



Interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*:

**Jörn Walter, Heiner Fangerau, Boris Fehse, Jürgen Hampel,
Ferdinand Hucho, Martin Korte, Bernd Müller-Röber, Jens Reich,
Jochen Taupitz, Martin Zenke**

8. Kernaussagen und Handlungsempfehlungen zur Einzelzellanalytik

In:

Walter, Jörn / Schickl, Hannah (Hrsg.): Einzelzellanalyse in Forschung und Medizin : eine
Stellungnahme der interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht.

ISBN: 978-3-939818-84-7

Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, 2019. S. 77-83

Persistent Identifier: urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-32864



Interdisziplinäre Arbeitsgruppe *Gentechnologiebericht*:

Jörn Walter, Heiner Fangerau, Boris Fehse, Jürgen Hampel, Ferdinand Hucho, Martin Korte, Bernd Müller-Röber, Jens Reich, Jochen Taupitz, Martin Zenke

8. KERNAUSSAGEN UND HANDLUNGSEMPFEHLUNGEN ZUR EINZELZELLANALYTIK

8.1 KERNAUSSAGEN ZUR EINZELZELLANALYTIK

Die Bedeutung von Einzelzellanalysen für die Biomedizin

Höhere Lebewesen bestehen aus einer Vielzahl unterschiedlicher Zellen – der erwachsene Mensch beispielsweise aus ca. 38 Billionen Zellen. Die Zusammensetzung von Zellen und ihre Funktion verändern sich im Verlauf des Lebens, der Entwicklung, der Regeneration, des Alterns und im Falle von Erkrankung. Mit der modernen Einzelzellanalytik entsteht ein Forschungsgebiet, in dem grundlegend neue biologische Daten gewonnen werden, die tiefe Einblicke in die molekulare Funktionsweise von Zellen eröffnen. Die Einzelzellanalytik erschließt damit neue Ebenen kontext- und personenbezogener Interpretation biologischer Zusammenhänge mit zentraler Bedeutung für die Lebenswissenschaften, Biotechnologie, Medizin und Pharmaforschung. Bislang basierten Interpretationen zumeist auf der Analyse von Gruppen von Zellen oder ganzen Geweben und Organen, spiegelten also „Durchschnittswerte“ wider. Die Funktion und Variationsbreite einzelner Zellen war nur bedingt oder gar nicht erfassbar. Die neuen Methoden und Anwendungen der Einzelzellanalytik bieten hier bislang unerreichte, tiefe Einblicke und werden die biologische Forschung und die Medizin nachhaltig beeinflussen. So zeigen Ergebnisse der Einzelzellanalyse von „Zelltypen“, die mittels Oberflächenproteinen sortiert wurden, zum Beispiel, dass Gruppen von vermeintlich gleichen Zellen mit ähnlichen, aber nicht mit gleichen Programmen ausgestattet sind. Auch die Erforschung grundlegender biologischer Prinzipien und Mechanismen der Krankheitsgenese und -ursachen erfährt neue Möglichkeiten. Einzelne Zellen von Patienten und Patientinnen oder zum Beispiel auch von Organoiden, die aus Patientenzellen gewonnen wurden, können präzise untersucht werden, um unter anderem zu ermitteln, inwieweit sie die „normalen“ Zellen des Organs darstellen oder davon abweichen. So können tiefe Rückschlüsse über individuelle Krankheits Hintergründe erlangt werden oder getestet werden,

wie bestimmte Zellen im Körper auf Medikamente ansprechen. Damit ermöglicht die Einzelzellanalyse einen wichtigen Schritt hin zu einer personalisierten Medizin.

