

Aufnahmetaste für die Embryonalentwicklung

Forschende entwickeln molekularen Rekorder, um die Abstammung embryonaler Zellen in vivo zurückzuverfolgen

Zu Beginn neuen Lebens geschieht ein faszinierender Prozess: aus einer einzelnen Zelle entstehen zunächst identische Vorläuferzellen, die sich zu den drei Keimblättern weiter entwickeln. Aus diesen werden in weiteren Schritten die verschiedenen Gewebe, Organe und Körperteile des neuen Organismus gebildet. Wie aber wird sichergestellt, dass tatsächlich Zellen mit unterschiedlichen Funktionen entstehen, die auch noch an der richtigen Stelle des wachsenden Organismus landen? Mit dieser Frage beschäftigt sich Alexander Meissner vom Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin. Zusammen mit Forschenden aus San Francisco hat sein Team einen molekularen Rekorder entwickelt, mit dem die Abstammung einzelner Zellen zu ihren Ursprungszellen zurückverfolgt werden kann. Der Rekorder wurde in die befruchtete Eizelle übertragen und an alle nachfolgenden Zellen weitergegeben. Zellen, die den Rekorder enthalten, häufen zufällige Mutationen an und geben diese an ihre Tochterzellen weiter, die ebenfalls neue Mutationen entwickeln. Die Mutationen haben keinen Einfluss auf die Funktion der Zelle, hinterlassen in ihrem Genom jedoch ein charakteristisches Muster, anhand dessen die Abstammung der Zellen zurückverfolgt werden kann. Wenn gleichzeitig mit der Abstammung auch die Funktion der einzelnen Zellen untersucht wird, kann ein Stammbaum erstellt werden, der Einblick in grundlegende Mechanismen der Embryonalentwicklung gibt.

Verschmelzen Eizelle und Spermium, startet die Embryonalentwicklung und aus einer einzigen befruchteten Zelle entsteht ein komplexer, vielzelliger Organismus. Während die befruchtete Eizelle totipotent ist, sich aus ihr also sowohl alle Gewebe und Organe des Embryos als auch der Plazenta entwickeln können, verlieren ihre Tochterzellen diese Fähigkeit mehr und mehr und spezialisieren sich in bestimmte Richtungen. Dabei bilden sich im ersten Drittel der Embryonalentwicklung, der sogenannten Embryogenese, zuerst die drei Keimblätter aus. Dies sind drei übereinander liegende Zellschichten, aus denen später sämtliche Organe und Gewebe gebildet werden. Die Mechanismen, die die Embryogenese steuern und dabei koordinieren, welche Zellen sich entwickeln, sind besonders bei Säugetieren sehr komplex, da hier erst viele identische Zellen entstehen, bevor diese beginnen, unterschiedliche Eigenschaften zu entwickeln.

Um die biologischen Prozesse, die für die Embryonalentwicklung verantwortlich sind, besser zu verstehen, hat das Team von Alexander Meissner an der Harvard Universität in Boston und am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin zusammen mit Kolleginnen und Kollegen von der Universität von Kalifornien in San Francisco einen molekularen Rekorder entwickelt, mit dem die Entwicklung der Zellen während der Embryogenese auf molekularer Ebene aufgenommen und später ausgelesen werden kann.

Genschere CRISPR/Cas9 in die Zelle integriert

Für ihren molekularen Rekorder machen sich die Forschenden das CRISPR/Cas9-System zunutze. Bei diesem oft als Genschere bezeichneten System bindet das Enzym Cas9, das DNA schneiden kann, an eine kurze Ribonukleinsäure (RNA). Die RNA bindet wiederum an ein Stück Ziel-DNA im Genom und bringt dadurch Cas9 in räumliche Nähe zu der gebundenen DNA. Cas9 schneidet direkt neben der Ziel-DNA und erzeugt einen Doppelstrangbruch, der durch zelleigene Mechanismen

repariert wird. Da dieser Reparaturmechanismus jedoch fehleranfällig ist, gehen oft DNA-Stücke verloren oder werden zusätzlich eingesetzt. Es kommt an dieser Stelle daher häufig zu Mutationen, die an die nachfolgenden Tochterzellen weitergegeben werden.

