Jörn Walter, Anja Hümpel

3. Epigenetik: Hintergrund und Bedeutung des Forschungsgebietes

3.1 Vorbemerkung

Die Epigenetik hat eine fundamentale Bedeutung für nahezu alle Bereiche der Biologie und der Biomedizin sowie viele Bereiche der Biotechnologie. Sie beeinflusst Diskurse in den Geistes-, Rechts- und Gesellschaftswissenschaften über die Bedeutung und Auswirkung vererbbarer und veränderbarer biologischer Prozesse im Menschen. In unserem Artikel möchten wir grundlegende Prinzipien der Epigenetik darlegen, die wichtigen Forschungsergebnisse der Epigenetik skizzieren und ihre Bedeutung für die Biologie umreißen. Wir beginnen mit einem kurzen Exkurs zur allgemeinen Verbreitung und Bedeutung der Epigenetik.

3.2 Grundprinzipien, Verbreitung und Bedeutung der Epigenetik

Die Forschung der vergangenen 30 Jahren hat gezeigt, dass in allen höheren Lebewesen eine Reihe von molekularen Prozessen und Mechanismen zu einer, der Genetik nachgeschalteten, Steuerung der Genome (der Gene) beiträgt und dass diese Veränderungen über Zellteilungen hinweg weitergegeben, das heißt „vererbt“ werden können. Die Epigenetik erweitert grundlegend die biologischen Paradigmen zur Steuerung und Vererbbarkeit genetisch bedingter Prozesse.

Die Grundlage für vererbbare epigenetische Prozesse sind chemische Veränderungen (Modifikationen), die entweder direkt an bestimmten DNA-Basen oder an bestimmten Histon-Proteinen enzymatisch angebracht oder auch wieder entfernt werden. Histon-Proteine sind das Protein-Grundgerüst der Chromosomenstruktur. Über epigenetische Modifikationen an der DNA und den Histonen wird festgelegt, ob die Struktur der Chromosomen („das Chromatin“) offen und zugänglich oder kompakt und unzugänglich ist. Man unterscheidet entsprechend offenes, zugängliches Euchromatin

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

und geschlossenes, unzugängliches Heterochromatin und bezeichnet die dazu passenden Modifikationen auch als euchromatische und heterochromatische Modifikationen.

Generell kann man zwischen allgemeinen und zell-/genspezifischen epigenetischen Prozessen unterscheiden. Ein epigenetisch gesteuerter allgemeiner Prozess der epigenetischen Kontrolle ist zum Beispiel die in allen Zellen stattfindende Steuerung der Chromosomenstruktur im Verlauf des Zellzyklus. Man findet die dazu notwendigen epigenetischen Veränderungen in jeder Zelle eines eukaryontischen Organismus. Neben der Steuerung der DNA-Replikation sind auch Prozesse der DNA-Reparatur und der Zellteilung abhängig von epigenetischen Modifikationen.

Die weitaus umfangreicheren epigenetischen Prozesse betreffen die zellspezifische Regulation von Genen. Viele der hierzu beitragenden Modifikationen sind in den Organismen gleich. Im Verlauf der Evolution haben sich immer vielgestaltigere Formen und komplexere Verschaltungen epigenetischer Modifikationen entwickelt. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass die differenzierte Nutzung epigenetischer Mechanismen eine wichtige Funktion für die Ausbildung der Artenvielfalt hat (siehe auch Kapitel 6.2 in diesem Band). In Eukaryonten sind epigenetische Mechanismen essenziell, ein Leben ohne epigenetische Modifikationen ist nicht möglich. In allen höheren Eukaryonten steuern epigenetische Prozesse die Entwicklung von zellspezifischen Prozessen und sind daher essenziell für die stabile Ausbildung vielzelliger Strukturen (Gewebe, Organe). Die zellspezifische Nutzung der genetischen Information geht einher mit der Ausbildung zellspezifischer epigenetischer Eigenmuster, den sogenannten Epigenomen (siehe Kapitel unten).

Die Art und Ausformung solcher epigenomischer Eigenmuster erfolgt nach weitgehend konservierten Grundprinzipien in allen eukaryontischen Organismen. Im Verlauf der Evolution sind allerdings auch spezielle Formen der Musterbildung entstanden und wurden teilweise artspezifischen Bedürfnissen angepasst. So sind einige epigenetische Modifikationstypen in bestimmten Insekten und niederen Eukaryonten nicht mehr aufzufinden. Bestimmte Mechanismen wie das Genomic Imprinting sind in höheren Pflanzen und Säugern unabhängig voneinander neu entstanden. Epigenetische Prozesse sind daher im Kontext des biologischen Objekts zu betrachten.

Die Epigenetik beeinflusst ein breites Spektrum zell- und entwicklungsbiologischer Prozesse: Diese sind einerseits grundlegende Funktionen in jeder Zelle, aber auch sehr spezifische Funktionen in differenzierten Zellen bis hin zu einem langlebigen Funktions-Gedächtnis von Genen und Chromosomen im gesamten Organismus. Einige epigenetische Prozesse treten nur zeitlich begrenzt auf, andere dagegen sind sehr langfristig und werden über Zellteilungen oder Generationen hinweg vererbt. Im Gegensatz zu genetischer Vererbung sind epigenetische Prozesse umkehrbar. Sie sind durch exo-

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

gene Faktoren („die Umwelt“) modifizierbar und gelten daher als eine Ursache für die oft festzustellende Variationsbreite genetisch bedingter Phänotypen. Die Bedeutung der Vererbbarkeit erworbener epigenetischer Eigenschaften erfährt in der öffentlichen Diskussion sehr viel Aufmerksamkeit. Die grundlegende Bedeutung epigenetischer Steuerung für biologische Prozesse für die Entwicklung und ihre Bedeutung für die Gesundheitsforschung tritt dabei manchmal in den Hintergrund.

3.3 Der Begriff „Epigenetik“ in der gegenwärtigen Forschung

Der Aspekt der Vererbbarkeit der Epigenetik wird in zeitgenössischen Diskursen über biomedizinische und sozialpsychologische Fragen häufig als eine mögliche Erklärung für die individuelle Ausprägung der genetischen Grundkonstitution eines Individuums herangezogen. Da der Begriff „Epigenetik“ in diesen Diskursen sehr vielgestaltig genutzt und interpretiert wird, möchten wir seine Bedeutung zunächst ein wenig genauer betrachten. Epigenetik bedeutet so viel wie „oberhalb der Genetik“ mit dem Unterton „zusätzlich zum Genom“. Der Wortstamm Genetik deutet dabei auf die Vererbbarkeit hin. In der Fachdiskussion unterscheiden sich die Definitionsbezüge der Epigenetik jedoch, je nachdem, ob molekulare, genetische, zelluläre und gesamtbiologische Perspektiven im Vordergrund der Bewertung stehen (zur Geschichte des Begriffs Epigenetik siehe Kapitel 6.1 in diesem Band).

Molekulargenetische Definitionen vereinen unter dem Begriff Epigenetik meist ein Spektrum direkt oder indirekt gesteuerter Kontrollvorgänge der Genexpression. Als Kernebenen der langfristig wirkenden epigenetischen Steuerung dienen vererbbare biochemische Veränderungen des Chromatins[1], die gesetzt und wieder entfernt werden können, ohne die primäre Nukleotidsequenz[2] zu verändern (Knippers/Nordheim, 2015).

Neben der direkten epigenetischen Steuerung von Genen am Chromatin gibt es aber auch „epigenetische“ Prozesse, die oberhalb der Chromatin-Ebene stattfinden und zum Beispiel nur auf der Ebene der abgelesenen RNAs operieren (RNA-Interferenz, siehe unten und nachfolgendes Kapitel). Kleine RNAs wirken als „epigenetische“, das

1 Als Chromatin wird die Gesamtheit des färbbaren DNA- und Protein-Materials im Zellkern bezeichnet. Kernbestandteile des Chromatins sind Nukleosomen, d. h. Histonproteinkomplexe, um die die DNA in Einheiten von ca. 150 Basen gewunden ist.

