lässt. Tatsächlich fanden wir ein Protein, dass in den Tumoren von Frauen, die gut auf die Chemotherapie ansprachen, stärker exprimiert wurde. Anhand der „Interaktionsproteomik“ (siehe unten) schlossen wir auf eine Funktion dieses Proteins bei der Reparatur von DNA-Schäden und fanden zudem heraus, dass das Immunsystem dazu veranlasst werden kann, auf Zellen, die dieses Protein exprimieren, zu reagieren. Wir versuchen jetzt, die Expression des Proteins bei den Frauen, die ursprünglich nicht auf die Chemotherapie ansprachen, anzuregen, was bei Zellkulturen bereits funktioniert.

ARCHITEKTUR DER PROTEINNETZWERKE

Die Proteine in der Zelle üben ihre Funktionen nicht isoliert aus, sondern „sprechen miteinander“, indem sie ständig mit anderen Proteinen in Wechselwirkung treten – zuweilen in großen Strukturen, sogenannten Proteinkomplexen oder Proteinmaschinen. Ein Beispiel für solche Maschinen sind die Ribosomen; sie sind die eigentlichen „Fabriken“ der Zelle, die die einzelnen Aminosäuren zu Proteinen zusammenbauen und bestehen selbst aus Dutzenden von spezialisierten Proteinen.

Die Aufgabe einer als Proteasom bezeichneten Protein-„Maschinerie“ wiederum ist die Entsorgung von Proteinen durch Zerkleinerung. Die Untersuchung dieses zellulären Interaktionsnetzwerks ist sehr wichtig und ergiebig, da wir viel über die Funktion eines Proteins erfahren können, wenn wir wissen, mit welchen anderen Proteinen es zusammen-

arbeitet. Hier kommt die Proteomik ins Spiel, da sie uns die Isolierung eines Proteins von Interesse gemeinsam mit den Proteinen, die eine Affinität zu ihm haben – seinen Interaktionspartnern – ermöglicht. Wird dieses Affinitätsexperiment nacheinander bei sämtlichen unterschiedlichen Proteinen der Zelle durchgeführt, bildet sich ein Interaktionsnetzwerk heraus, das zeigt, wer mit wem in Wechselwirkung treten kann. Unsere Arbeitsgruppe hat solche Experimente im großen Stil durchgeführt, so dass wir neue Einblicke in die Netzwerkstruktur des Proteoms gewinnen konnten. Es stellte sich heraus, dass relativ wenige Proteine Teil von Proteinmaschinen wie dem oben beschriebenen Ribosom oder Proteasom sind. Stattdessen sind die Wechselwirkungen untereinander bei den meisten Proteinen relativ schwach ausgeprägt und vorübergehender Natur, und dieses Strukturmerkmal ist für die Stabilisierung des zellulären Netzwerks entscheidend.

**DAS ELEKTROSPRAY-VERFAHREN FÜR PROTEINE IST
EIN BEISPIEL FÜR EINE TECHNOLOGIE, DIE AUS
EINER VÖLLIG UNERWARTETEN RICHTUNG AUS DER
GRUNDLAGENFORSCHUNG KAM UND EIN ZENTRALES
PROBLEM DER BIOLOGIE LÖSTE.**

Proteine binden sich zudem an andere große oder kleine Moleküle in der Zelle. Als Transkriptionsfaktoren bezeichnete Proteine treten zum Beispiel mit der DNA in Wechselwirkung und bestimmen auf diese Weise, welche Gene in einer bestimmten Situation an- oder abgeschaltet werden – dies veranschaulicht unmittelbar, wie das Proteom mit dem Genom zusammenwirkt. Solche Transkriptionsfaktor-Komplexe können heute mittels MS-basierter Proteomik effizient sequenziert werden. Hierdurch lassen sich Einblicke in den Entwicklungsprozess von der embryonalen Stammzelle bis zur spezialisierten bzw. differenzierten Zelle gewinnen. Wir haben auch neue Proteine entdeckt, die an der Reparatur der DNA beteiligt sind, nachdem diese durch Strahlung oder chemische Substanzen geschädigt worden ist.

REGULIERUNG DER ZIRKADIANEN UHR UND DER NEURODEGENERATION

Fast jede Spezies verfügt über komplizierte Mechanismen zur Regulierung ihrer zirkadianen Uhr. Wir alle kennen einige der negativen Auswirkungen einer aus dem Takt geratenen inneren Uhr, zum Beispiel Jetlag oder Schlaflosigkeit. Sie geht aber auch mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung von Stoffwechselerkrankungen, Adipositas und Depression einher. Bei der Erforschung der Proteinkomplexe, aus denen die molekulare Maschinerie der zirkadianen Uhr besteht, wurden große Fortschritte erzielt. Darüber, wie genau diese molekulare Uhr Einfluss auf das größere Netzwerk der Zellproteine nimmt, war jedoch nur relativ wenig bekannt. Es wurden zahlreiche Studien zur Messung rhythmischer Genexpression und sogar rhythmischer Proteinexpression durchgeführt, doch die Effekte waren relativ gering.

nen Rhythmus viel über die Proteinfunktion im Allgemeinen lehren können und auch für die Anwendung in der Medizin hilfreich sind.

Wir haben unsere Phospho-Proteomik-Technologie mittlerweile in vielen verschiedenen Bereichen erfolgreich angewandt, unter anderem bei der Erforschung der Neurodegeneration. Bei der erblichen Form der Parkinson-Erkrankung ist eine Proteinkinase namens LRRK2 mutiert und überaktiv. Es existieren zwar bereits chemische Inhibitoren für LRRK2, es war aber nicht bekannt, welche Proteine LRRK2 zur Phosphorylierung ansteuert – eine wichtige Information, wenn man Inhibitoren als Medikamente bei Patienten einsetzen möchte. Bei Anwendung von Mausmodellen und chemischen Werkzeugen, stellten wir fest, dass das relevante Substrat einer bestimmten Proteinklasse, den sogenannten Rab-Proteinen angehört. Rab-Proteine werden in der Arbeitsgruppe von Marino Zerial am Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik in Dresden intensiv erforscht. Wir können nun grundlegende Erkenntnisse hinsichtlich der Zellbiologie von Rab-Proteinen für potentielle therapeutische Ansätze bei Morbus Parkinson beisteuern.

IN DER ZUKUNFT KANN DAS PLASMAPROTEOM-PROFIL EIN SEHR GUTER INDIKATOR FÜR DEN GESUNDHEITSZUSTAND EINES PATIENTEN WERDEN.