Einzelzellanalytik durch Next-Generation-Sequencing und andere Omics-Technologien

Nach der Entschlüsselung des Humangenoms um die Jahrtausendwende wurde deutlich, dass die Sequenz von Genomen allein keine abschließenden Antworten liefert, sondern erst interpretiert und ihre Funktion in Zellen validiert werden muss. Genomsequenzen müssen in RNA und Proteine übersetzt werden, beides Moleküle, die die Zellfunktionen steuern. Daneben gibt es andere Vorgänge in Zellen, die für deren Funktionsweise wichtig sind, wie etwa ihr Stoffwechsel (Metabolismus). Die Untersuchung und Erfassung zellspezifischer molekularer Programme erfolgt auf multiplen Ebenen: auf der Ebene der Genome („genomics“), der RNA-Transkripte („transcriptomics“), der Proteine („proteomics“), der Stoffwechselprodukte („metabolomics“), der Lipide („lipidomics“) und epigenetischer Zustände („epigenomics“), um nur die wesentlichen zu nennen. Im Mittelpunkt der Forschung steht damit nicht mehr nur die Analyse einzelner DNA-Bausteine, sondern die Untersuchung komplexer Vorgänge in der Zelle.

Parallel zu den „klassischen“ Anwendungen dieser Omics-Methoden auf viele Zellen wurden Einzelzell-Omics-Technologien auf der Basis des sogenannten Next-Generation-Sequencing (NGS) weiterentwickelt. Die Entwicklung neuer NGS-Verfahren ermöglicht heutzutage eine schnelle und effiziente Sequenzierung von Milliarden von DNA-Molekülen in kurzer Zeit. Ein wesentlicher Schritt für die Entwicklung der Einzelzellanalytik war die Nutzung von Mikrofluidik-Methoden, um RNA- und DNA-Moleküle vieler einzelner Zellen separat zu vermehren und mit Hochdurchsatz-Sequenzierungsprotokollen zu verknüpfen. Durch die Parallelisierbarkeit von Sequenzierungen kann man mittlerweile umfassende molekulare Einzelzell-Signaturen wie zum Beispiel Transkriptome (mRNA), Epigenome (DNA-Methylierung) oder Chromatinveränderungen (Chromatinzugänglichkeit) von Tausenden bis Millionen von Zellen in einem Sequenzierlauf erfassen. Diese NGS-basierten Ansätze werden in jüngster Zeit durch Verfahren ergänzt, die Proteom- und Metabolom-Daten aus einzelnen Zellen erheben. Darüber hinaus wurden erste Einzelzell-Multi-Omics-Ansätze entwickelt, die gleichzeitig Daten des Transkriptoms, des Chromatins und der DNA-Methylierung erzeugen und

dadurch erstmalig ermöglichen, eine direkte Beziehung der Genaktivierung und genregulatorischen Veränderung in einer Zelle zu verstehen.

Anwendungsbreite der Einzelzellanalytik in der Biologie, Biotechnologie und Medizin

Die moderne NGS-basierte Einzelzellanalytik erlaubt es, die molekularen Signaturen nicht nur hunderter, sondern mittlerweile mehrerer Millionen einzelner Zellen zu erfassen. Hierdurch ergeben sich vollkommen neue Perspektiven für die Biologie. Komplexe Prozesse wie zum Beispiel die Strukturbildung in Fliegenlarven oder die Entwicklung von Organen können zellgenau erfasst werden. Ergänzt durch neue hochauflösende und dynamische bildgebende Verfahren ist es möglich, auch die räumliche Zuordnung und entwicklungsbiologische Dynamik einzelner Zellen im Organ oder Gewebe zu modellieren. Hieraus ergeben sich aktuell und perspektivisch tief greifende neue Einblicke in Prozesse der Entwicklung und Erkrankung. Für den Menschen deutet sich unmittelbar ein breites Spektrum neuer direkter medizinischer Anwendungsmöglichkeiten an. Diese reichen von der exakten Bestimmung der Zusammensetzung und Verteilung von Zellpopulationen (z. B. Stammzellen, Immunzellen) über die Erfassung zellulärer Veränderungen bei chronischen Erkrankungen und die Bestimmung der Auswirkungen genetischer Erkrankungen auf einzelne Zelltypen bis hin zur hochauflösenden Analyse individueller Tumore für eine auf das Individuum bezogene Therapie (personalisierte Medizin). Einzelzellanalysen werden darüber hinaus eine wichtige Rolle für das sich schnell entwickelnde Feld der Organoiden darstellen.