2 Als Nukleotidsequenz bezeichnet man die Abfolge der chemischen Grundbausteine der DNA (und RNA), DNA bildet langkettige lineare Moleküle, in denen Nukleinbasen und Pentosen (Zucker) über Phosphate miteinander verknüpft sind. Diese Moleküle werden durch Enzyme kopiert und so die Information vermehrt und vererbt.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

heißt der Genetik „nachgeschaltete“ Regulatoren und verhindern oder verstärken die Umsetzung der genetischen Information. Kleine RNAs können aber auch direkt zur Verbreitung von epigenetischen Prozessen im Organismus beitragen. Sie dringen in neue „epigenetisch“ naive Zellen ein und lösen hier epigenetische Veränderungen am Chromatin, also direkt an Ziel-Genen aus. Um all diese unterschiedlichen Phänomene zu erfassen, wird die Epigenetik auch offen als eine Fachrichtung definiert, die „nachhaltige zelluläre und physiologische Variationen untersucht, die durch externe (Umwelt-)Faktoren hervorgerufen wurden und Enzyme betrifft, die das Ablesen von Genen beeinflussen“.

Generell gilt, dass der Begriff „Epigenetik“ bis in die Fachliteratur hinein sehr breit ausgelegt wird. Die breite Auslegung ist auch der Tatsache geschuldet, dass viele der molekularen Ursachen und Wirkungen epigenetischer Prozesse im Detail *noch* unbekannt sind. Zudem erschwert das komplexe Zusammenspiel von genetischen, zellbiologischen und epigenetischen Faktoren eine präzise Bestimmung von Ursachen und Folgeprozessen. Es ist ratsam, sich dieser Verschränkungen bewusst zu sein und die den Untersuchungen zugrunde liegenden molekularen Ursachen und Wirkungen epigenetischer Prozesse genau zu betrachten (Hennikoff /Greally, 2016).

Im Folgenden werden wir zunächst die grundlegenden Ebenen epigenetischer Steuerung darlegen, um dann auf die Nutzung dieser Mechanismen und ihre Bedeutung für die Biologie und die Biomedizin einzugehen.

3.4 Grundlegende Mechanismen epigenetischer Kontrolle

Alle chromosomal vererbbaren epigenetischen Modifikationen werden im Chromatin enzymatisch „gesetzt“ und enzymatisch wieder entfernt. Kernbestandteile des Chromatins sind Histon-Protein-Komplexe, die zusammen mit der um sie gewundenen DNA die Kerneinheiten des Chromatins, die Nukleosomen, bilden. Fast die gesamte DNA der Chromosomen ist in Nukleosomen organisiert („verpackt“). Zwischen Nukleosomen liegen kurze Abschnitte freier DNA („linker“). Chromosomenbereiche, die der Regulation von Genen dienen, sind weniger dicht mit Nukleosomen besetzt. Nukleosomen sind daher in genaktiven und geninaktiven Bereichen unterschiedlich dicht auf den Chromosomen angeordnet. Nukleosomen können zusätzlich noch in höheren Ordnungsstrukturen dichter „verpackt“ vorliegen. Solche höheren Ordnungsstrukturen der Chromosomen sind in der Regel auf Dauer unzugänglich für Genregulation. Für eine höhere Ordnungsbildung von Chromatin spielen nicht codierende lange RNA-Moleküle und eine Vielzahl Nicht-Histon-Proteine, die mit dem Chromatin verbundenen sind, eine wichtige Rolle.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Am Chromatin kommt es zu Modifikationen der DNA und Modifikationen der Histon-Proteine (in Nukleosomen). Zusammen bestimmen beide Modifikationen die Verpackungsdichte und Zugänglichkeit der DNA im Chromatin. Die Modifikationen regeln dabei entweder direkt die Erkennung und die Bindung von Molekülen/Enzymen für die Genregulation oder sie blockieren „indirekt" die Zugänglichkeit zur DNA und damit die Möglichkeit des Ablesens (Transkription) der Gene. Epigenetische Modifikationen fungieren somit als „zu lesende und zu interpretierende" Veränderungen im Genom. Für die Umsetzung epigenetischer Prozesse spielen daher drei generelle Proteinklassen eine wesentliche Rolle: Enzyme, die epigenetische Modifikationen setzen („writer"), Enzyme, die die Modifikationen „lesen" und interpretieren („reader") und Enzyme, die die Modifikationen wieder entfernen („eraser"). Dieses generelle Aufgabenspektrum epigenetisch wirkender Enzymklassen spaltet sich weiter in folgende generelle Funktionen auf:

- Enzyme, die Histone an bestimmten Aminosäuren modifizieren
- Enzyme, die Histon-Modifikationen an bestimmten Aminosäuren entfernen
- Enzyme, die modifizierte Histone gegen nicht modifizierte austauschen
- Enzyme, die an modifizierte Histone binden
- Enzyme, die Nukleosomen im Chromatin aktiv verschieben
- Enzyme, die DNA-Basen-Modifikationen setzen
- Enzyme, die DNA-Modifikationen wieder entfernen
- Enzyme, die DNA-Modifikationen binden

Zu der Vielzahl von direkt epigenetisch wirkenden Enzymen kommt noch ein Spektrum von Proteinen, die die Transkription von Genen steuern und die gemeinsam mit den epigenetisch wirkenden Enzymen den Rahmen der Gensteuerung festlegen. Neben Enzymen sind auch kleine oder längere nicht codierende RNAs von großer Bedeutung. Diese sind entweder direkt an epigenetischen Prozessen im Chromatin beteiligt oder steuern außerhalb des Zellkerns nachhaltige epigenetische Prozesse im Zytoplasma.

Im nächsten Kapitel möchten wir zunächst die Bedeutung der DNA-Methylierung betrachten.

3.4.1 DNA-Methylierung

Die DNA-Methylierung ist eine in fast allen Lebewesen vorkommende Form der epigenetischen Modifikation. Sie wird von DNA-Methyltransferasen (DNMTs) gezielt an bestimmte Bausteine der doppelsträngigen DNA gesetzt. Die DNA-Methylierung ist

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

eine chemisch sehr stabile, kovalente Modifikation bestimmter Adenin- und Cytosin-Basen. In Bakterien findet man beide Formen der DNA-Methylierung. Jüngste Befunde deuten an, dass auch in niederen Eukaryonten und in Pflanzen neben Cytosinen auch Adenine spezifisch methyliert vorliegen können (Luo et al., 2015). Die Bedeutung der Adenin-Methylierung ist aber noch nicht abschließend geklärt. Im Menschen (und Säugern) konnte man bislang nur Modifikationen an der Base Cytosin nachweisen. Diese kovalente Modifikation direkt an der Base ist sehr stabil. DNA-Methylierung an Cytosinen verändert zwar die Struktur der Base, nicht jedoch ihre natürliche Eigenschaft, im DNA-Doppelstrang Basenpaarung mit Guanin einzugehen. Das heißt, epigenetisch modifizierte und nicht modifizierte Basen sind – genetisch betrachtet – gleich und werden bei einer Replikation der DNA in gleicher Weise „kopiert". DNA-Methylierung wird durch Enzyme nach erfolgter DNA-Replikation in den DNA-Doppelstrang eingeführt. Ist eine DNA methyliert, kommt es nach jeder Verdopplung der DNA zu der Situation, dass nur noch der Elternstrang diese einmal eingeführte DNA-Methylierung besitzt. Die fehlende epigenetische Information kann aber nachträglich „nachkopiert" werden: Die auf dem alten Strang vorhandene DNA-Methylierung dient als Erkennungs-Signal für diesen epigenetischen Kopiervorgang nach einer DNA-Replikation. Die DNA-Methyltransferase DNMT1 ist das Enzym, das dieses Kopieren Base für Base entlang der DNA durchführt. DNMT1 erkennt dabei methylierte Cytosin-Bausteine in der Basen-Abfolge Cytosin-Guanin (CpG). Die kurze gegenläufige Symmetrie dieser Basen-Abfolge ermöglicht den Kopiervorgang. DNA-Methylierung wird so über Zellteilungen hinweg als Kopie einer „alten" ursprünglichen DNA-Methylierung vererbt. Diese vererbbare Funktion reflektiert sich in der Tatsache, dass jeder Zelltyp unseres Körpers, der aus einer Ursprungszelle hervorgegangen ist, ein charakteristisches epigenetisches Muster dieser Ur-Spezifikation trägt. Variablere Ausnahmen scheinen Neuronen und Stammzellen zu sein. In den sich sehr schnell teilenden Stammzellen und den sich nicht mehr teilenden Neuronen beobachtet man einen Verlust der ursprünglichen DNA-Methylierung an CpG-Basenabfolgen und einen Neugewinn von unspezifischer Methylierung außerhalb dieser Basenabfolge. In Neuronen scheint dieser Prozess altersabhängig stattzufinden. Die biologische Funktion dieser Nicht-CpG-Methylierung ist Gegenstand intensiver Forschung.