Die Funktionen von Proteinen werden jedoch nicht nur durch ihre Menge, sondern auch durch ihren Aktivitätsstatus reguliert. Wenn spezialisierte Proteine, sogenannte Kinasen, Phosphogruppen an andere Proteine anbringen, wirken sich diese sogenannten posttranslationalen Modifikationen auf das Verhalten der Proteine in vielfacher Weise aus. Da sie die Masse der Proteine und Peptide verändern, lassen sich posttranskriptionale Modifikationen mittels Massenspektrometrie leicht und sehr spezifisch nachweisen. Als wir diese Unterart der Proteomik, die sogenannte „Phospho-Proteomik“ anwandten, stellten wir fest, dass die Aktivitätsmuster der vielen tausend Proteine zirkadian eng koordiniert sind. Insbesondere wird die Stoffwechselmaschinerie des Körpers durch umfangreiche Veränderungen der Phosphorylierung reguliert. Dies macht Sinn, da sich der Organismus an die Verfügbarkeit von Nahrung tagsüber und nachts anpassen muss. Wir gehen davon aus, dass uns diese Erkenntnisse in Bezug auf den Proteinaktivierungsstatus bei der zirkadia-

PLASMAPROTEOM-PROFILING

Der Mensch verfügt über etwa sechs Liter Blut, das aus Blutkörperchen und zahlreichen Proteinen besteht, die entweder vorliegen, weil sie eine spezielle Funktion innerhalb des Blutkreislaufs haben, oder weil die Organe, die von dieser Körperflüssigkeit durchströmt werden, sie freisetzen. Bei einer regulären ärztlichen Kontrolluntersuchung oder zur Diagnose einer Krankheit wird häufig die Konzentration eines oder mehrerer Proteine im Blut gemessen. Eine Funktionsstörung der Leber wird beispielsweise routinemäßig anhand der Leberenzymspiegel im Blut diagnostiziert. Es existieren Dutzende dieser „Proteinbiomarker“, die Hinweise auf bestimmte Erkrankungen und Behandlungsmöglichkeiten liefern. Die meisten wurden jedoch bereits vor Jahrzehnten entdeckt, und trotz des lebhaften Interesses von Ärzten und pharmazeutischen Unternehmen werden aktuell nur sehr wenige neue Biomarker entwickelt. Darüber hinaus lässt sich mit den heutzutage klinisch angewendeten Methoden im Allgemeinen nur jeweils ein Proteintyp nachweisen.

Viele unterschiedliche Proteine im Blut mittels Proteomik zu messen und so Krankheiten zu diagnostizieren, ist seit Jahren verlockend. Die technologischen Hürden einer Plasmaproteomanalyse sind jedoch enorm. Die wichtigste Hürde ist der große Unterschied der Proteinkonzentration zwischen den am häufigsten und den am seltensten auftretenden Protei-

nen – das Problem des „dynamischen Bereichs“. Etwa die Hälfte der Proteinmasse im Plasma – dem flüssigen Anteil des Blutes – besteht aus einem einzigen Protein, dem so genannten Albumin, und mehr als 99 % entfallen auf einige wenige, sehr häufig vorkommende Plasmaproteine. Im Gegensatz dazu liegen in sehr kleinen Mengen freigesetzte Hormone wie zum Beispiel Botenproteine des Immunsystems zuweilen in Konzentrationen vor, die um zehn Größenordnungen kleiner sind. Vor ein paar Jahren entschieden wir uns, uns die neuesten Fortschritte der MS-basierten Proteomik zur Analyse des Plasmaproteoms zunutze zu machen. Wir wollten dies auf direktem Wege und in kurzer Zeit tun, um eine Analyse der Plasmaproteome bei vielen verschiedenen Krankheiten zu ermöglichen.

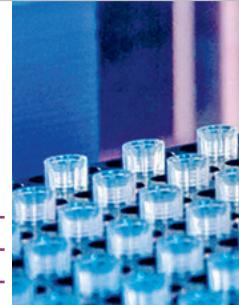
Ausgehend von nur einem einzigen Tropfen Blut, der sich problemlos aus einem Fingerstich gewinnen lässt, und durch Einsatz kürzlich von uns entwickelter neuer MS-Scan-Modi können wir heute etwa 1.000 verschiedene Proteine in sehr kurzer Zeit analysieren. Aktuell bauen wir diese Technologie, die bereits in verschiedenen klinischen Studien zum Thema Gewichtsverlust zum Einsatz kam, weiter aus. Die Proteinmuster können dann mit bestehenden Patientendaten sowie den von Ärzten routinemäßig bestimmten klinischen Daten korreliert werden. Das Plasmaproteom enthält in der Tat eine Fülle von Informationen, anhand derer sich Patienten klassifizieren lassen. In Zukunft, wenn sich immer mehr Korrelationen zwischen Proteinmustern und Krankheitsbildern etabliert haben, wird das „Plasmaproteomprofil“ vielleicht ein sehr guter Indikator für den Gesundheitszustand eines Patienten werden. Darüber hinaus arbeiten wir daran, die Technologie möglichst robust und kostengünstig zu machen, damit sie breitgefächert zur Diagnose von Krankheiten im Frühstadium eingesetzt werden kann und – genauso wichtig – dazu beiträgt, dass Krankheiten gar nicht erst entstehen.

FAZIT

Hauptsächlich aufgrund der technologischen und konzeptuellen Fortschritte bei der MS-basierten Proteomik ist es heute möglich, ein umfassendes und unverfälschtes Bild des Proteoms biologischer Systeme zu gewinnen. In ihren unterschiedlichen Ausformungen ist diese Technologie ein leistungsstarkes Instrument zur Aufklärung biologischer Funktionen. Dies ist nicht nur *per se* interessant, sondern trägt auch zur Wiederherstellung des Gleichgewichts bei zwischen Genomik – definiert durch das seit der Geburt im Wesentlichen unveränderte Genom – und dem dynamischen Zustand des Organismus zu einem beliebigen Zeit-

punkt, seinem Phänotyp, definiert durch das Proteom. Die obigen Beispiele zeigen deutlich, dass die Zeit nun reif dafür ist, die Proteomik von der reinen Grundlagenforschung in die medizinische Praxis zu überführen. Wenn sich die aktuellen Erfolge bei der Analyse von Körperflüssigkeiten wie Blut fortsetzen, könnte dies die medizinische Praxis mittels ausfeilterter Diagnosemöglichkeiten grundlegend verbessern.

DIE ZEIT IST NUN REIF DAFÜR IST, DIE PROTEOMIK VON DER REINEN GRUNDLAGENFORSCHUNG IN DIE MEDIZINISCHE PRAXIS ZU ÜBERFÜHREN.



MATTHIAS MANN
MAX PLANCK INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY, MARTINSRIED

Proteomics: From basic technology to universal diagnostic tool

Proteins are the most diverse and beautiful molecular entities in biology. They carry out the functions of the body with elegance and economy. Proteins impart structure to an organism, from hair to tendons and they orchestrate a vast network of biochemical functions in every cell. As hormones, they signal from one part of the body to another and networks of proteins are the principal means of cellular information processing. Malfunction of even one kind of protein can cause disease – just think of type 1 diabetes where the absence of the small protein insulin makes it impossible to let liver and muscle tissues know that they should take up blood sugar after a meal. Cancer is essentially a malfunction of protein networks in which over-active regulatory proteins do not stop giving the commands for the cells to grow and divide – usually due to a mutation in the genes that carry the blueprint for those proteins.

The science of genetics has propelled the concept of genes into public consciousness, largely on the basis of elegant genetic screens and the powerful technologies of gene sequencing and gene manipulation. The success of genetics has been so overwhelming that it has led to the impression that genes and how they differ between us are all that matters. This view is incorrect scientifically and continues to contribute to misguided policies and politics.