Tief gehende Einzelzellanalytik lässt sich jedoch nicht nur auf Mensch und Tier, sondern auch auf Mikroorganismen und Pflanzen anwenden. Bei Bakterien wird zum Beispiel untersucht, wie sich einzelne Zellen einer Bakterienkolonie unterscheiden und ob diese Unterschiede Auswirkungen auf die Pathogenität haben. Die Untersuchung von Pflanzen ist aufgrund der festen Zellwände von Pflanzenzellen schwieriger. Zu den Problemstellungen, die im Kontext der Pflanzenzüchtung untersucht werden, gehören Fragen nach der Reaktion von Zellen auf einen Angriff von Pathogenen und nach Mechanismen der Resistenz gegen Krankheitserreger, nach dem Einfluss von Variationen der Umweltbedingungen auf zelluläre Prozesse und Entwicklungsabläufe und nach der Rolle von genetischen Netzwerken. Neu gewonnene Erkenntnisse könnten zur gezielteren Züchtung und Verbesserung von Eigenschaften von Nutzpflanzen führen.

Datenanalyse und Infrastruktur

Die Einzelzellanalyse wird in Deutschland bereits an vielen spezialisierten Zentren durchgeführt. Diese Zentren haben neben der experimentellen Infrastruktur in der Regel auch Methoden zur Datenerfassung, Datenspeicherung und Dateninterpretation erarbeitet. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) hat kürzlich vier neue DNA-Sequenzierungszentren mit neuester Infrastruktur ausgestattet, die im Hochdurchsatz Daten auch für Einzelzellanalysen erzeugen können. Die der Einzelzellsequenzierung nachfolgende bioinformatische (statistische und modellierende) Datenanalyse stellt die Biologie und Medizin vor große Herausforderungen, auf die die Bioinformatik und Dateninfrastruktur noch nicht flächendeckend eingestellt sind. Einzelzellanalysen benötigen daher neue, komplexe bioinformatisch-methodische Verfahren der Datenerfassung und Nutzung. Zudem müssen in diesem Bereich neue Standards und Referenzdaten generiert werden, um vergleichbare Interpretationen zu ermöglichen. Um die wachsenden Datenmengen effizient verarbeiten und für die Forschung zugänglich und nutzbar machen zu können, werden für die Analysen, insbesondere für komplexe Prozessmodellierungen, zunehmend Methoden der künstlichen Intelligenz und des maschinellen Lernens (z. B. sogenannte Deep-Learning-Methoden) genutzt. Für die Verwendung von Einzelzelldaten in der klinischen Diagnostik wird es notwendig sein, die komplexen Einzelzellanalysen zu abstrahieren und in klinisch nutzbare Kernaussagen zu übersetzen.

Fachspezifische Implikationen

Die Einzelzellanalytik entwickelt sich mit einer rasanten Geschwindigkeit. Für die Wissenschaft bedeutet dies, dass einerseits technische Anpassungen schnell erfolgen müssen, wenn einzelne Standorte hier kompetitiv bleiben wollen, und dass andererseits der Fortbildung im Umgang mit den Technologien ein breiter Raum eingeräumt werden muss. Auch das Wissen um die Anwendungsmöglichkeiten und ihre Grenzen muss dabei bezogen auf die jeweiligen Forschungsrichtungen noch geschärft werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt, der durch die Einführung der Einzelzellanalytik in die Lebenswissenschaften induziert wird, ist der deutlich zunehmende Einfluss anderer Fachdisziplinen, insbesondere der Mathematik, der Bioinformatik und der Computerwissenschaften. Hier wird es besonders wichtig sein, die Ausbildung und den konstruktiven kritischen Dialog über Fachgrenzen hinweg stärker auszubauen. Neben dieser fachspezifischen Ausbildung müssen

geeignete experimentelle und bioinformatische Rahmenbedingungen vorhanden sein, um Einzelzelldaten nachhaltig nutzen zu können.