Die kanonische DNA-Methylierung an CpG-Dinukleotiden beeinflusst das Andocken von Proteinen an die DNA. Sie kann so direkt (Zugang zu DNA-Abschnitten) oder indirekt (Beeinflussung von Verpackungsproteinen in Chromatin) zur Regulation von Genen beitragen. Je nach Position (Lage und Methylierungszustand) wirkt DNA-Methylierung dabei als ein Signal, das zum Abschalten oder Aktivieren von Genen beiträgt. So werden Bereiche im nahen Umfeld von Genen (Startstellen, Verstärker und Abschal-

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

tungsregionen) häufig über die Menge von DNA-Methylierung so beeinflusst, dass eine Zunahme der DNA-Methylierung zu einer Abnahme der Genaktivität führt. Eine ähnliche Rolle spielt DNA-Methylierung vermutlich in weiten genarmen Abschnitten unseres Genoms. Sie dient hier als ein zentrales epigenetisches Signal, durch dessen Anwesenheit nicht codierende DNA-Elemente, Viren und springende Gene (Transposons) (transkriptionell) abgeschaltet werden. Es wird vermutet, dass diese großflächige epigenetische Stilllegung weiter Teile des Genoms zwei Gründe hat: 1. die Zugänglichkeit des Genoms für Gen-regulierende Faktoren reduziert sich auf die wirklich genreichen Regionen des Genoms und 2. die im Genom angehäuften fremden DNA-Elemente werden daran gehindert, sich weiter auszubreiten, da sie hierfür abgelesen (transkribiert) werden müssten.

DNA-Methylierung existiert, wie oben bereits erwähnt, in nahezu allen multizellulären Organismen. Im Verlauf der Evolution wurden die oben beschriebenen allgemeinen Funktionen der DNA-Methylierung spezifischen biologischen Prozessen angepasst. In Extremfällen kam es dazu, dass sich epigenetische Regulierungen so entwickelt haben, dass Organismen ganz auf DNA-Methylierung verzichten konnten. Hierzu zählen die klassischen Modellorganismen *Saccharomyces cerevisiae* und *Schizosaccaromyces pombe*, *Drosophila melanogaster* (Fruchtfliege) und *Caenorhabditis elegans* (Fadenwurm). Paradoxerweise findet man in nah verwandten Spezies dieser Modellorganismen, die selbst über keine DNA-Methylierung verfügen, durchaus funktionelle DNA-Methylierung mit vermutlich wichtiger genregulatorischer Funktion. In sozialen Insekten (Bienen, Termiten, Ameisen) findet man hochentwickelte Systeme für die DNA-Methylierung. Diese dienen unter anderem der Steuerung von Genen, die für die morphologischen Veränderungen und verhaltensbiologische Anpassung im Verlauf des Lebens benötigt werden. In Bienen wurde beispielsweise beobachtet, dass die Differenzierung von Königinnen durch Inhaltsstoffe in der Ernährung (Gelee Royal) beeinflusst wird, die epigenetische Veränderungen auslösen. Königinnen und „Arbeiterinnen“ unterscheiden sich epigenetisch. Es gibt aber auch Hinweise, dass erlerntes und angepasstes Verhalten über epigenetische Veränderungen im Gehirn gesteuert wird (Wang et al., 2006; Maleszka, 2008).

Auch und besonders in Pflanzen spielt DNA-Methylierung eine zentrale regulatorische Rolle (Henderson/Jacobsen, 2007). So findet man in Pflanzen eine Reihe vererbbarer, adaptiver epigenetischer Prozesse, für deren Vererbung DNA-Methylierung essenziell ist (Hirsch et al., 2012). Pflanzen besitzen ein sehr hochentwickeltes System zur Kontrolle von DNA-Methylierung und es wurden hier sehr spezialisierte Formen epigenetischer Regulierung entdeckt. So kommt es unter anderem (wie oben angesprochen) zu einer Rückkopplung von RNAi-vermittelten Regulationsvorgängen auf

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

die DNA-Methylierung an Startstellen (Promotoren) der Gene. Diese Rückkopplung wird über spezielle RNA-Polymerasen und spezielle, nur in Pflanzen vorkommende DNA-Methyltransferasen vermittelt. Dieser Aspekt einer posttranskriptionellen Gen-Stilllegung wird im nachfolgenden Kapitel eingehender besprochen. Das Zusammenspiel von RNA-Interferenzmechanismen, DNA-Methylierung und Histon-Modifikationen zur epigenetischen Kontrolle der Genregulation hat sehr große Bedeutung für die pflanzliche Anpassung an veränderte Umweltbedingungen.

In Pflanzen kann man durch gezielte Züchtung genetisch identische, aber epigenetisch (DNA-Methylierung) unterschiedliche Sublinien züchten und diese über längere Zeiträume stabil vermehren. Es wird vermutet, dass eine Selektion epigenetisch stabiler Sub-Linien in der Pflanzenzüchtung die Möglichkeiten der Funktions- und Ertragskontrolle erweitert (Quadrana/Colot, 2016).

In Pflanzen wurden zudem erstmalig Mechanismen nachgewiesen, wie DNA-Methylierung durch DNA-Reparaturprozesse gezielt und „aktiv" von Genabschnitten wieder entfernt werden kann, um Gene wieder zu aktivieren (Zheng et al., 2008). Analoge Mechanismen wurden später auch in einigen Vertebraten (Zebrafisch und *Xenopus*) sowie in Säugern (Maus und Mensch) nachgewiesen (Gehring et al., 2009).

Im Säuger, also auch dem Menschen, kann DNA-Methylierung in drei weiteren Modifikationsformen vorkommen. Diese zusätzlichen Modifikationen findet man vornehmlich in Stammzellen und in Neuronen. Aufbauend auf 5-Methyl-Cytosin entstehen dabei, durch sogenannte TET-Enzyme katalysiert, zusätzliche Modifikationen in drei Oxidationsstufen: 5- Hydroxy-Methyl-Cytosin, 5-Formyl-Cytosin und 5-Carboxy-Cytosin. 5-Hydroxy-Methylcytosin (5hm-Cytosin) wird von speziellen Proteinen erkannt und anders als die einfache DNA-Methylierung interpretiert (z. B. bei der Replikation nicht korrekt kopiert). Die höheren Oxidationsstufen 5-Fluoro-Cytosin und 5-Carboxy-Cytosin dienen als Erkennungssignale für die DNA-Reparatur, das heißt, sie sind nur kurzlebig und werden wieder aus der DNA entfernt. Es gibt klare Hinweise darauf, dass oxidative Modifikationen für den Verlust der DNA-Methylierung in der frühen Keimzell- und Embryonenentwicklung wichtig sind (Wossidlo et al., 2011; Seisenberger et al., 2013; Arand et al., 2015; Habibi et al., 2013; Gier et al., 2016). Zurzeit wird die Bedeutung der oxidativen Formen der DNA-Methylierung, die neben Keimzellen und Embryonen vor allem in Stammzellen und Neuronen vorkommt, eingehend untersucht. In allen Zelltypen mit einem hohen Anteil oxidativer Formen der DNA-Methylierung beobachtet man umfassende epigenetische Veränderungen im Verlauf der Entwicklung (Stammzellen) und des Alterns (Neuronen). Es gibt deutliche Hinweise, dass die verschiedenen oxidativen Zustands-Formen der DNA-Methylierung genutzt werden, um in Zellen i) ein kurzfristiges Umschalten von genregulatorischen Effekten zu erreichen

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

und ii) eine epigenetische Programmänderung (Löschen epigenetischer Muster) einzuleiten. So zeigen Untersuchungen in Stammzellen, dass sich die DNA-Methylierung abhängig von den Umweltbedingungen (z. B. Hormone und Vitamine in den Nährmedien) extrem schnell und stark verändern kann und dass hierbei oxidative Modifikationen eine Rolle spielen (Ficz et al., 2013; Habibi et al., 2013; Azad et al., 2013; Giehr et al., 2016; von der Meyen et al., 2016). Es liegt zudem die Vermutung nahe, dass auch in den langlebigen Nervenzellen unseres Gehirns ähnliche dynamische Umwandlungen eine Rolle für das epigenetische und genregulatorische Gedächtnis einzelner Zellen spielen.