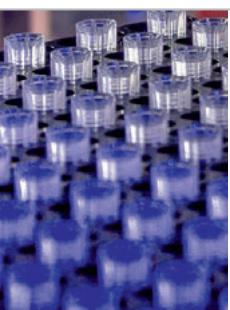
In analogy to the genome, the collection of all proteins in a biological entity is called its 'proteome'. The relationship between proteome and genome is that each gene specifies the instructions for making one or more proteins with the precise sequence of amino acids specified in the genetic code. Analysis of the proteome is much more difficult than the analysis of genes and the RNA message molecules that they produce. As a consequence, proteomics has lagged behind genomics. However, this is now changing and technological advances in the analysis of proteins are now advancing many areas of biology.

My own entry into this field came by working with the late John B. Fenn of Yale University as a Ph.D. student. He had come up with a technology called 'electrospray', in which proteins are dissolved in a liquid that is then induced to disperse into minuscule charged droplets that evaporate rapidly. This leaves charged proteins in the gas phase, where they can readily be subjected to mass spectrometry – 'making elephants fly' as John used to say. MS is an incredibly powerful technology that tells us about the mass of molecules with parts-per-million accuracy, their abundance and – after smashing the molecules into pieces in the mass spectrometer in a procedure called MS/MS because it involves two stages of MS, it can even reveal their chemical structure. Electrospray for proteins is an example of a technology that came from an entirely unexpected direction in basic science to solve a central problem in biology, biotechnology and biomedicine. John Fenn was awarded a share of the Nobel Prize in Chemistry in 2002 for its development and it is now the basis of a billion dollar industry.

TECHNOLOGY DEVELOPMENT IN PROTEOMICS

For more than 20 years, my group and others have built on electrospray as one of the central technologies to make the dream of proteomics come true – to characterize proteins, protein complexes and proteomes to near completeness. In contrast to the human genome, which is largely fixed before birth, the proteome is highly dynamic and each gene can give rise to many different forms of proteins. Furthermore, they can be modified to be activated and they interact with each other and with other molecules in the cell. Therefore, proteomics – the science of studying proteins at a large scale – is an ongoing quest that will never be 'finished'. Not long ago, many thought that even the basic challenge of analyzing at least one representative of all the proteins in an organism is impossible.

An important milestone was reached not long after I joined the Max-Planck Institute of Biochemistry in Martinsried, when we combined developments in the preparation of proteomic samples, MS technologies and the bioinformatic analysis of the massive amounts of MS data and obtained the first complete proteome – that of the yeast model species. This breakthrough, which we proudly presented in *Nature* in 2008 after more than half a year of work, was enabled by the extraordinary scientific and social environment found at Max-Planck and the generous and long-term support by the Society. Since that time, technological advances in proteomics have proceeded at an exponential pace and today we can do the same analysis in a few hours – even for the



PROTEINS ARE THE MOST DIVERSE AND BEAUTIFUL MOLECULAR ENTITIES IN BIOLOGY.

more complex human cellular proteome. Many important biological discoveries have already been obtained on the basis of electrospray and MS – some of them contributing to Nobel Prizes in other fields. Nevertheless, it is only now that MS-based proteomics has really become sufficiently complete in its coverage, sensitivity and ease of use that we can routinely characterize entire proteomes in great depth; so from an applications point of view it is the beginning rather than the end for the field. The reach of MS-based proteomics is extraordinary. It now sheds new light on diverse areas such as cancer biology, protein network architecture, the regulation of the circadian clock and the diagnosis of health or disease by MS-analysis of a single drop of blood.

MS-based proteomics is mainly driven by the underlying technology. The Max-Planck Institute of Biochemistry prides itself on having been at the very forefront of these developments for many years. These include efficient and automatable sample preparation methods, the best possible separation of a very large number of peptides that are generated in each experiment (often hundreds of thousands), the mass spectrometric technology itself and not least the informatics and bioinformatics associated with optimal interpretation of the data. Over more than two decades, technological progress has been exponential at least in some of its aspects and this shows no sign of slowing down. Apart from the direct influence on the basic science that we and others pursue with proteomics, the development in technology is immediately beneficial to the companies that we collaborate with, including a spin-out from our institute.

CANCER PROTEOMICS

The last ten years have made it increasingly clear that cancer is a very heterogeneous disease at every level. For instance, cells in the tumor are genetically diverse and harbor different mutations that contribute to malignancy. Nevertheless, many cancer types follow a set developmental path from benign growth to aggressive stages and metastasis. Biopsies of these stages are obtained and interpreted by pathologists, who classify the tumors into different grades each with their different prognoses. Our group has worked with oncologists to help in this classification. For instance, we have analyzed the proteome of a blood cancer called large B-cell lymphoma, which are very difficult to classify by microscopy, and shown that they can clearly be categorized by MS. In colon cancer, we have quantified more than 10,000 different proteins in the progression of adenoma, through carcinoma and metastasis. This first

view of the evolving proteome of colon cancer showed that the tumors largely use the same set of proteins and that the difference in the later stages is largely in the quantity of proteins expressed.

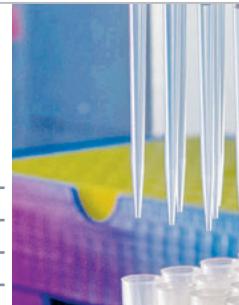
Very recently, and working with collaboration partners at Chicago University, we asked if we could determine a difference between women with ovarian cancer that would respond to chemotherapy and those that would not. Indeed, we found a protein that was more highly expressed in the tumors of women with a good response to the chemotherapy. Using ‘interaction proteomics’ (see below), we deduced a function of this protein in the repair of DNA damage and we also determined that the immune system can be made to react to cells expressing this protein. One strategy is now to try to induce expression of the protein in the women that did not respond to chemotherapy initially, something that we have already shown to work in principle in cells in the petri dish.

ELECTROSPRAY FOR PROTEINS IS AN EXAMPLE OF A TECHNOLOGY THAT CAME FROM AN ENTIRE UNEXPECTED DIRECTION IN BASIC SCIENCE TO SOLVE A CENTRAL PROBLEM IN BIOLOGY.

PROTEIN NETWORK ARCHITECTURE

The proteins in the cell do not perform their functions alone. Rather they constantly ‘talk to each other’ by interacting with other proteins, sometimes in large structures called protein complexes or protein machines. An example of such machines are the ribosomes, which are the factories in each cell that actually string together the proteins from individual amino acids and which themselves consist of dozens of specialized proteins. Likewise, there is a protein “machinery” called the proteasome, which is charged with disposing of proteins by chopping them into small pieces.

Determining this cellular interaction network is very important and fruitful because we can learn much about the function of a protein when we know which other proteins it works with. Here proteomics comes into the picture be-



cause it allows us to isolate a protein of interest together with the proteins that have an affinity for it – its interaction partners. Doing this affinity proteomics experiment with all the different proteins of the cell one after another generates the interaction network of who can interact with whom. Our group has performed several such experiments, which has allowed us to gain novel insights into the network structure of the proteome. It turns out that relatively few proteins are members of protein machines like the ribosome and proteasome described above. Instead, most proteins interact relatively weakly and transiently with each other and this architectural feature is crucial to stabilize the network of the cell.