Meissner und Kollegen haben Eizellen der Maus künstlich befruchtet und dabei die Komponenten des CRISPR/Cas9-Systems übertragen. Eine extra in die Zellen eingebrachte DNA-Sequenz dient als Zielregion für die Mutationen, damit diese nicht die natürlichen Funktionen der Zelle einschränken. Die Zellen stellen die Komponenten des CRISPR/Cas9-Systems selbst her und erzeugen laufend DNA-Mutationen. Diese werden weitervererbt, wenn sich die Zelle teilt. In den Tochterzellen entstehen unabhängig voneinander weitere, zufällige Mutationen, die beiden Zellen voneinander unterscheiden. Jede Zelle erhält so ihr eigenes, individuelles Mutationsmuster, ähnlich einem molekularen Barcode, der sie unverwechselbar macht. Weil die Tochterzellen immer auch die Mutationen der Elterngeneration übernehmen und diese individuell weiterentwickeln, kann das System wie ein molekularer Rekorder die Ansammlung der verschiedenen Mutationen über die Zellteilungen aufzeichnen. Durch den Einbau einer Vielzahl von Ziel-DNAs und drei verschiedenen Führungs-RNAs (guide RNAs), die CAS9 an die Ziel-DNA bringen, gelang es den Forschenden, diesen molekularen Rekorder so zu erweitern, dass er eine große Vielfalt verschiedener Mutationen über lange Zeit aufnehmen kann. „Dies ist besonders wichtig, um die komplexe Embryonalentwicklung von Säugetieren über längere Zeit verfolgen zu können“, erklärt Meissner.

Molekularer Rekorder kann Abstammung der Zellen zurückverfolgen

Meissner und sein Team haben gemeinsam mit den Kolleginnen und Kollegen in San Francisco die Zellen von 8,5 - 9,5 Tage alten Mausembryonen untersucht, in die der molekulare Rekorder bei Befruchtung übertragen worden war. Anhand der angesammelten Mutationen konnten die Forschenden die Entwicklung der Zellen von den ersten totipotenten Vorläuferzellen bis zu den drei Keimblättern, die sich zum diesem Zeitpunkt bereits geformt hatten, zurückverfolgen. Gleichzeitig erstellten sie ein sogenanntes Transkriptionsprofil der RNA von den einzelnen Zellen. Dieses zeigt an, welche Teile der DNA jeder Zelle in RNA bzw. in Proteine übersetzt werden und gibt den Forschenden dadurch Hinweise darauf, welche Funktion die Zelle hat. „Normalerweise weisen ähnliche Funktionen der Zellen auf eine gemeinsame Abstammung hin“, sagt Meissner. Mit dem molekularen Rekorder konnten jedoch auch Zellen mit ähnlichem Transkriptionsprofil identifiziert werden, die von unterschiedlichen Zellen abstammten.

Die frühe Embryonalentwicklung kann anhand des molekularen Rekorders exakt bis zu ihrem Ursprung zurückverfolgt werden. Dies eröffnet neue Wege, um bisher ungeklärte Fragen der Embryonalentwicklung gezielt untersuchen zu können. „Die Methode kann aber auch an einem späteren Zeitpunkt der Entwicklung an verschiedenen Zellgruppen angewandt werden“, so Meissner. „Wir hoffen, dadurch neue Erkenntnisse zu verschiedenen zellulären Mechanismen zu gewinnen, beispielsweise zu Fragen, wie Zellen kommunizieren, Signale wahrnehmen oder bei verschiedenen Körperzuständen Regenerationsprozesse koordinieren.“

Originalpublikation:

Michelle M. Chan, Zachary D. Smith, Stefanie Grosswendt, Helene Kretzmer, Thomas M. Norman, Britt Adamson, Marco Jost, Jeffrey J. Quinn, Dian Yang, Matthew G. Jones, Alex Khodaverdian, Nir Yosef, Alexander Meissner & Jonathan S. Weissman
Molecular recording of mammalian Embryogenesis
Nature 13.05.2019 [Advanced Online Publication]
DOI: 10.1038/s41586-019-1184-5

Weitere Informationen:

<http://www.molgen.mpg.de/Genome-Regulation/Meissner-lab>