3.4.2 Histon-Modifikationen

Die zweite zentrale Ebene der epigenetischen Regulation bilden Modifikationen der Histone. Circa 95 Prozent der DNA unseres Genoms ist um Nukleosomen, das heißt Histon-Protein-Komplexe gewunden und ist somit in weiten Teilen nicht frei zugänglich, sondern „verpackt". In aktiven Genbereichen sind Nukleosome weniger dicht und es gibt Abschnitte freier zugänglicher DNA. Die Verpackungsdichte und die Verteilung der Nukleosomen wird über chemische Modifikationen der Histon-Proteine gesteuert (Kubicek et al., 2006). Modifiziert werden vornehmlich bestimmte Aminosäuren in den Anfangs- und Endregionen der Histon-Proteine H3 und H4. Wichtige Modifikationen findet man aber auch an den Histonen H2A und H2B. Histon-Modifikationen sind zudem extrem variantenreich. Bislang sind etwas mehr als 140 verschiedene Histon-Modifikationsvarianten bekannt. Es handelt sich stets um sogenannte posttranslational eingeführte Modifikationen[3], die meist an polaren und basischen Aminosäuren wie Serin, Threonin, Lysin und Arginin zu finden sind. Die Modifikationen sind chemische Veränderungen in Form von Acetylierung, Methylierung, Phosphorylierung, Ubiquitinierung, SUMOylierung (für eine Übersicht vgl. Kouzarides, 2007). Funktionell kann man zwischen Chromatin-öffnenden (Acetylierung, bestimmte Formen der Methylierung) und Chromatin-verschließenden (Methylierung) Modifikationen unterscheiden, die sich dann entsprechend förderlich oder hemmend auf das Ablesen von Genen auswirken. Histon-Modifikationen werden durch spezifische Enzyme an Histonen angebracht, wenn diese bereits als Proteinkomplexe in Nukleosomen vorliegen. Eine spezifische Modifikation von Histonen durch Enzyme („Writer") erfolgt daher stets ortspezifisch. Die Histon-modifizierenden Enzyme sind spezifisch für die Art und Ausprägung der Modifikation. Sie finden ihre Ziel-Histone im Chromatin mithilfe von spe-

3 Posttranslationale Modifikation bedeutet, dass die Modifikation am „reifen" Protein angebracht wird, nachdem der Prozess der Translation – der Übersetzung von Nukleotid- in Aminosäuresequenz – erfolgt ist.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

ziellen Proteinen, die sie an ihre Zielstrukturen heranführen. Histon-Modifikationen werden umgekehrt von spezifischen Histon-demodifizierenden Enzymen ebenfalls ortspezifisch wieder gelöscht („Eraser“).

Man geht davon aus, dass der Grundzustand für die meisten Zellen Modifizierungen vorsieht, die zu einem Verschließen/Verpacken weiter Abschnitte des Genoms führen. Wie für die DNA-Methylierung bereits oben diskutiert, werden weite Teile des Genoms, in dem wenige oder nur selten gebrauchte Gene liegen, durch verschließende „heterochromatisch“ wirkende Modifikationen inaktiv gehalten. Gene, die zellspezifisch angeschaltet sein müssen, werden dagegen aktiv „freigeschaltet“, unter anderem, indem Histon-modifizierende Enzyme zielgerichtet mithilfe anderer regulatorischer Proteine (zum Beispiel PCG- und TRX-Komplexe, siehe folgender Abschnitt) an die Gene und Genschalter herangeführt werden. Die Nukleosomen im Bereich dieser aktiven Gene werden dann gezielt so modifiziert, dass sie einen loseren Verpackungszustand einnehmen. Es kommen dann Enzyme hinzu, die solche „losen“ Nukleosome aktiv entlang der DNA verschieben können und damit genspezifische DNA-Steuerelemente freilegen. Die Steuerelemente werden dann von Transkriptionsfaktoren gebunden und die genspezifische RNA-Kopie hergestellt (abgelesen). Histonmodifikationen bestimmen aber auch darüber, wie häufig und wie stark ein Gen dann wirklich als RNA abgelesen wird. Einige dafür wichtige Modifikationen sitzen in direkter Nachbarschaft zu diesen Genschaltern. Andere Modifikationen sind über das gesamte abgelesene Gen verteilt und beeinflussen die Vollständigkeit des Ablesens.

Im Lauf der Entwicklung und Differenzierung entsteht in jeder Zelle ein eigenes langfristiges Gedächtnis dieser genspezifischen Chromatinorganisation in Form einer regional feststellbaren Histon-Modifikation (siehe Kapitel 3.5). Die Histon-Modifikationsmuster legen fest, welche Gene aktiv und welche inaktiv sind, welche Gene stark und welche Gene schwächer abgelesen werden und welche Ausführungen eines Gens (Splice-Varianten, alternative Länge etc.) geformt werden. Für die Festlegung zelltyp-spezifischer Histon-Modifikationen an Genen sind im Verlauf der Entwicklung und Zelldifferenzierung Proteinkomplexe verantwortlich. Man unterscheidet dabei zwei Arten: die abschaltenden, das Chromatin verschließende Polycomb-Gruppen-Proteinkomplexe (PCG-Komplexe) und deren Gegenspieler, die aktivierenden Trithorax-Komplexe (TRX-Komplexe). Beide Komplexe enthalten gegensätzlich wirkende Histon-Modifikationsenzyme, die präzise an genregulatorischen Abschnitten wirken und so Gene nachhaltig markieren, an- oder abschaltbar zu sein (Whitcomb et al., 2007).

Histonmodifikationen können, wie bereits erwähnt, nicht nur durch das An- und Abschalten der Gene über Histon-Modifikationen beeinflusst werden, sondern auch durch Prozesse der RNA-Reifung („Splicing“), die während des Ablesens der RNA statt-

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

finden. Es zeigt sich, dass es ein enges Wechselspiel zwischen der Geschwindigkeit des Genablesens, der Chromatinstruktur und den nachgeschalteten Prozessierungen gibt. Generell ist festzuhalten, dass Histon-Modifikationen eine ganze Reihe von Prozessen der Genregulation beeinflussen. Die genaue lokale Kenntnis der Histon-Modifikationen ermöglicht, zwischen diesen verschiedenen Ebenen der Regulation genauer zu unterscheiden.

Eine Reihe von Genen weist eine ganz besondere Form der epigenetischen Steuerung auf. So hat man zunächst in Stammzellen beobachtet, dass diese Gene eine Doppel-Kombination von einerseits öffnenden und andererseits verschließenden Histon-Modifikationen an genregulatorischen Bereichen aufweisen, das heißt, sie sind potenziell an- oder abschaltbar. Die Etablierung dieses „bivalenten" epigenetischen Zustandes ist in Stammzellen offensichtlich wichtig, um die Zellen in einem pluripotenten Zustand zu verankern. Mit diesem bivalenten Zustand sind die Zellen in der Lage, Gene schnell epigenetisch „umzuprogrammieren" und sich so in verschiedene Typen von Zellen zu differenzieren (Bernstein et al., 2006; Mikkelsen et al., 2007; Chi/Bernstein, 2009). Die sich in einem bivalenten epigenetischen Wartezustand befindlichen Regionen reagieren dabei feinfühlig auf exogene Reize, die die Zell-Differenzierung beeinflussen. Jüngste Befunde zeigen, dass eine Reihe dieser zwischenzuständlichen (bivalenten) Genschalter über die Entwicklung hinweg erhalten bleiben und selbst in adulten Zellen noch vorhanden sind. Solche bivalenten Modifikationszustände findet man vor allem an Genen, die je nach Zellzustand dynamisch geregelt werden müssen, wie zum Beispiel Gene, die den Metabolismus oder die Zellbeweglichkeit regeln (Kinkley et al., 2016). Der epigenetische Zwischenzustand – das heißt schnell an- oder abschaltbar zu sein – wird an diesen Genen in vielen Zellen ein Leben lang epigenetisch beibehalten/vererbt.

Modifikationen am Chromatin können aber auch nur sehr kurzlebig sein. Eine Reihe dynamischer, nicht primär vererbter Funktionen im Zellkern steuert viele zelluläre Prozesse. So sind viele generelle Prozesse der Zellzyklusregulation, der Zellteilung, der Umbauvorgänge an Genomen („Rekombination" genetischen Materials) und der Wiederherstellung von Chromosomen nach einer Schädigung (DNA-Reparatur) über sich verändernde Chromatin-Modifikationen gesteuert. Einige „epigenetische" Prozesse, zum Beispiel solche, welche die Zellteilung (Mitose und Meiose) oder Rekombinations- und Reparaturvorgänge steuern, treten nur temporär auf. Sie werden nach erfolgtem Prozess wieder entfernt. Sie unterscheiden sich daher von den nachhaltigen, „vererbbaren" epigenetischen Modifikationen einer Zelle, die genregulatorische Prozesse steuern.

