

**Bewerbung von
Julio Saez-Rodriguez
um den
MTZ-Award für Systembiologie**

Kurzfassung der Dissertation

Biologische Systeme, und insbesondere Signaltransduktionsnetzwerke, sind durch eine hohe Komplexität aber auch durch eine Modularstruktur gekennzeichnet. Das Leitmotiv dieser Arbeit ist, durch Ausnutzung der letzteren die erstere zu beherrschen. Um diesen Modularansatz anzuwenden, müssen folgende Schritte durchgeführt werden:

1. Zerlegung der Signalnetzwerke in sinnvolle Module,
2. Grundsätzliche Analyse dieser Module, und
3. Zusammenschaltung der Module (oder einer reduzierten Version davon) und Analyse des gesamten Netzwerkes.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit allen drei Schritten, deren Implementierung in nützliche Werkzeuge und der Anwendung auf praktische Beispiele.

Ein ingenieurwissenschaftliches Kriterium für die Zerlegung in Module wurde entwickelt, welches auf dem Konzept der Rückwirkungsfreiheit basiert. Dieses Konzept wurde durch einen Algorithmus implementiert, der in der Lage war, selbst sehr komplexe Signalnetzwerke automatisch in sinnvolle Untereinheiten zu zerlegen.

Ein domänenorientierter Ansatz eröffnet einen neuen Blickwinkel auf die Modularität biologischer Systeme: Er ergibt sich, dass Moleküldomänen die Grundeinheiten (Grundmodulen) von Signaltransduktionsnetzen sind. Darauf basierend wurde ein Baukasten von Domänen definiert, mit dem man beliebige Netzwerke aufbauen kann. Die Modulen wurden sorgfältig in Hinblick auf drei wichtige systemtheoretische Eigenschaften untersucht: Stabilität, Monotonie und Eingang / Ausgangs-Verhalten. Die Analyse zeigt, dass einige Module Multistabilität aufweisen können, diese Eigenschaft aber gegenüber Konzentrationsfluktuationen nicht robust ist. Darüber hinaus weisen fast alle Module eine monotone (einfache im mathematischen Sinne) Dynamik auf. Weiterhin können diese Module größtenteils durch die Hintereinanderschaltung einer nichtlinearen Kennlinie und eines einfachen linearen Systems ersetzt werden. Diese Analyse weist darauf hin, dass die Komplexität, die Signalnetzwerke kennzeichnet, sich nicht alleine aus den Modulen ergibt, sondern von deren Zusammenschaltung.

Diese einfache Verhältnis von den Modulen begründet deren Ersatz durch logische (Boolesche) Funktionen. Dafür wurden neue Methoden und Werkzeuge entwickelt, die die Anwendung von der Theorie von Boolesche Systemen auf Signalnetzwerke ermöglichen (siehe Absatz Heausragende Ergebnisse). Dies erlaubt

eine Vereinfachung der Signalnetzwerke, wodurch sehr komplexe Netzwerke untersucht werden können. Am Beispiel der Signalwege in Lymphozyten konnte gezeigt werden, dass der Ansatz nicht nur das Zusammenfassen und Testen des aktuellen biologischen Wissensstandes erlaubt, sondern dass damit auch neue, unerwartete Erkenntnisse gewonnen werden können.

Anschließend wurden die dynamischen Eigenschaften von Zusammenschaltungen kleiner Module untersucht. Unter anderem wurde eine minimale mathematische Realisierung für ein ganz bestimmtes dynamisches Verhalten erarbeitet, welches bei der Aktivierung der MAPK Kaskade in Lymphozyten beobachtet wurde. Außerdem wurde diese Realisierung in der Signalkaskade identifiziert. Letztlich wurde die Anwendung des Modularansatzes für die Analyse der Dynamik komplexerer Signaltransduktionsnetze anhand eines detaillierten Modells der Epidermal Growth Factor (EGF)-induzierten MAPK Kaskade demonstriert.