Proteins also bind to other large or small molecules in the cell. For instance, proteins called transcription factors interact with the DNA, where they determine which genes are turned on or off in any given situation – a direct illustration of how the proteome works side by side with the genome. Such transcription factor complexes can now efficiently be sequenced by MS-based proteomics. This helps to obtain insights into the process of development from embryonal stem cells to specialized or differentiated cells. Likewise, we have discovered new proteins that help to repair the DNA after it has been damaged by radiation or by chemicals.



**IN THE FUTURE THE PLASMA PROTEOME PROFILE
MAY BECOME A VERY BROAD INDICATOR OF
A PERSON'S CONDITION.**

Regulation of the circadian clock and of neurodegeneration. Almost all species have intricate mechanisms to regulate their circadian clock. We are all familiar with some of the detrimental effects of a deregulated clock such as jet lag and insomnia but they also include higher likelihood of metabolic diseases, obesity and depression. Great advances have been made in uncovering the protein complexes that constitute the molecular machinery of the circadian clock. However, relatively little was known about how this molecular clock exerts its functions on the broader network

of cellular proteins. Many studies have been performed to measure rhythmic gene and even rhythmic protein expression but the effects were relatively small. However, the functions of proteins are not only regulated by their amount but also by their activity status. When small molecules such as phospho-groups are attached by specialized proteins called kinases, these so-called post-translational modifications influence the behavior of proteins in many ways. Because they change the mass of proteins and peptides, post-translational modifications are readily and very specifically detected by mass spectrometry. Applying this flavor of proteomics, called 'phospho-proteomics', we discovered that the activity patterns of the thousands of proteins is tightly coordinated in a circadian manner. Specifically, large-scale phosphorylation changes tune the metabolic machinery of the body. This makes sense, because the organism needs to adapt to the availability of food during day and night. We expect that this global knowledge of protein activation status in the circadian rhythm will teach us much about protein function in general and that it will also be useful in medical applications.

We have now successfully applied our phospho-proteomics technology in many different areas, among them to study neurodegeneration. In the inherited form of Parkinson's disease a protein kinase called LRRK2 is mutated and overactive. Chemical inhibitors to LRRK2 already exist but it was not known what the proteins are that LRRK2 targets for phosphorylation – an essential piece of information if we want to use the inhibitors as drugs in patients. Using mouse models and chemical tools provided by a consortium of researchers, we discovered that the relevant substrate is a class of proteins called Rab proteins. Rabs are studied intensively in Marino Zerial's group at the Max-Planck institute in Dresden and we can now bring a large body of basic cell biological knowledge of Rabs to potential therapeutic approaches against Parkinson's disease.

PLASMA PROTEOME PROFILING

Humans have about six liters of blood, which consists of blood cells and many proteins that are either present because they have a specific function in the circulation or because they are released from the organs that are perfused by this body fluid. At a regular medical checkup or when diagnosing a disease, the concentration of one or more proteins in the blood is often measured. For instance, malfunction of the liver is routinely diagnosed by the levels of liver enzymes in the blood. There are dozens of these 'protein biomarkers', which can help indicate particular diseases and

treatment options. However, most of them were discovered decades ago and despite keen interest by doctors and pharmaceutical companies, only very few new biomarkers are currently being developed. Furthermore, the methods used in the clinic today can generally only detect one type of protein at a time.

The attraction of using proteomics to measure many different proteins in the blood and thereby diagnose disease, has been clear for many years. However, the technological hurdles to plasma analysis are daunting. The greatest one is the large difference in protein concentration between the most abundant proteins and the least abundant ones – the 'dynamic range' problem. About half of the protein mass in the plasma – the liquid portion of blood – consists of a single protein called albumin and more than 99% is taken by a few very abundant plasma proteins. In contrast, very low level hormones, such as messenger proteins of the immune system, are sometimes present in concentrations that are ten orders of magnitude less. A few years ago, with the latest advances in MS-based proteomics in hand, we decided to revisit the analysis of the plasma proteome. We wanted to do this in a straightforward and rapid manner, potentially allowing the analysis of plasma proteomes in many different conditions.

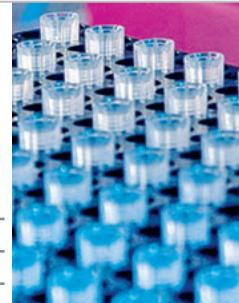
Starting with only a single drop of blood, easily obtained from a finger prick, and employing new MS scan modes that we have recently developed, we can now analyze about 1000 different proteins very rapidly. Currently, we are scaling up this technology and we have already applied it to measured several clinical studies dealing with weight loss. The protein patterns can then be correlated to existing patient data and to the clinical data that doctors routinely determine. It turns out that the plasma proteome contains a wealth of data that can be used to classify the patients. In the future, as more and more correlations of protein patterns with disease and health states are established, the 'plasma proteome profile' may become a very broad indicator of a person's condition. We are also working on making the technology as robust and economical as possible, so that it can be applied very broadly to diagnose disease at early stages and – as importantly – to help individuals to stay healthy in the first place.

CONCLUSION

Largely driven by technological and conceptual advances in MS-based proteomics, it is now possible to obtain a broad and unbiased picture of the proteome of biological systems. In its different forms, this technology is a powerful means to

elucidate biological functions. Not only will this be interesting in its own right but it will also help to redress the balance between genomics – as defined by the largely unchanging genome that we have from birth – and the dynamic state of an organism at any time, its phenotype as reflected by its proteome. Furthermore, the examples given above clearly show that the time is now ripe for proteomics to have large role in translating basic science to medical applications. Indeed, if the current successes in the analysis of body fluids such as the blood are sustained then MS-based proteomics may fundamentally improve medical practice through better diagnosis.

**THE TIME IS NOW FOR PROTEOMICS TO HAVE
A LARGE ROLE IN TRANSLATING BASIC SCIENCE TO
MEDICAL APPLICATIONS.**



Max-Planck-Innovation – die Technologietransfer-Organisation der Max-Planck-Gesellschaft

Max Planck Innovation – the Technology Transfer Organization of the Max Planck Society

Die Max-Planck-Innovation GmbH ist verantwortlich für den Technologietransfer aus den Max-Planck-Instituten. Unter dem Motto „Connecting Science and Business.“ versteht sich das Tochterunternehmen der Max-Planck-Gesellschaft als Partner für Wissenschaftler ebenso wie für die Wirtschaft. Es bietet zukunftsorientierten Unternehmen einen zentralen Zugang zu Know-how und schutzrechtlich gesicherten Erfindungen der 84 Institute und Einrichtungen der Max-Planck-Gesellschaft. Dabei vermarktet Max-Planck-Innovation in erster Linie Erfindungen aus dem biologisch-medizinischen sowie dem chemisch-physikalisch-technischen Bereich. Als Partner für die Max-Planck-Wissenschaftler berät und unterstützt Max-Planck-Innovation diese sowohl bei der Evaluierung von geistigem Eigentum und der Anmeldung von Patenten als auch bei der Gründung von Unternehmen auf Basis von Technologien, die an einem Max-Planck-Institut entwickelt wurden.