Generell steuern die oben beschriebenen Histon-Modifikationen in allen Organismen sehr ähnliche funktionelle und regulatorische Prozesse. Interessanterweise gibt

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

es aber auch artenspezifische Unterschiede. Im Extremfall kann eine Modifikation ganz anders „genutzt“ werden oder ein Modifikationstyp komplett fehlen. So fehlt in der Bäckerhefe eine Histon-Modifikation, die in allen höheren Organismen essenziell für die dichte Verpackung von Chromatin ist. In Hefe, *(C. elegans)* und weitgehend in der Fruchtfliege *(Drosophila)* fehlt wie bereits erwähnt die DNA-Methylierung. Wie weit verbreitet solche artspezifischen Veränderungen sind, ist noch nicht abschließend geklärt.

In normalen, gesunden Zellen gibt es eine Reihe von Kontrollebenen (mehrere Formen von Histon-Modifikationen, Art und Verbreitung der DNA-Methylierung), die dafür sorgen, dass eine einmal gesetzte epigenetische Genregulation stabil erhalten bleibt. In erkrankten Zellen kommt es jedoch häufig zu Fehlern in dieser epigenetischen Programmsteuerung. Die erkrankten Zellen verlieren ihr epigenetisches Ursprungs-Gedächtnis und Gene werden entweder fehlerhaft an- oder abgeschaltet oder fehlerhafte RNAs des Gens abgeschrieben. Für eine Umkehrung dieser fehlerhaften epigenetischen Schalter bieten Histon-modifizierende Enzyme eine sehr gute Möglichkeit, neue Formen direkter, epigenetisch ausgerichteter Therapien zu entwickeln und diese auf Zellen oder im Organismus anzuwenden. Vor allem Enzyme, die für das epigenetische Anschalten von Genen in bestimmten Zellen benötigt werden, eignen sich als sehr gute Zielmoleküle für die Entwicklung neuer chemisch orientierter therapeutischer Ansätze. Das Ziel ist es, eine in erkrankten Zellen beobachtete fehlerhafte enzymatische Aktivität zu unterdrücken (inhibieren). In einem der nachfolgenden Kapitel werden diese sich bereits in klinischer Prüfung befindlichen biotechnologischen Ansätze genauer beschrieben.

Histon-Modifikationen werden an Proteinen gesetzt oder entfernt, die in Nukleosomen eingebaut wurden. Als Bestandteile von Nukleosomen werden sie bei jeder Zellteilung verdoppelt, das heißt, es müssen neue unmodifizierte Histone in das Chromatin der Tochter-Chromosomen eingefügt werden. Es ist eine noch nicht ganz gelöste Frage, wie bei diesem Prozess die alten Histon-Modifikationsmuster stabil am Genort beibehalten werden, das heißt auf die neu integrierten Histone vererbt werden. Nach jeder Chromosomenverdopplung (Replikation) bestehen die Chromosomen aus einem Mosaik aus alten modifizierten und neuen nicht modifizierten Histonen. Die epigenetische Information der „alten“ Histone in den Chromosomen wird offensichtlich lokal durch einen noch nicht näher bekannten Kopiermechanismus auf die neuen Histone in den Nukleosomen übertragen (vgl. Knippers, 2015). Bei diesem Kopieren kommt es unzweifelhaft zu Fehlern, die im Verlauf häufiger Zellteilungen auch eine direkte Auswirkung auf das natürliche Altern und Überleben von Zellen haben kann. Prozesse des Alterns und der genomischen Instabilität werden mit solchen Fehlern in Verbindung gebracht.

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

In vielen Zellen kann jedoch die Nichtteilungsphase (die Ruhephase) extrem lange dauern. So erstreckt sich die Ruhephase menschlicher Neurone oder bestimmter Körper-Stammzellen über viele Jahrzehnte. Hier kommt es zum altersabhängigen Verlust epigenetischer Information. Dieser fortschreitende Verlust eines epigenetischen Gedächtnisses hat vermutlich weitreichende Konsequenzen auf die oben angesprochenen Ebenen der Genregulation und trägt vermutlich zu dem Altern der Zellen bei.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass Histon-Modifikationen und Histon-modifizierende Enzyme eine zentrale und vielfältige Bedeutung für die Regulation vieler allgemeiner sowie zell- und genspezifischer Prozesse haben. Es bieten sich hier direkte Angriffspunkte, um fehlerhafte epigenetische Steuerungsvorgänge in Krankheitsprozessen wieder umzukehren. In Kapitel 5 dieses Bandes wird auf Ansätze zur Entwicklung von Wirkstoffen gegen Histon-modifizierende Enzyme eingegangen.

3.4.3 Epigenetik „nicht codierender“ RNA

In den vergangenen Jahrzehnten haben die Entdeckungen neuer Klassen kleiner RNA-Moleküle und langer nicht codierender RNA-Moleküle dazu geführt, dass eine vollkommen neue Ebene der Genregulation entdeckt wurde, die man oft unter dem Begriff RNA-Interferenz oder RNAi zusammenfasst. Vor allem eine Reihe kleiner RNAs wirkt sich innerhalb und außerhalb des Zellkerns auf die Regulation der primären Genprodukte, den mRNAs, aus. Außerhalb des Zellkerns dienen sie der Regulation, der Nutzung und der Stabilität abgelesener Genprodukte (mRNAs). Innerhalb des Zellkerns können diese regulatorischen RNAs auch direkt epigenetische Veränderungen im Chromatin von Genen auslösen.

Kleine RNAs dienen, wie oben bereits kurz angesprochen, als „regulatorische Botenmoleküle“ zwischen Zellen, da sie über Zellbrücken ausgetauscht werden. Sie können so von Zelle zu Zelle und über Organe hinweg neue epigenetische Prozesse auslösen. Solche systemischen RNA-vermittelten epigenetischen Vorgänge sind sehr stark im Fokus epigenetischer Forschung in Pflanzen. In Pflanzen kommt es unzweifelhaft zur Weitergabe von kleinen RNA-Molekülen von Zelle zu Zelle. Diese Weitergabe kann eine nachhaltige epigenetische Wirkung (Genregulation) im Zellkern der Empfängerzelle auslösen. Die (meist kleinen) RNAs wirken hier als eine Art „Botenmoleküle“. Sie lösen an bestimmten Zielgenen neue epigenetische Zustände aus. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass eine frühe epigenetische Programmierung des pflanzlichen Embryos durch mütterlich vererbte Proteine beziehungsweise RNA-Moleküle erfolgen kann. Es ist jedoch noch unklar, in welchem Ausmaß diese Vorgänge im Menschen oder in Tieren stattfinden. In der Tier- und Pflanzenzucht kennt man seit langem Beispiele (rezipro-

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

ker) Hybridkreuzungen mit unterschiedlich ausgeprägten Eigenschaften, die vermuten lassen, dass vor allem mütterlich vererbte Moleküle wichtige epigenetische Faktoren sind (Youngson/Whitelaw, 2008). Kleine RNAs könnten hier eine zentrale Rolle spielen.

Ein enges Wechselspiel zwischen strukturell und katalytisch wirkenden RNAs und epigenetischen Modifikationen beobachtet man in vielen Modellorganismen, wie Hefe, Fruchtfliege, Fadenwurm, Maus und der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*). Wie bereits erwähnt, wurde die Bedeutung kleiner RNAs ursprünglich im Zusammenhang mit Expressionskontrolle und Chromatin-Struktur vor allem in Pflanzen identifiziert, sodass grundlegende Zusammenhänge über die Wirkung kleiner RNAs auf Genregulation aus der Pflanzen-Epigenetik stammen (Baulcombe, 2004).

Im Menschen liegt der Fokus auf der Wirkung von kleinen RNAs, die oftmals selbst über epigenetische Modifikationen (z. B. über Promoter-Methylierung oder Chromatin-Modifikationen) zellspezifisch reguliert werden. Viele miRNAs üben eine beachtliche Wirkung auf die Translation und Stabilität von mRNA[4] aus. Kleine doppelsträngige RNAs führen darüber hinaus Histon- und DNA-modifizierende Enzyme an bestimmte Zielregionen im Bereich der Zentromere und Telomere, um hier spezifische Chromatinstrukturen nach der Replikation neu zu etablieren. In Keimzellen induzieren kleine RNAs ein effizientes epigenetisches Abschalten der Transkription von transposablen Elementen und verhindern deren Verbreitung im Genom.[5] Diese Stilllegungs-Prozesse werden von speziellen Klassen kleiner (si, casi, pi) RNAs gesteuert. Ein ähnliches enges Wechselspiel zwischen den kleinen dsRNAs und epigenetischer Genregulation findet man an ribosomalen und epigenetisch geprägten („imprinted“)[6] Genen im Menschen.[7] Neben den kleinen RNAs spielen hier lange nicht codierende RNAs (lincRNS), wie XIST oder AIR und HOTAIR, ebenfalls eine entscheidende Rolle für die epigenetische Genkontrolle. So ist die lange, nicht codierende RNA XIST (lncRNA) der Auslöser für die Stilllegung aller Gene auf dem inaktiven X-Chromosom in Frauen (Gen-Dosiskompen-

4 Die sogenannte „messenger RNA“ (mRNA) ist die komplementäre Kopie einer codierenden Gensequenz der DNA. Sie transportiert die Information ihres Gens aus dem Zellkern in das Zytoplasma, wo sie als Matrize der Proteinbiosynthese dient, d. h., die DNA-Basenabfolge wird über die Boten-RNA in die Aminosäuresequenz eines Proteins übersetzt.

