

Chromatin-Struktur legt Enhancer still

Im frühen Embryo lässt sich nicht erkennen, was ein Arm wird und was ein Bein: Die Knospen für die Extremitäten sehen zunächst identisch aus. Durch dynamische Veränderungen in der 3D-Struktur des Chromatins wird bei den unteren Extremitätenknospen der Enhancer Pen in räumliche Nähe zu dem Gen Pitx1 gebracht und kann es aktivieren. So erwachsen aus den oberen Knospen Arme und aus den unteren Beine. Den erstaunlichen molekularen Mechanismus haben Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler um Guillaume Andrey und Stefan Mundlos vom Max-Planck-Institut für molekulare Genetik und der Charité - Universitätsmedizin Berlin entdeckt und jetzt im renommierten Fachblatt „Nature Genetics“ veröffentlicht.

Damit alle Organe und Körperteile eines Lebewesens normal entstehen können, müssen Gene in ihrer Aktivität während der Embryonalentwicklung in jeder einzelnen Zelle hochpräzise reguliert werden. Das heißt: An- und abgeschaltet werden, damit die physiologischen und morphologischen Prozesse ablaufen, die den Körper schrittweise aufbauen und seinen Stoffwechsel am Laufen halten. Die DNA der etwa 20.000 Gene des Menschen hat dafür Steuerungsbereiche, die aus Promotoren und weiteren regulatorischen Elementen bestehen, den sogenannten Enhancern.

Enhancer sind DNA-Abschnitte, die die Aktivität von Genen präzise steuern – und zwar genau dann und dort, wo es nötig ist. Sie sind in großer Zahl über das Genom verteilt und können zwischen oder auch innerhalb von Genen liegen. Um ihre Wirkung zu entfalten, brauchen sie engen räumlichen Kontakt zu den Promotoren.

Pitx1 und Pen

Ein Enhancer namens Pen reguliert zum Beispiel ein Gen namens Pitx1. Während der Entwicklung der Extremitäten im Embryo ist Pitx1 in den undifferenzierten hinteren Extremitätenknospen hoch aktiv, damit aus ihnen zwei funktionsfähige Beine mit Oberschenkeln, Knien, Unterschenkeln und Füßen entstehen. Entsprechend ist der Pen-Enhancer in den Zellen der späteren Beine aktiv. Interessanterweise aber fanden die Forscherinnen und Forscher Pen-Aktivität aber auch in den oberen Extremitätenknospen, aus denen sich die Arme entwickeln. Das darf eigentlich nicht sein, denn wenn der Enhancer Pitx1 anschalten würde, entstünden Arme, die Beinen ähneln – beispielsweise mit Ellenbogen, die wie Knie aussehen. Wie also sichert der Organismus, dass im vorderen bzw. oberen Körper aus den Extremitätenknospen Arme erwachsen? Wie verhindert er, dass Pen Pitx1 aktiviert?

Das Chromatin faltet und windet sich

„Die Grundlage für die Aktivierung von Pitx1 durch Pen ist die dynamische dreidimensionale Faltung des Chromatins“, fasst Stefan Mundlos die jüngsten Studienergebnisse seines Teams zusammen, das für diese Untersuchungen mit mehreren internationalen Partnergruppen kooperiert hat. Das Chromatin besteht aus der Erbsubstanz DNA und ihren assoziierten Proteinen. Es faltet und windet sich zu einer dreidimensionalen Struktur, so dass es in den kompakten Zellkern passt. Durch die entstehende 3D-Struktur berühren sich DNA-Bereiche, die auf dem Erbfaden eigentlich weit voneinander entfernt sind. Durch diesen Kontakt im 3D-Raum des Zellkerns können Enhancer und Promotoren zueinander finden und sich so regulieren.