Damit erfüllt Max-Planck-Innovation eine wichtige Aufgabe: Sie fördert die Übertragung wissenschaftlicher Erkenntnisse in wirtschaftlich nutzbare Produkte und Dienstleistungen und schafft neue Arbeitsplätze am Standort Deutschland.

Pro Jahr evaluiert Max-Planck-Innovation durchschnittlich 130 Erfindungen, von denen etwa die Hälfte zu einer Patentanmeldung führt. Seit 1979 wurden ca. 4.000 Erfindungen begleitet und rund 2.400 Verwertungsverträge abgeschlossen. Seit Anfang der 1990er-Jahre sind 130 Firmenausgründungen aus der Max-Planck-Gesellschaft hervorgegangen, von denen die weit überwiegende Mehrzahl von Max-Planck-Innovation aktiv betreut wurde. In diesen Ausgründungen wurden seitdem rund 3.430 Arbeitsplätze geschaffen. Seit 1979 wurde ein Gesamtumsatz inkl. Beteiligungsverkäufen von 403 Mio. Euro erzielt.

Max Planck Innovation is responsible for technology transfer from the Max Planck institutes. Guided by the motto “connecting science and business,” the subsidiary of the Max Planck Society is a partner of both science and business. It offers future-orientated companies central access to the expertise and intellectual property of the 84 institutes and organizations of the Max Planck Society. Max Planck Innovation mainly markets inventions from the biomedical and chemophysical fields. As a partner of Max Planck scientists, Max Planck Innovation advises and supports them both in evaluating intellectual property and registering patents and in setting up companies based on technologies developed by a Max Planck institute.

Thus, Max Planck Innovation plays an important role: It promotes the translation of scientific findings into commercially useful products and services and creates new jobs in Germany.

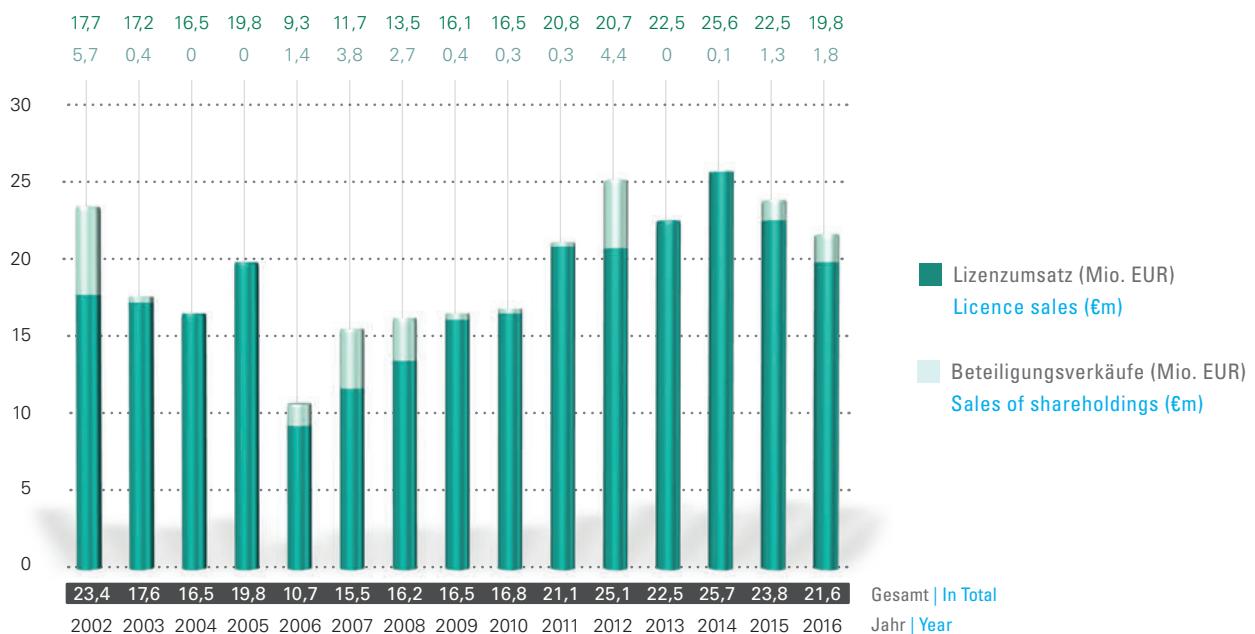
Every year Max Planck Innovation evaluates on average 130 inventions, around half of which lead to a patent application. Since 1979, it has promoted some 4,000 inventions and concluded 2,400 exploitation agreements. Since the early 1990s, 130 companies have been spun off from the Max Planck Society, and Max Planck Innovation has been involved in the vast majority of them. Since then, around 3,430 jobs have been created in those companies. A total turnover, including share sales of 403 million euros, has been achieved since 1979.

In 2016, Max Planck Innovation registered 121 inventions (2015: 139) and concluded 79 exploitation agreements (including agreements on joint inventions/technology transfer agreements) (2015: 71). Exploitation revenues are expected to reach 21.6 million euros (2015: 23.8 million euros). This includes residual proceeds payments of around 1.8 million euros.

ZAHL DER AUSGRÜNDUNGEN | NUMBER OF SPIN-OFFS



VERWERTUNGSERLÖSE | EXPLOITATION REVENUES



Verwertungserlöse in Mio. Euro (für 2016 sind endgültige Zahlen erst ab Mitte 2017 verfügbar)

Exploitation revenues in euro millions (final figures for 2016 will not be available until mid-2017)

Im Jahr 2016 wurden der Max-Planck-Innovation 121 Erfindungen gemeldet (2015: 139) und 79 Verwertungsverträge (inkl. Vereinbarungen zu Gemeinschaftserfindungen/ TT-Vereinbarungen) abgeschlossen (2015: 71). Die Verwertungserlöse betragen voraussichtlich 21,6 Mio. Euro (2015: 23,8). Zu diesem Erlös trugen Resterlöszahlungen von rd. 1,8 Mio. Euro bei (2015: 1,3 Mio. Euro), die aus einem Unternehmensverkauf von 2015 resultieren. Die endgültigen Zahlen für das Geschäftsjahr 2016 liegen aufgrund der nachgelagerten Abrechnung verschiedener Lizenznehmer erst ab Mitte 2017 vor. Die Verwertungserlöse kommen den jeweiligen Max-Planck-Instituten und den Erfindern sowie der Max-Planck-Gesellschaft zu Gute.

2016 gingen im Gründungsbereich elf Ausgründungen aus unterschiedlichen Max-Planck-Instituten hervor, die von Max-Planck-Innovation betreut wurden. Es konnten zwei Neubeteiligungen sowie eine wirtschaftliche MI-Erlösbe teiligung noch in 2016 abgeschlossen werden. Mehrere Neubeteiligungen oder wirtschaftliche Erlösbe teiligungen befinden sich in unterschiedlich weit fortgeschrittenen Verhandlungsstadien. Drei Ausgründungsprojekte konnten für ihre Vorgründungsphase Fördermittel von insgesamt mehreren Millionen Euro aus Go-Bio, dem M4 Award sowie einem EU-Programm zur Technologievalidierung und Gründungsvorbereitung einwerben. Zudem konnte eine Ausgründung mit einer Auftragsfinanzierung starten. Eine weitere Ausgründung mit Max-Planck-Beteiligung konnte eine Serie-B-Finanzierung abschließen. Leider musste eine Firma mit MPG-Beteiligung 2016 Insolvenz anmelden. Das Gesamt-Portfolio der MPG besteht somit zum 31.12.2016 aus 16 aktiven Max-Planck-Beteiligungen, davon eine wirtschaftliche Erlösbe teiligung.