5 Im Gegensatz zum sogenannten Euchromatin ist Heterochromatin fest verpacktes, inaktives Chromatin. In der Regel betrifft das genarme Sequenzen sowie die Mitte (Centromere) und die Enden (Telomere) der Chromosomen.

6 Als „Imprinting“ bezeichnet man die Vererbung von DNA- und Histon-Modifikationen, welche dazu führen, dass die derart „gekennzeichneten“ Kopien von Genen (Allelen) eines Elternteils stillgelegt werden und die Allele des anderen Elternteils bevorzugt exprimiert werden.

7 Ribosomale Gencluster sind Anhäufungen von Genen, die für Komponenten der Ribosomen, der „Translationsmaschinerie“ der Zellen, codieren.

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

sation) (Clerc/Avner, 2006), indem sie eine stabile, nachhaltige Ausbildung bestimmter Histon- und DNA-Methylierungsveränderungen auf dem X-Chromosom induziert.

In menschlichen Krebszellen ist häufig ein epigenetisch fehlreguliertes An- oder Abschalten von kleinen und langen nicht codierenden RNAs zu beobachten. Häufig findet man eine fehlerhafte DNA-Methylierung an den Startstellen für diese RNA-Transkripte. Als Folge der epigenetischen Fehlregulation von zum Beispiel miRNAs werden dann miRNA-Ziel-Gene (Transkripte) verringert, abgebaut oder fehlerhaft translatiert. Im Menschen scheint es hier einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen der Menge der nicht codierenden RNAs und ihrer sekundären Wirkung auf Gene/Transkripte zu geben. In Pflanzen (und niederen Tieren) kommt es dagegen häufig zu einem zusätzlichen (sekundären) verstärkenden Effekt. Ausgelöst durch erste kleine RNAs werden zusätzliche neue kleine RNAs gebildet. Diese kleinen (sekundären) doppelsträngigen RNAs erzeugen erst die Wirkung auf die Genregulation der proteincodierenden Gene. Diese speziellen Mechanismen wurden vermutlich als Abwehr gegen fremde Viren entwickelt. Sie haben sich im Verlauf der Evolution aber auch angepasst und werden für amplifizierende Antworten in der Genregulation genutzt (siehe folgendes Kapitel). Diese sekundären Mechanismen (die im Menschen auch in veränderter Form in Keimzellen zu finden sind) sind Gegenstand intensiver Forschung und eröffnen in Pflanzen eine neue biotechnologische Angriffs-Ebene für epigenetische Interventionen, um nachgeschaltete Prozesse zu verstärken (Virenabwehr) oder zu inhibieren (Regulation pflanzeneigener Gene). Die funktionelle Bedeutung reicht hier von der direkten Gen-Kontrolle im Verlauf der Entwicklung bis hin zur Abwehr von Viren (Stilllegung). Diese Aspekte werden im folgenden Kapitel eingehend diskutiert.

Aktuell lässt sich die Bedeutung kleiner und langer nicht codierender RNA für die Steuerung epigenetischer Prozesse im Menschen noch nicht vollständig abschätzen. Dies liegt zum einen daran, dass diese RNAs in einer noch nicht gänzlich verstandenen Vielfalt vorkommen. Zum anderen gestalten sich ihre Interaktionen mit den anderen epigenetischen Kontrollebenen sehr vielfältig. Neueste Befunde zeigen etwa, dass ein bislang relativ unbekannter Typ langer zirkulärer RNA (circRNA) bedeutsam ist, um die Funktion der kleinen RNA zu modulieren: circRNAs dienen unter anderem als miRNA-„Speicher“ („sponges“). Ausgehend von den Effekten, die man in verschiedensten Modellorganismen beobachtet, ist allerdings anzunehmen, dass es auch beim Menschen eine enge Interdependenz zwischen kleinen strukturell und enzymatisch wirkenden RNAs und epigenetischer Steuerung der Genomfunktionen gibt. Auch aus diesem Grund wird es wissenschaftspolitisch von ganz fundamentalem Interesse sein, die Forschung insbesondere in diesen sich aufeinander zubewegenden Bereichen zu vernetzen und zu fördern.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Beeindruckende neue Forschungsergebnisse haben ein altes Forschungsgebiet zu neuem Leben erweckt. Diese neuen Befunde zeigen, dass nicht nur tRNA und rRNA, sondern auch mRNA-Moleküle nachträglich „epigenetisch" modifiziert werden können und wichtige entwicklungsbiologische Prozesse steuern (Stunnenberg et al., 2015). Vor allem die Methylierung von Adenin-Basen wurde hier als eine wichtige, die Stabilität kontrollierende Modifikation entdeckt. Es gibt zudem eine Reihe von Hinweisen auf weitere noch nicht genauer lokalisierbare Modifikationen in vielen RNA-Spezies. Wie die epigenetische Steuerung dieser RNAs erfolgt, ist ein bislang wenig beforschtes Feld. Allerdings wurde die große Bedeutung der RNA-Epigenetik bereits erkannt und in Deutschland und den USA wurden neue Forschungsvorhaben zu diesem Themenkomplex gestartet.

3.5 Epigenomforschung

Die gleichen Chromosomen in jedem Zelltyp eines Organismus sind mit unterschiedlichen zelleigenen epigenetischen Markierungen versehen. Die Gesamtheit der epigenetischen Veränderungen bezeichnet man als Epigenome, die Erforschung und Interpretation dieser epigenetischen Muster als Epigenomik (engl. Epigenomics). Epigenomische Daten bieten systembiologische Einblicke in die Funktion und Interpretation des universellen Genoms. Die strukturellen und funktionellen Informationen von Epigenomkarten eröffnen neue Einsichten in die Nutzung genomischer Information in Zellen, in Geweben, in Organen und im gesamten Organismus. Nahezu alle primären regulatorischen Phänomene des Genoms, das An- und Abschalten von Genen (Transkription), die Prozessierung von RNAs (Beginn und Ende der RNA-Synthese), die Geschwindigkeit der RNA-Synthese, die Prozessierung von RNA (Splicing), die Modifikationen von RNAs sind mittelbar oder unmittelbar mit epigenetischen Veränderungen der DNA oder des Chromatins verknüpft.

Mithilfe epigenomischer Daten können nicht nur Gen-Einheiten präziser bestimmt und klassifiziert werden, epigenomische Daten erlauben, die Funktion bislang unbekannter DNA-Abschnitte zu klassifizieren („zu annotieren"). Man beginnt in großen Epigenom-Programmen, wie ENCODE und IHEC, gerade einen Katalog neuer „regulatorischer DNA-Abschnitte" mithilfe epigenetischer Daten zu erstellen. Es erschließen sich hieraus neue Konzepte für die Genregulation in spezialisierten Zellen. So sind zellspezifische Genschalter oft weit entfernt vom regulierten Gen. Die genaue genspezifische Zuordnung erfolgt i) durch eine epigenetische Klassifizierung und ii) durch neue epigenomische Methoden, diese räumliche Zuordnung im Zellkern abzubilden. Die räumliche Verortung geschieht dabei durch sogenannte „conformation capture"-Analysen, die wir im folgenden Abschnitt noch näher erklären werden.

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Die noch relativ junge Epigenomik hat aber international bereits einen festen Platz in der Biologie und der Medizin eingenommen. Die meiste Aufmerksamkeit erlangt die Epigenomik zurzeit in der medizinischen Krankheitsforschung, der Entwicklungsbiologie, der Neurobiologie, der Züchtungsforschung und der Stammzellforschung.