Blockierte Kontaktstelle

Nun konnte die Gruppe um Guillaume Andrey und Stefan Mundlos zeigen, wie die Dynamik der wechselnden 3D-Faltung die Bildung der Extremitäten steuert. Der Pitx1-Genlocus, also die Position im Genom, an der sich das Pitx1-Gen und seine Regulatoren im DNA-Strang befinden, kann je nach Faltung unterschiedliche räumliche und funktionelle Gestalten annehmen. Diese unterschiedlichen Strukturen hat Mario Nicodemi von der Universität Neapel anhand der Berliner Daten mit einem neuen Verfahren in 3D im Computer modelliert. In den Extremitätenknospen der späteren Beine sorgt eine „aktive Konfiguration“ des Chromatins dafür, dass Pen in räumliche Nachbarschaft zu Pitx1 gelangt, so dass Pen den Pitx1-Promotor aktivieren kann. In diesem Fall entsteht aus der Extremitätenknospe ein Bein. Im Gegensatz hierzu findet sich in den Extremitätenknospen der späteren Arme eine „inaktive Konfiguration“ der Chromatin-Faltung: Ein benachbartes inaktives Gen faltet sich zwischen Pen und Pitx1 auf, so dass die beiden nicht miteinander wechselwirken können. Aufgrund der blockierten Kontaktstelle wird Pitx1 nicht aktiviert, und es können sich Arme entwickeln.

„Das System kann mit einer Lampe verglichen werden, die über einen Lichtschalter an- oder ausgeschaltet werden kann“, erklärt Andrey. Die Lampe ist ständig an das Stromnetz angeschlossen, genau wie das Gen und sein Enhancer in allen Extremitätenknospen vorhanden sind. Strom fließt aber erst, nach der Lichtschalter umgelegt worden ist. Genauso ermöglicht erst die Veränderung der 3D-Struktur des Chromatins die molekulare Wechselwirkung zwischen Enhancer und Gen.“

Aus Armen werden Beine

Allerdings können sogenannte strukturelle Mutationen im Erbgut die Faltung des Chromatins beeinflussen. Die Forscherinnen und Forscher haben solche Mutationen bei Patienten mit dem sogenannten Liebenberg-Syndrom nachgewiesen und in Experimenten mit Mäusen, in denen die genetische Veränderung nachgebaut wurde, weiter untersucht. In diesem Falle faltet sich das Chromatin auch in den vorderen Extremitätenknospen zu einer Struktur, die Pen und Pitx1 zusammenbringt, so dass das Gen aktiviert wird. Auf diese Weise entwickeln sich Arme mit Bein-Strukturen, es entsteht das Krankheitsbild des Liebenberg-Syndroms.

„Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die 3D-Konformationen des Chromatins direkt die Regulation der Genaktivität beeinflussen“, sagt Mundlos. Während im Normalfall die „Lampe“ nur in den hinteren Extremitätenknospen leuchtet und in den vorderen ausgeschaltet ist, scheint sie bei den Betroffenen dauerhaft in allen vier Extremitätenknospen zu brennen. Hinter dieser strukturellen Gen-Steuerung stecken nach den Erkenntnissen der Forschungsgruppe teilweise Hox-Gene – Master-Gene der Embryonalentwicklung.

Umständlicher Mechanismus der Extremitätenentwicklung

Im Übrigen, bemerkt der MPI-Forscher, sei die Genregulation in den Extremitätenknospen der Arme doch recht „umständlich.“ Das könnte evolutionäre Gründe haben. Alle bisher darauf untersuchten Lebewesen mit vier Extremitäten nutzen den Pen-Enhancer, Fische und andere Tiere aber nicht. Als die Wirbeltiere vor rund 400 Millionen Jahren aus dem Wasser ans Land gingen, „waren vordere und hintere Extremitäten wohl morphologisch gleich“, spekuliert Mundlos. Also waren Pitx1 und Pen vermutlich in allen vier Extremitäten gleichermaßen aktiv. Erst im weiteren Lauf der Evolution wurde unterschieden zwischen Armen und Beinen. Dafür musste die Evolution einen Weg finden, Pen in den vorderen Extremitäten gezielt stillzulegen. Die Genregulation über die Chromatin-Struktur war da möglicherweise das effektivste Mittel.

Originalpublikation:

Bjørt K. Kragestein, Malte Spielmann, Christina Paliou, Verena Heinrich, Robert Schöpflin, Andrea Esposito, Carlo Annunziatella, Simona Bianco, Andrea M. Chiariello, Ivana Jerković, Izabela Harabula, Philine Guckelberger, Michael Pechstein, Lars Wittler, Wing-Lee Chan, Martin Franke, Darío G. Lupiáñez, Katerina Kraft, Bernd Timmermann, Martin Vingron, Axel Visel, Mario Nicodemi, Stefan Mundlos & Guillaume Andrey
Dynamic 3D Chromatin Architecture Contributes to Enhancer Specificity and Limb Morphogenesis.
Nature Genetics 2018
doi:10.1038/s41588-018-0221-x

Weitere Informationen:

<http://www.molgen.mpg.de/Development-and-Disease>