Die Anwendungs- und Nutzungsbedingungen der Einzelzellanalytik in den Lebenswissenschaften, der Biotechnologie und Medizin werden breit gestreut sein. Während in den Lebenswissenschaften die Entwicklung und breite Anwendung unterschiedlicher NGS-Technologien für die Grundlagenforschung im Vordergrund stehen werden, bilden die Entwicklung und Anwendung standardisierter Verfahren sehr wahrscheinlich den Schwerpunkt in biotechnologischen Anwendungen und der Medizin. In der Biologie können auf Basis der Einzelzellanalytik Prinzipien der funktionalen Gemeinsamkeit und Diversität zwischen Organismen auf einem neuen molekularen Niveau erfasst werden. Aspekte der Biodiversität, individueller und ökologischer Adaptation sind so viel genauer zu bestimmen. Auf der medizinischen Seite werden Einzelzelldaten neue Möglichkeiten für eine personenbezogene molekulare Diagnostik (z. B. von Krebserkrankungen) ermöglichen und in der Forschung und Anwendung von zellbasierten Verfahren (Stammzellen, Regeneration, Organoide) unverzichtbar sein. Auch im Bereich von zellbasierten Test- und Produktionsverfahren innerhalb der Pharmakologie wird die Einzelzellanalyse eine wichtige Rolle für die Qualitätssicherung spielen.

Technologiefolgenabschätzung

Wie bei allen neuen biotechnologischen Verfahren wird es wichtig sein, den Nutzen, das Anwendungsspektrum, aber auch die Unschärfen und Grenzen der neuen Technologie kritisch zu analysieren und mit einer breiten Öffentlichkeit zu diskutieren. Die Einzelzellanalyse berührt eine Reihe ethischer Fragen, die auch im Kontext von anderen Biotechnologien erörtert werden und von großer gesellschaftlicher Relevanz sind, allen voran der Umgang mit sensiblen medizinischen Daten. Es ist zu prüfen, inwieweit bestehende Regeln zum verantwortungsvollen Umgang und für eine ausreichende Datensicherheit und Datensouveränität an die neuen Möglichkeiten angepasst werden müssen. Im Bereich der Forschung muss die kritische Auseinandersetzung mit den Daten gestärkt werden, um Fehlinterpretationen und Fehleinschätzungen zu vermeiden.

Die Zusammenführung und gemeinsame Analyse von genetischen (Genomdaten) und Einzelzelldaten wird das Interpretationsspektrum vertiefen und neue Dimensionen der individuellen Bestimmtheit eröffnen. Diese Möglichkeiten

müssen im Hinblick auf ihre ethischen und sozialpolitischen Implikationen diskutiert werden. Die Datensouveränität von möglichen Probanden und Probandinnen sowie Patienten und Patientinnen ist dabei unbedingt zu wahren. Die Kenntnis von individualisierten Einzelzelldaten hebt die Frage nach Individualität bzw. individueller Ausprägung der genetischen Basis zudem auf eine andere Ebene. Der Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp könnte in einem Maße erkennbar werden, der Vorhersagen des Phänotyps anhand zellulärer Merkmale erlaubt. Dann könnten etwa anhand einer Biopsie noch genauere Vorhersagen über zukünftige Erkrankungen oder Krankheitsverläufe als bisher möglich werden. Dies würde gegenüber herkömmlichen Gentests einen enormen Erkenntniszuwachs bedeuten. Es ist dabei wichtig, Befunde so zu kommunizieren, dass sie von den Betroffenen verstanden und in ihrer Bedeutung eingeschätzt werden können. Welcher Umfang neuer Erkenntnisse bezüglich Genfunktion und deren zellulärer Ausprägung sich hieraus ergeben wird, ist jedoch noch unklar.