Kernfragen der Epigenomforschung

- Wie sind Genome und Gene in unterschiedlichen Zellen eines vielzelligen Organismus epigenetisch programmiert und strukturiert?
- Welche übergreifenden epigenetischen Codierungen findet man im Genom einzelner Zellen und wo unterscheiden sich diese zwischen Zellen?
- Welche Auswirkung hat die individuelle genetische Ausstattung auf die epigenetische Steuerung von Genen?
- Wann und durch welche epigenetischen Prozesse werden Gene transkriptionell und posttranskriptionell reguliert?
- Welche epigenetischen Veränderungen sind im Verlauf von Erkrankung, Umweltveränderungen oder Altern zu beobachten? Welche dieser Veränderungen sind zellspezifisch und welche sind in allen Zellen zu beobachten?
- Wie verändern sich Genprogramme im Verlauf der Entwicklung und Differenzierung?
- Welche evolutiven Unterschiede epigenetischer Regulation findet man im Menschen im Vergleich zu Modellorganismen?

Um die verschiedenen Ebenen und Daten der Epigenomik besser einordnen zu können, möchten wir zunächst einige Kernmethoden der epigenomischen Analyse erläutern, um dann auf die weitere Bedeutung epigenomischer Analysen einzugehen.

3.5.1 Kartierung von Histon-Modifikationen mithilfe von Chromatin-Immunpräzipitation und genomweiter Sequenzierung (ChIP-Seq)

Die Erfassung von epigenetischen Modifikationen entlang des Genoms erfolgt über die Technik der Chromatin-Immunpräzipitation. Diese wird seit circa 15 Jahren genutzt, um Histon-Modifikationen im Chromatin des intakten Kerns genomweit zu lokalisieren. Man benutzt hierzu Antikörper (AK), die spezifisch gegen epigenetische Modifikationen von Histonen gerichtet sind. Zunächst wird Chromatin isoliert, fixiert und mit AK „inkubiert“, die an die modifizierten Histone im Chromatin binden können. Man fragmentiert dann das an AK gebundene und chemisch fixierte Chromatin in kleine, 1-2 Nukleosomen (200–400 Basen) umfassende Einheiten und extrahiert über ein AK-spezifisches Selektionsverfahren die Nukleosomen, die den AK gebunden haben.

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Die DNA der angereicherten Nukleosomen wird dann isoliert und im Hochdurchsatzverfahren sequenziert. Die Verteilung der sequenzierten ChIP-DNA-„Fragmente“ gibt dann indirekt Auskunft, an welchen Stellen des Genoms die Modifikationen angereichert vorlagen. Für eine umfassende Histon-Modifikationskarte wird die Erfassung von sieben Histon-Modifikationen gemäß IHEC-Standards als ausreichend angesehen, um das Genom funktionell in aktive und inaktive Gene und Genschalter wie auch Bereiche ohne nachweisbare Genfunktion mit meist verdichtetem Chromatin einteilen zu können. Spezielle computergestützte, integrierte Modellbildungen (ChromHMM) erlauben es, durch Überlagerung von Histonmodifikationen diese „Aktivitätszustände“ zu verorten. Elektronische Kartierungshilfen, sogenannte „Epigenom-Browser“, ermöglichen es dann, diese komplexen Datensätze an einem Vergleichs-Genom auszulesen und visuell zu betrachten.

Die Kartierung von Histon-Modifikationen mithilfe von ChIP ist eine Schlüsseltechnologie in der Epigenomik. Sie hat jedoch zwei methodische Einschränkungen, die zu beachten sind: 1) Für die Erfassung eines kompletten Epigenoms benötigt man eine ausreichend große Menge (mindestens 1 Million) frischer, intakter Zellen. Da diese oft nicht zu erhalten sind, beschränken sich ChIP-Seq-Analysen oft „nur“ auf das Auslesen von drei „aktiven“ Kern-Histonmodifikationen am Histon H3 (H3K4me1 und H3K4me3, H3K27Ac), mit denen man den Chromatinzustand an aktiven Genschaltern (an/aus) auslesen kann. 2) Die ChIP-Technologie erfasst nur die *relative* Anreicherung oder Abreicherung von Modifikationen an bestimmten Stellen des Genoms. Sie ist daher nur eingeschränkt quantitativ. Eine vergleichende Bewertung von Histonmodifikations-Veränderungen bedarf daher einer qualifizierten bioinformatischen Auswertung.

3.5.2 Kartierung von DNA-Methylierung durch Bisulfitsequenzierung

Nur circa zwei bis drei Prozent der Cytosine eines menschlichen Genoms sind methyliert. Mithilfe der Bisulfit-Sequenzierung kann man diese Modifikation basengenau lokalisieren. Eine chemische Umwandlung von DNA dient hier als Ausgangspunkt. Nach dieser Umwandlung besteht die DNA fast nur noch aus den drei Basen Adenin, Guanin und Thymin. Alle nicht methylierten Cytosine (C) (ca. 96%–97%) wurden zu Thyminen (T) umgewandelt. 5-Methyl-Cytosin (5mC) wird jedoch nicht umgewandelt und erscheint bei der Sequenzierung der umgewandelten DNA als Cytosin. Man kann so die Position und die Anzahl der methylierten 5mC-Basen genau bestimmen. Bisulfit-Sequenzdaten werden an einem Referenzgenom orientiert und die Anzahl der methylierten Cytosine und der nicht methylierten Cytosine bestimmt. Die Daten können dann in einem Genome Browser visualisiert werden.

https://doi.org/10.5771/9783748938-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

DNA-Methylierungskarten bieten einen großen funktionellen Informationsgehalt. Die differentielle Musterbildung der DNA-Methylierung spiegelt in weiten Teilen die Verteilung von aktiven und inaktiven Histon-Modifikationsmustern. Mit der entsprechenden Kenntnis von ChIP-Seq-Daten aus Referenzen (Zellen) lassen sich daher Zustände indirekt zurückverfolgen. DNA-Methylierungskarten sind technisch gesehen robuster zu erstellen als ChIP-Seq-Daten, da DNA aus nahezu allen (auch gefrorenen, getrockneten oder selbst mumifizierten) Zellen in ausreichender Menge gewonnen werden kann.

Eine genomweite Bisulfitsequenzierung liefert sehr präzise und quantitative Daten. Um dies zu erreichen, muss das Genom allerdings mindestens in einer 30-fachen Abdeckung sequenziert werden. Die genomweite Bisulfitsequenzierung (WGBSeq = Whole Genome Bisulfite Sequencing) ist daher relativ kostspielig. In alternativen Ansätzen wird daher auch teilweise nur ein repräsentativer Anteil (ca. 5% aller methylierten Cytosine) durch RRBSeq (Restriction based Representative Bisulfite Sequencing) erfasst. Beide Methoden, WGBS und RRBS, sind mittlerweile Routineanwendungen in der Epigenomkartierung.

3.5.3 Bestimmung offener Chromatinstellen

Kurze Abschnitte an Startstellen und Kontrollstellen aktiver Gene sind häufig nicht mit Nukleosomen besetzt. Diese „offenen“ Chromatinbereiche kann man mithilfe von DNA-schneidenden Enzymen wie der Nuklease DNAse I oder modifizierten Transposasen markieren. Hierzu lässt man DNAse I oder die Transposase („Tagmentase“) in Zellkerne diffundieren, in denen Chromatin noch intakt vorliegt. An Positionen, die nicht von Nukleosomen besetzt sind, wird die DNA von den Enzymen gespalten. Es entstehen so kurze DNA-Fragmente in diesen „offenen“ Regionen, die über Next-Generation-Sequenzierung (NGS) bestimmt werden. Die Zahl der sequenzierten „DNA-Fragmente“ in bestimmten Genomabschnitten gibt dann Auskunft über die Verteilung offener Chromatinstrukturen im Genom. Durch Überlagerung dieser Daten mit ChIP-Seq-Daten erhält man direkte Auskunft über den Zustand von genregulatorischen Bereichen: offen oder geschlossen, aktiv oder nicht aktiv. Die Kartierung offener Chromatin-Abschnitte wird zunehmend zu einer wichtigen Technik der Epigenomik. Sie liefert schnelle Einsichten in genregulatorische Veränderungen in medizinisch orientierten Forschungsfragen. „ATAC-Seq“, eine Methode, die eine Transposase nutzt, erhält seit einiger Zeit besonders viel Zuspruch, da sie einfach anzuwenden ist und zudem mit kleinsten Zellzahlen durchführbar ist.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

3.5.4 Vermessung der Chromosomenanordnung in Zellen

Für viele „offene“ Chromatin-Abschnitte ist klar, dass sie wichtige regulatorische Funktionen haben, es ist aber unklar, welches der in der Nähe liegenden Gene von diesen Elementen aus gesteuert wird. Es zeigt sich immer mehr, dass regulatorische Elemente mit offenen Chromatin-Abschnitten nicht immer für die Regulation des nächstliegenden Gens genutzt werden, sondern weit entfernte Gene steuern. Die Konformation (d. h. die räumliche Zuordnung von Genen im Zellkern) und deren regulatorische Schalter können nur direkt im Zellkern analysiert werden. Durch sogenannte „conformation capture“-Methoden (wie z. B. Hi-Seq und 3C-Seq) kann man ermitteln, wie die räumliche Regulation im Zellkern stattfindet. Die Methoden sind experimentell komplex und sind kostenintensiv, da sie eine große Sequenzierungstiefe verlangen. Sie wurden daher zunächst nur für kleine Genome von Modellorganismen angewandt, haben aber in jüngster Zeit auch den Einzug in die humane Epigenomforschung gefunden. In den USA wurde gerade ein eigenes Forschungsprogramm „4D-Nucleome“ aufgelegt, in dem die räumliche und zeitliche Ausrichtung von Chromosomen und Genstrukturen aufgeklärt werden soll.