FLASH-TECHNOLOGIE – JENS FRAHM IN DIE HALL OF FAME DER DEUTSCHEN FORSCHUNG AUFGENOMMEN

FLASH ist das bislang erfolgreichste Patent, das Max-Planck-Innovation vermarktet hat. Das Patent hat rund 155 Millionen Euro an Lizenzennahmen für die Max-Planck-Gesellschaft, das Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie sowie die Erfinder generiert. 2016 wurde der Physiker Jens Frahm, Leiter der Biomedizinischen NMR Forschungs GmbH am MPI für biophysikalische Chemie und Erfinder von FLASH, in die „Hall of Fame der deutschen Forschung“ aufgenommen. Das Manager Magazin würdigte den For scher damit für seine bahnbrechenden Weiterentwicklungen der Magnetresonanz-Tomografie (MRT). Dank der von ihm erfundenen FLASH-Technologie ist die MRT heute das bedeutendste bildgebende Verfahren in der klinischen Dia

ros (2015: 1.3 million euros) resulting from the sale of a company in 2015. The final figures for the 2016 financial year will not be available until mid-2017 due to the deferred accounting of a number of licensees. The royalties will benefit the Max Planck institutes, the inventors and the Max Planck Society.

In 2016, 11 spin-offs emerged from various Max Planck institutes that were supported by Max Planck Innovation. Two new subsidiaries and a commercial profit-sharing company were founded in 2016. Several new subsidiaries and profit-sharing companies are at various advanced stages of negotiation. Three spin-off projects managed to secure funding for their pre-founding phase to the tune of several million euros from Go-Bio, the M4 Award and an EU technology and foundation preparation programme. In addition, a spin-off was launched through order financing. Another spin-off with Max Planck participation secured series B funding. Unfortunately, one company in which the MPG had an interest filed for bankruptcy in 2016. As at 31 December 2016, the MPG portfolio therefore comprised 16 active Max Planck subsidiaries, of which one was a commercial profit-sharing company.

FLASH TECHNOLOGY: JENS FRAHM ADMITTED TO THE HALL OF FAME OF GERMAN RESEARCH

FLASH is the most successful patent that Max Planck Innovation has ever marketed. The patent has generated around 155 million euros in licensing revenues for the Max Planck Society, the Max Planck Institute for Biophysical Chemistry and the inventors. In 2016, the physicist Jens Frahm, head of Biomedizinische NMR Forschungs GmbH at the MPI for Biophysical Chemistry and the inventor of FLASH, was inducted into the Hall of Fame of German Research. In doing so, Manager magazine singled out the researcher for his

gnostik und weltweit im Einsatz. Eine erst vor kurzem von Frahm entwickelte Erweiterung (FLASH 2) beschleunigt die MRT-Aufnahmen noch einmal deutlich und ermöglicht sogar Echtzeit-Filme aus dem Inneren des Körpers.

Das neue Echtzeit-MRT wird bereits an der Universitätsmedizin Göttingen und mehreren anderen Universitäten, darunter in Oxford (UK) sowie der Johns Hopkins University (USA), für den klinischen Einsatz erprobt. Der Sprecher des Vorstands Forschung und Lehre und Dekan der Universitätsmedizin Göttingen, Prof. Heyo K. Kroemer betont in seiner Laudatio, dass die klinische Bildgebung als wichtiges diagnostisches Werkzeug ohne MRT heute nicht denkbar sei. Weltweit fänden jeden Tag unzählige Aufnahmen statt. Voraussetzung dafür sei die Möglichkeit der schnellen Auswertung. Die Erfindung der FLASH-Technologie durch Jens Frahm und die konsequente Implementierung durch seine Arbeitsgruppe hätten somit die Basis für ein diagnostisches Werkzeug geschaffen, ohne das die moderne Medizin nicht denkbar wäre. Die Weiterentwicklung dieser Überlegungen hin zu Echtzeitaufnahmen von bewegten Organen (zum Beispiel des schlagenden Herzens) im Rahmen von FLASH 2 stelle einen ähnlichen Innovationshub wie die FLASH-Technologie dar. Wenn diese Real-Time-MRT flächendeckend implementiert ist, ergeben sich daraus ganz neue diagnostische Möglichkeiten. Jens Frahm habe durch die konsequente Beschäftigung mit der MRT Fortschritte ermöglicht, die täglich einer großen Zahl von Patienten zu Gute kommen.

LIZENZVERTRÄGE

Die Firma Abberior Instruments GmbH hat die STED-Technologie der nächsten Generation lizenziert. Die STED-Mikroskopie ist eine mit dem Nobelpreis ausgezeichnete

breakthrough developments in magnetic resonance imaging (MRI). Thanks to the FLASH technology he invented, MRI is now the most important imaging method in clinical diagnostics and is used worldwide. A recent development by Frahm (FLASH 2) has made magnetic resonance imaging even faster, allowing videos of the interior of the body to be obtained in real time.

The new real-time MRI has already been tested for clinical use at the University of Göttingen and several other universities, including Oxford (UK) and Johns Hopkins University (USA). In his laudatory speech, Professor Heyo K. Kroemer, speaker of the Research and Teaching Board and dean of the Göttingen Medical School, pointed out that clinical imaging as a vital diagnostic tool would be unthinkable today without MRI. Countless MRI scans are performed around the world every day. All this depends on the possibility of fast analysis, Kroemer commented. The invention of FLASH technology by Jens Frahm and its systematic implementation by his working group therefore created the basis for a diagnostic tool, without which modern medicine would be inconceivable. Refinement of the technology (FLASH 2) to the point that real-time images of moving organs can be captured (for example movements of the beating heart), he said, is an innovative breakthrough on a par with the invention of the FLASH technology. If this real-time MRI is broadly implemented, it will open up entirely new diagnostic possibilities. Thanks to his unwavering commitment to MRI, Jens Frahm has achieved advances that benefit a large number of patients every day, Kroemer said.

LICENSING AGREEMENTS

Abberior Instruments GmbH has licensed the next-generation of STED technology. STED microscopy is a Nobel-Prize-

Technologie, mit der sich hoch aufgelöste Fluoreszenzbilder weit unterhalb der Beugungsgrenze erzeugen lassen. Forscher des Max-Planck-Instituts für biophysikalische Chemie in Göttingen haben Anfang des Jahres ihr innovatives „Protected STED-Konzept“ vorgestellt, das nicht nur den Bildkontrast verbessert, sondern auch das Ausbleichen der Bilder in der STED-Mikroskopie um bis zu eine Größenordnung reduziert. Diese Erfindung, so die Erwartungen, wird insbesondere den Anwendungen im Life Cell Imaging und in der Medizintechnik Auftrieb verleihen.