Herausragende Ergebnisse der Dissertation

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Anwendung systemtheoretischer Methoden zur Analyse von Signaltransduktionsnetzwerken. Diese Dissertation beinhaltet sowohl neue theoretische Entwicklungen, als auch deren Anwendung auf mehrere medizinisch relevante Beispiele (die vom Wachstumsfaktor EGF-induzierte Signalkaskade und Signalwege in T-Lymphozyten). Insgesamt sind 12 Publikationen aus dieser Dissertation entstanden (siehe Anhang).

Das Modularitätsprinzip (Saez-Rodriguez *et al.*, 2005) wurde in der diesjährigen Februar-Ausgabe von *Molecular Systems Biology* herausgestellt (*Mol. Syst. Biol.*, 4: 166) und diente als Basis für andere Arbeiten (*Mol. Syst. Biol.*, 4: 161). Dieser Ansatz wurde in das Modellierungswerkzeug ProMoT integriert. Zudem hat der Kandidat eine Plattform für Boolesche Modelle in ProMoT mitentwickelt (Saez-Rodriguez *et al.*, *BMC Bioinf.*, 2006) und am Aufbau von Methoden (Klamt, Saez-Rodriguez *et al.*, *BMC Bioinf.* 2006) und einer Toolbox (*CellNetAnalyzer*, Klamt, Saez-Rodriguez *et al.*, *BMC Syst. Biol.* 2007) für die Analyse von Signalwegen als Boolesche Netzwerke mitgewirkt.

Als Anwendungsergebnis ist die Analyse des Modells der TCR-induzierten T-Zelle besonders herausragend (Saez-Rodriguez *et al.*, *Plos. Comp. Biol.*, 2006). Der Kandidat hat, gemeinsam mit Immunologen der Universität Magdeburg, ein Modell entwickelt, das 94 Proteine und 123 Wechselwirkungen beinhaltet. Das Modell war in der Lage eine große Anzahl biologischer Beobachtungen wiederzugeben. Außerdem konnten mit Hilfe des Modells unerwartete Signalisierungsereignisse vorausgesagt werden, die anschließend experimentell getestet wurden: die Aktivierung der Jun N-terminal kinase (JNK) durch CD28-Stimulierung und die Tatsache, dass der Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) pathway trotz Knock-Outs der Schlüsselkinase Fyn noch aktiv ist. Letztlich konnte anhand des Modells gezeigt werden, dass eine unbekannt Verbindung von PI3K zu JNK existiert. Für diese konnten Vorschläge zur Ergänzung des Modells gemacht werden, die experimentell untersucht werden können. Damit zeigt sich, dass dieser Ansatz nützlich ist um große Signalnetzwerke zu analysieren, experimentelle Ergebnisse vorherzusagen und neue Untersuchungen zu planen.

Bezug der Arbeit zur medizinisch orientierten Systembiologie

Besonders relevant für die medizinische Systembiologie ist die Strukturanalyse, die auf dem logischen Ansatz basiert, wie man anhand eines Modells des T-Zell-Signalweges zeigen konnte (siehe vorheriger Absatz). Dieser Ansatz erlaubt die funktionelle Wirkung von Knock-Outs, RNAi und chemischen Inhibitoren *in silico* in großen Signalnetzwerken zu testen. Damit wird nicht nur das Screening neuer Medikamente beschleunigt, sondern auch die damit verbundene Experimente (insbesondere mit Tieren und Menschen) verringert.

Entscheidend bei diesem Ansatz ist die Darstellung von Signalbausteinen als Boolesche Operatoren. Das erlaubt, im Gegensatz zu herkömmlichen Ansätzen wie Differentialgleichungssystemen, mehrere Signalwege zusammen zu untersuchen, die sonst nur getrennt analysierbar wären. Damit kann man Crosstalk-Vorgänge sowie die Spezifität von Wirkstoffen untersuchen.