8.2 HANDLUNGSEMPFEHLUNGEN FÜR DEN UMGANG MIT DER EINZELZELLTECHNOLOGIE UND EINZELZELLDATEN

- Die Einzelzellanalytik ist eine Zukunfts- und Schlüsseltechnologie für die Biologie und die Medizin. Ihre Bedeutung wird in den kommenden Jahren stark zunehmen. Die Technologie sollte daher in den Agenden der Forschungsförderung einen prominenten Platz einnehmen.
- Deutschland hat sehr gute erste Ansätze (Zentren) in der Einzelzelltechnologie und ausgewiesene Kompetenz in der bioinformatischen Bearbeitung von Einzelzelldaten. Es gilt, diese Stärken zu bewahren und weiter auszubauen, zum Beispiel durch Forschungsinitiativen wie LifeTime oder Single Cell Omics Germany (SCOG) und Strukturen wie die DFG-Sequenzierungszentren.
- Für die klinische Nutzung von Einzelzelldaten müssen standardisierte Abläufe geschaffen werden. Die „Medizininformatik-Initiative“ kann hierfür geeignete Rahmenbedingungen schaffen. Es müssen Standards entwickelt werden, um komplexe Einzelzelldaten für die klinische Applikation aufzubereiten, die für die Entwicklung neuer Diagnose- und Therapieverfahren benutzt werden können. Die im klinischen Zusammenhang erhobenen Einzelzelldaten müssen in einem geschützten Raum verbleiben und vor dem Zugriff Unbefugter effektiv bewahrt werden.

- Für eine breite Nutzung der generierten Daten (auch zur Erhebung von Referenzen, mit denen etwa Proben von Patienten und Patientinnen verglichen werden können) sollten geeignete Datenstrukturen aufgebaut werden, die auf einheitlichen Dokumentationsstandards aufbauen, um eine größtmögliche Kompatibilität zu erreichen. Geeignete Rahmenbedingungen für die Datensicherung und Datensicherheit sind dabei zu schaffen (analog zu Genomdaten). Dies sollte sich auch in der nationalen Forschungsdateninfrastruktur (NFDI) widerspiegeln.
- Es wird wichtig sein, Verfahren für eine Aufklärung und informierte Zustimmung sowohl für die Anwendung einzelzelldiagnostischer Verfahren für Patienten und Patientinnen als auch für die Forschung mit personalisierten Daten zu etablieren.
- Im Bereich personenbezogener Daten wirft die Einzelzellbiologie keine prinzipiell neuen rechtlichen und ethischen Fragen auf. Jedoch kann es durch die Analyse der individuellen Ausprägung des Genoms in Einzelzellen zu neuen Erkenntnissen, aber auch zu noch unsicheren Interpretationsspielräumen kommen, die beide gleichermaßen Aspekte persönlicher Stigmatisierung bzw. Diskriminierung betreffen. Nicht nur bezogen auf Zufallsbefunde sind das Recht auf Nichtwissen und der Schutz der Persönlichkeit in diesem Zusammenhang erneut und verstärkt zu diskutieren und gegebenenfalls rechtlich abzusichern.
- Grundsätzlich darf der aktuell beginnende Hype um die Einzelzellanalyse keinesfalls dazu führen, dass in anderen Feldern bereits etablierte ethische Standards abgesenkt oder negiert werden. Wie immer müssen die Standards guter wissenschaftlicher, guter klinischer und guter ethischer Praxis eingehalten werden, damit mehr Daten auch zu mehr Wissen führen – und zwar zum Wohl der Individuen wie auch der Gesellschaft.