Eine Lizenzvereinbarung im Bereich der Optogenetik mit der amerikanischen Firma Photoswitch Biosciences stellt die Basis für eine neue Plattform zur Suche und Testung neuer Kandidaten für Medikamente dar. Mit lichtempfindlichen Channelrhodopsin-Proteinen können Wissenschaftler auf völlig neue Weise erforschen, wie die Kandidaten für ein neues Medikament auf kritische Funktionen von Herz- und Nervenzellen wirken. Die von Max-Planck Wissenschaftlern entdeckten Proteine werden dabei in Versuchszellen eingebracht und mit einem Gerät der Firma Photoswitch Biosciences dazu genutzt, die Funktion anderer Ionenkanäle zu steuern. Die Überwachung winziger Spannungsänderungen in der Zelle erlaubt es den Wissenschaftlern, chemische Substanzdatenbanken nach neuen Wirkstoffen zu durchsuchen oder abzuschätzen, wie sicher neue Medikamente für den Einsatz am Menschen sind.

AUSGRÜNDUNGEN

Die Firma Ambiverse GmbH wurde nach erfolgreicher Förderung im Rahmen des EXIST-Forschungstransfers 2016 gegründet. Ambiverse, ein Ausgründungsprojekt des Max-Planck-Instituts für Informatik in Saarbrücken, hat eine neue Software zum maschinellen Verstehen von Texten entwickelt, das Unternehmen den Zugang zu mehr relevanten Informationen im Internet und besseren Zugriff auf Informationen in eigenen Datenbeständen eröffnet.

Eine weitere Neugründung ist die Cardior Pharmaceuticals GmbH, eine gemeinsame Ausgründung der Medizinischen Hochschule Hannover und des Max-Planck-Instituts für biophysikalische Chemie in Göttingen. Die Firma arbeitet an der Entwicklung eines Medikaments zur Behandlung von Gewebeschädigungen nach einem Herzinfarkt. Die Technologie wurde bereits durch verschiedene präklinische Experimente validiert.

Die Vaxxilon AG wurde zum „Science Start-up des Jahres 2016“ gekürt. Unter dem Motto „Brücken bauen, Grenzen

winning technology that allows high-resolution fluorescence images to be generated far below the diffraction limit. At the beginning of the year, researchers at the Max Planck Institute for Biophysical Chemistry in Göttingen presented their innovative protected STED concept, which not only improves image contrast but also reduces image fading in STED microscopy by as much as one order of magnitude. This invention is expected to lend impetus to applications in live cell imaging and medical technology.

A licensing agreement in the field of optogenetics with the American company Photoswitch Biosciences is the basis for a new platform for the screening and testing of new drug candidates. Using light-sensitive channelrhodopsin proteins, scientists are able to explore how drug candidates affect critical cardiac and neural functions in a radically new way. The proteins, discovered by Max Planck scientists, are introduced into experimental cells and used in conjunction with a device from Photoswitch Biosciences to control the function of other ion channels. By monitoring tiny voltage changes in cells, scientists are able to search chemical substances databases for new drugs and evaluate how safe they are for human use.

SPIN-OFFS

Ambiverse GmbH was founded after successful promotion within the framework of EXIST Research Transfer 2016. Ambiverse, a spin-off project of the Max Planck Institute for Informatics in Saarbrücken, has developed a new software program for the machine comprehension of texts that allows companies to access more relevant information on the Internet and improves access to information in their own databases.

Another new company is Cardior Pharmaceuticals GmbH, a joint spin-off of Hanover Medical School and the Max Planck Institute for Biophysical Chemistry in Göttingen. The company is working on the development of a drug for the treatment of tissue damage after a myocardial infarction. The technology has already been validated by various preclinical experiments.

Vaxxilon AG was named Science Start-up of 2016. Under the motto “building bridges, transcending borders,” 23 start-up companies presented their research projects at the Falling Walls Venture science competition on 8 November in Berlin. The company nominated by Max Planck Innovation, Vaxxilon, emerged as the winner and was awarded for its development of carbohydrate-based vaccines. The new vaccines should cut the cost of immunizations, thereby also improving access to vaccines in poorer countries.

„überwinden“ stellten sich am 8. November auf dem Start-up Wettbewerb Falling Walls Venture in Berlin 23 Start-Up Unternehmen vor. Das von Max-Planck-Innovation nominierte Unternehmen Vaxxilon ging als Gewinner hervor und wurde für die Entwicklung Kohlenhydrat-basierter Impfstoffe ausgezeichnet. Die neuartigen Wirkstoffe sollen Impfungen gegen bakterielle Infektionen in Zukunft kostengünstiger und hitzestabilier machen und so auch den Zugang zu Impfstoffen in ärmeren Ländern verbessern.

FÖRDERUNG VON AUSGRÜNDUNGEN UND INNOVATIONSFÄHIGKEIT

Mit dem Programm „Enabling Innovation“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) unterstützt Max-Planck-Innovation Institute dabei, ihre Innovationsfähigkeit kreativ zu analysieren und zu optimieren. So erfahren Institute und ihre Mitarbeiter im Rahmen eines Workshops, über welche Innovationskraft sie jetzt schon verfügen, identifizieren versteckte Innovationshindernisse und entwickeln effektivere Innovationstrategien, die es dem Institut erlauben, Innovationen effizient voranzutreiben.

FUNDING OF SPIN-OFFS AND INNOVATIVE CAPACITY

Through the Enabling Innovation programme of the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF), Max Planck Innovation is helping institutes to creatively analyze and optimize their ability to innovate. Institutes and their employees can attend a workshop to learn about the innovative capacity they already possess, identify hidden obstacles to innovation and develop more effective strategies that enable the institute to drive forward innovations efficiently.

The new Expertise Meets Innovation (EMI) project was successfully launched in 2016 to promote spin-off projects. The use of industry experts provides industry-specific know-how and expertise (market knowledge, industry-specific quality and development standards, etc.) to scientists in founding, licensing and patent projects. In 2016, eight external experts were deployed, who have so far successfully supported five projects.

MPG-AUSGRÜNDUNGEN SEIT 1990 | MPS SPIN-OFFS SINCE 1990

130 Ausgründungen, davon

96 Projekte aktiv von Max-Planck-Innovation begleitet

57 mit Venture Capital und/oder durch Privatinvestoren finanziert

7 börsennotierte Firmen

24 M&A-Deals

ca. 3.430 Arbeitsplätze

8 Beteiligungen bzw. wirtschaftliche Erlösbeteiligungen von Max-Planck-Innovation, davon eine insolvent und eine in Liquidation

42 MPG-Beteiligungen, davon 14 Exits, 3 Liquidationen und 9 Abschreibungen, mithin 16 aktive Beteiligungen (davon eine wirtschaftliche Erlösbeteiligung)

130 spin-offs

96 projects actively managed by Max Planck Innovation

57 capital venture companies (of which 13 with corporate financing) and/or privately financed companies

7 listed companies

24 M&A deals

Around 3,430 jobs

8 subsidiaries or commercial profit-sharing companies of Max Planck Innovation, of which one is insolvent and one is in liquidation

42 MPG subsidiaries, of which 14 exits, 3 liquidations and 9 write-downs, including 16 active companies (one of which is a commercial profit-sharing company)

Zur Förderung von Ausgründungsvorhaben wurde 2016 das neue Projekt „Expertise Meets Innovation“ (EMI) erfolgreich gestartet. Der Einsatz von Industrie-Experten vermittelt dabei Wissenschaftlern in Gründungs- aber auch Lizenz- bzw. Patentprojekten primär industriespezifisches Know-how und Expertise (z.B. Marktkenntnis, industriespezifische Qualitäts- und Entwicklungsstandards, etc.). 2016 kamen bereits acht externe Expertinnen und Experten zum Einsatz, die damit bisher fünf Projekte erfolgreich unterstützen konnten.