Im Rahmen seiner PostDoc-Tätigkeit benutzt der Kandidat zur Zeit diese Methoden (zusammen mit experimentellen High-Throughput-Daten), um Signalprozesse in gesunden vs. Krebszellen zu analysieren. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Identifikation (am Beispiel von Leberkrebs) von Unterschieden, die zwischen beiden Zelltypen entstehen. Darüber hinaus werden die Nebenwirkungen von mehreren neuen Wirkstoffen untersucht. Es handelt sich um eine Zusammenarbeit zwischen der Harvard Medical School, dem Massachusetts Institute of Technology, und dem Pharmaunternehmen Pfizer. Das große Interesse von Pfizer an diesem Ansatz betont, dass die in dieser Dissertation entwickelten Methoden sehr vielversprechend für die medizinische Systembiologie sind.

Anlage: Liste der entstandene Publikationen

1. **J. Saez-Rodriguez***, S. Gayer*, M. Ginkel, E. D. Gilles Automatic decomposition of kinetic models of signaling networks minimizing the retroactivity among modules, *submitted*
2. **J. Saez-Rodriguez**, A. Hammerle-Fickinger, O. Dalal, S. Klamt, E. D. Gilles, C. Conradi. On the Multistability of Signal Transduction Motifs, *IET Systems Biology*, in press.
3. A. Kremling, **J. Saez-Rodriguez** Systems Biology - an Engineering Perspective, *J. Biotechnology* 129, 2:329-351, 2007.
4. **J. Saez-Rodriguez**, L. Simeoni, J. Lindquist, R. Hemenway, U. Bommhardt, B. Arndt, U. U. Haus, R. Weismantel, E. D. Gilles, S. Klamt, B. Schraven. A comprehensive logical model predicts key events in the T-cell signaling network. *PLoS Comp. Biol.*, 3:8,163, 2007.
5. S. Klamt, **J. Saez-Rodriguez**, E. D. Gilles. Structural and functional analysis of cellular networks with CellNetAnalyzer. *BMC Syst. Biol.*, 1:2, 2007.
6. **J. Saez-Rodriguez***, S. Mirschel*, R. Hemenway, S. Klamt, E. D. Gilles, M. Ginkel. Visual setup of logical models of signaling and regulatory networks with ProMoT. *BMC Bioinf.*, 7: 506, 2006.
7. S. Klamt*, **J. Saez-Rodriguez***, J. Lindquist, L. Simeoni, and E. D. Gilles. A methodology for the structural and functional analysis of signaling and regulatory networks. *BMC Bioinf.*, 7:56, 2006.
8. H. Conzelmann, **J. Saez-Rodriguez**, T. Sauter, B.N. Kholodenko, and E. D. Gilles. A domain-oriented approach to the reduction of combinatorial complexity in signal transduction networks *BMC Bioinf.*, 7:346, 2006.
9. C. Conradi*, **J. Saez-Rodriguez***, E.D. Gilles, and J. Raisch. Using chemical reaction network theory to discard a kinetic mechanism hypothesis. *IEE Proc. Systems Biology*, 152(4):243-248, 2005
10. **J. Saez-Rodriguez**, A. Kremling, and E. D. Gilles. Dissecting the puzzle of life: Modularization of signal transduction networks. *Comput. Chem. Eng.*, 29(3):619-629, 2005.
11. **J. Saez-Rodriguez**, A. Kremling, H. Conzelmann, K. Bettenbrock, and E. D. Gilles. Modular analysis of signal transduction networks. *IEEE Contr. Syst. Mag.*, 24(4):35-52, 2004.
12. H. Conzelmann, **J. Saez-Rodriguez**, T. Sauter, E. Bullinger, F. Allgöwer, and E. D. Gilles. Reduction of mathematical models of signal transduction networks: Simulation-based approach applied to EGF receptor signaling. *Systems Biology*, 1(1):159-169, 2004.

*the first two authors contributed equally to this work.