INKUBATOREN

Um Erfindungen, die unter anderem aus der Grundlagenforschung der Max-Planck-Institute stammen, industrielikompatibel oder gemäß den Anforderungen von Eigenkapitalinvestoren zu validieren und damit näher an die Industrie und den Markt heranzubringen, hat Max-Planck-Innovation in den vergangenen Jahren verschiedene Inkubatoren ins Leben gerufen. Auch 2016 gab es bei diesen zahlreiche positive Entwicklungen.

Seit 2016 kooperieren die Lead Discovery Center GmbH (LDC) und Boehringer Ingelheim, um gemeinsam neue Ansätze zur Behandlung von Schizophrenie zu entwickeln. So haben das LDC, Max-Planck-Innovation und Boehringer Ingelheim International GmbH einen Vertrag unterzeichnet, mit dem Boehringer Ingelheim die Option erhält, eine neue Wirksubstanz zur Behandlung von Schizophrenie exklusiv zu lizenziieren, die derzeit am LDC entwickelt wird. Darüber hinaus wird das LDC nun mit der UGISense AG kooperieren, um innovative Wirkstoffe unter Einsatz der „UgimerTM Antisense-Plattform“ zu entdecken, die von der UGISense AG entwickelt wurde.

Im Rahmen des ersten Förderprojekts des Kanada/Deutschland Förderprogramms erhalten das LDC und die kanadische McGill University in Montréal \$1 Million Förderung für die gemeinsame Wirkstoffforschung. Ferner hat das LDC eine Industriepartnerschaft zur Erforschung innovativer Medikamente mit Roche abgeschlossen. Der Fokus liegt dabei auf Krankheitsgebieten mit einem dringenden medizinischen Bedarf.

Die Life Science Inkubator GmbH (LSI) hatte 2016 folgende Projekte in der Inkubation: Die Projektgruppe EPN entwickelt Protein-Nanopartikel, die es erlauben, Wirkstoffe zielgerichtet und nebenwirkungsarm zu transportieren. Ziel des Projektes InfanDx ist die Markteinführung eines Testsystems zur rechtzeitigen Diagnose eines Sauerstoffmanagements bei Neugeborenen. Mit Hilfe einer bei VesselSens in

INCUBATORS

In recent years, Max Planck Innovation has created several incubators with a view to validating inventions, some of which are derived from basic research carried out by the Max Planck Institutes, in accordance with the requirements of equity investors and therefore in a manner better tuned to the industry and the market. In 2016, the incubators once again produced a raft of positive developments.

Since 2016, Lead Discovery Center GmbH (LDC) and Boehringer Ingelheim have been working together to develop new approaches to the treatment of schizophrenia. For example, LDC, Max Planck Innovation and Boehringer Ingelheim International GmbH have signed an agreement giving Boehringer Ingelheim an exclusive option to license a new drug for the treatment of schizophrenia that is currently being developed at the LDC. In addition, LDC is working with UGISense AG to discover innovative compounds using the UgimerTM antisense platform developed by UGISense AG.

As part of the first grant project of the Canadian-German Grant Program, LDC and the McGill University in Montreal will receive \$ 1 million in funding for joint drug discovery. In addition, LDC has entered into an industry partnership to research innovative drugs with Roche. The focus is on disease entities with an urgent medical need.

Life Science Incubator GmbH (LSI) had the following incubation projects in 2016: The EPN project group is developing protein nanoparticles that make it possible to transport drugs effectively while minimizing side effects. The aim of the InfanDx project is to launch a test system for the early

der Entwicklung befindlichen Sensortechnologie soll ohne invasiven Eingriff die Detektion erneuter Gefäßverengungen in einem Stent (Restenose) durchführbar werden. Die Projektgruppe NanoscopiX entwickelt spezielle Kühlkammern für die fluoreszenzmikroskopische und spektroskopische Analytik. Und das Team von ProDetekt entwickelt moderne Biomarker-Assays für die biomedizinische Forschung und medizinische in-vitro-Diagnostik.

Die IT Inkubator GmbH in Saarbrücken konnte 2016 einige sehr erfolgversprechende Projekte aufnehmen: Uvibo ist ein neuer Ansatz aus dem Bereich des maschinellen Lernens zur Darstellung dynamischer Inhalte im Web. HDR Everywhere ist eine neue Technologie für die Erstellung hochwertiger HDR (High Dynamic Range) Bilder mit bewegten Objekten. K|Lens hat einen Prototyp bestehend aus einer optomechanischen Komponente sowie Software für den photographischen Markt entwickelt. Die neue Reiseplattform TripAround ist ShareEconomy für Rundreiseerfahrungen und soll die Vorbereitungszeit von Rundreisen verkürzen.

Die Photonik Inkubator GmbH inkubierte drei Projekte mit wirtschaftlich großem Potential: Das FiberLab Team entwickelt eine Glasfaser, die z.B. in Gehirnkathetern eingesetzt werden kann. SUPERLIGHT Photonics erarbeitet eine Fluoreszenz-anregende MikroLED-Plattform für Medizin-, Biotechnik und Biophotonik-Anwendungen. Das Projekt Patientensicherheit 4.0 will mit Hilfe eines Analyseautomaten die fehlerhafte Vergabe von Medikationen in der Intensivmedizin vermeiden.

diagnosis of oxygen deficiency in newborn infants. A sensor technology under development at VesselSens allows doctors to detect recurrent vascular narrowing in a stent (restenoses) without invasive surgery. The NanoscopiX project group is developing special cooling chambers for fluorescence microscopy and spectroscopic analysis. And the team at ProDetekt is developing modern biomarker assays for biomedical research and in vitro medical diagnostics.

IT Incubator GmbH in Saarbrücken launched some very promising projects in 2016: Uvibo is a new approach from the field of machine learning for displaying dynamic content on the web. HDR Everywhere is a new technology for creating high-quality HDR (high-dynamic-range) images with moving objects. K|Lens has developed a prototype consisting of an optomechanical component as well as software for the photographic market. The new TripAround travel platform for round trip experiences is meant to shorten the preparation time for round trips.

Photonik Inkubator GmbH has incubated three commercially promising projects: The FiberLab team is developing a glass fibre that can be used in brain catheters, for example. SUPERLIGHT Photonics is working on a fluorescence-stimulating microLED platform for medical, biotechnology and biophotonics applications. The Patient Safety 4.0 project aims to avoid the misadministration of medications in intensive care units with the help of an automated analyzer.