3.5.5 Funktionelle Interpretation durch RNA-Seq

Die funktionelle Interpretation epigenomischer Daten (Histone, DNA-Methylierung, offenes Chromatin, Chromatin-Interaktionen) benötigt in jedem Fall die genaue Kenntnis des Expressionszustandes des Genoms. Die Ermittlung der gesamten RNA-Transkriptions-Einheiten des Genoms, angefangen von den vielen Formen kleiner RNAs über lange, nicht codierende RNAs bis zu den gespleißten RNA Varianten ist eine unabdingbare Voraussetzung für eine umfassende biologische Bewertung epigenetischer Veränderungen. Alle modernen epigenomischen Projekte nutzen hierzu NGS-basierte RNA-Seq-Technologien. Der Trend geht hier zunehmend in Richtung Einzellsequenzierung, um unter anderem die Heterogenität von Zellen und in Geweben zu bestimmen. Welche zusätzlichen Informationen bieten epigenomische Daten, um die Expression von Genen und Genomen besser zu verstehen?

- Epigenetische Daten tragen dazu bei, RNA-Transkriptionseinheiten im Genom präziser zu annotieren.
- Sie geben Hinweise für die Entstehung und Regulation von RNA-Transkriptvarianten.
- Sie helfen, zellspezifische Regulationsebenen und Regulationsmechanismen der zellspezifischen Steuerung von Genen zu identifizieren.
- Sie ermöglichen es, genomische Ursachen von Expressionsvariation und Fehlregulation zu verorten.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

3.5.6 Epigenomik und Bioinformatik (Computational Epigenomics)

Der Auswertung der großen NGS-Datenmengen, die durch Epigenomanalysen entstehen, kommt eine zentrale Bedeutung zu. Für die Auswertung dieser komplexen Daten hat sich ein eigener bioinformatischer Bereich der Computational Epigenomics etabliert. Epigenomdaten sind eine extrem reiche Quelle für viele weiterführende vergleichende und systembiologische Analysen (Robinson, M.D/Pellizola, M., 2015).

Für die Auswertung epigenomischer Daten nutzt man eine Reihe modellbildender und statistischer Verfahren. Dies birgt die Gefahr von Datenverzerrungen, die zu fehlerhaften Interpretationen führen können. Eine transparente Darstellung der Rohdaten und der genutzten Auswerteverfahren ist daher von zentraler Bedeutung für die Bewertung epigenomischer Daten. Zu beachten ist dabei, dass die Nutzung epigenomischer Daten bereits auf einer höheren Analyseebene ansetzt und hier Datenverzerrungen schwerwiegende Konsequenzen haben können. Die Abfolge epigenomischer Datenauswertung beinhaltet folgende generelle Schritte:

Nach einer qualitativen Bewertung epigenomischer NGS-Rohdaten werden diese entlang eines Referenz-Genoms verortet „primär kartiert". Im nächsten Schritt werden die kartierten Sequenzdaten sekundär epigenetisch „klassifiziert", das heißt, die in den Primärsequenzen enthaltenen epigenetischen Modifikationsinformationen werden extrahiert und genauen Basen (DNA-Methylierung) oder Genomabschnitten (ChIP-Seq, RNA-Seq, HiSeq, ATAC-Seq) zugeordnet. Die epigenomischen Primär- und Sekundär-Daten werden in öffentlichen Datenbanken wie dem European Genome Archive (EGA) oder dem European Nucleotide Archive (ENA) gespeichert. Sie sind dort direkt abrufbar, aber können auch in Form von annotierten Genom-Listen abgerufen und für weitere „integrierte, funktionelle" Analysen genutzt werden. Darüber hinaus werden sie zu Genom-Browsern „verlinked" und sind visuell inspizierbar. Auf der nächsten Ebene werden durch vergleichende Analysen prozessierte Epigenomdaten zusammengeführt, um Unterschiede zwischen Zelltypen, Zellstadien, kranken und gesunden sowie jungen und alten Zellen/Geweben bestimmen zu können. Die Datensätze für solche Vergleiche werden in naher Zukunft in Epigenom-Daten-Servern wie zum Beispiel DEEP-BLUE nutzergerecht abrufbar sein.

3.5.7 Epigenomik: Von den Anfängen bis zur Anwendung

Die Ergebnisse der ersten Epigenomik-Projekte der EU (Programm HEROIC) und des National Institutes of Health (NIH) in den USA (Programm ENCODE) verdeutlichten das große Potenzial dieses neuen Forschungsfeldes für die funktionelle Genomforschung. Im Jahr 2009 wurde daraufhin das Internationale Humane Epigenomkon-

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

sortium IHEC gegründet mit dem Ziel, genomweite Kartierungen durch NGS (Next Generation Sequencing) als Standard zu etablieren. Neben zwei großen US-amerikanischen Programmen (ENCODE 2, EPIGENOME ROADMAP) wurden große Programme in Europa, Deutschland, Kanada, Japan und Korea, Hongkong und Singapur gestartet.

Analysen der ersten 111 Epigenome und 2.800 Datensätze verdeutlichen eine Reihe neuer Erkenntnisse im Bereich der Krankheitsforschung (Roadmap Epigenomics consortium et al., 2015). Mittlerweile sind im IHEC-Portal (http://epigenomesportal.ca/ihec/) über 7.200 einzelne Datensätze und 300 volle Epigenome frei für die Forschung zugänglich. Dieses bislang umfangreichste Kompendium epigenetischer Daten in menschlichen Zellen kann nun für neue systematische Analysen in der biomedizinischen Forschung genutzt werden. IHEC hat bereits erste bioinformatische Werkzeuge für solche übergreifenden integrativen Analysen erarbeitet. Nationale Initiativen, wie das deutsche Bioinformatik Netzwerk de.NBI (www.denbi.de), werden als Multiplikatoren für solche Analysen in der Biomedizin wirken. Viele Arbeitsgruppen im IHEC-Netzwerk arbeiten intensiv an der Entwicklung immer besserer Technologien für epigenomische Analysen. Im Vordergrund stehen hier Ansätze, Epigenome von wenigen oder gar einzelnen Zellen erstellen zu können, neue bislang unerreichte Modifikationen erfassen zu können und die Nutzung epigenetischer Information in der Raum-Struktur des Zellkerns (3D-Epigenomik) besser zu erfassen. Neben diesen grundlegenden methodischen Entwicklungen werden in Zukunft krankheitsrelevante Epigenomdaten und Aspekte umweltbedingter Erkrankungen in den Fokus von IHEC-Initiativen rücken.

Die Mehrzahl epigenetischer Studien wird in naher Zukunft – trotz der rasanten experimentellen Fortschritte in der Einzelzell-Epigenomik – auf komplexe Gemische von Blutzellen als Ausgangsmaterial für epigenetische Reihen-Untersuchungen zurückgreifen müssen. Epigenom-Daten, wie sie beispielsweise die IHEC-Initiative zur Verfügung stellt, bieten hierzu nützliche Referenzdaten. Anhand der epigenetischen Eigenmuster der wichtigsten Blutzellen können die komplexen epigenetischen Muster der Blutzellgemische besser unterschieden und die variable Zusammensetzung der Zelltypen in individuellen Blutproben epigenetisch bestimmt werden. Dies erlaubt es, die biologisch wichtigen, individuellen und umweltbedingten epigenetischen Unterschiede zu ermitteln und zu bewerten. In jüngster Zeit wurde eine Reihe solcher neuen bioinformatischen Dekompositions- bzw. Dekonvolutions-Methoden entwickelt. Es zeigt sich, dass ihre Anwendung eine viel präzisere Interpretation epigenetischer Unterschiede ermöglicht (Kim et al., 2016). Dies wird erheblich zu Verbesserung der Bewertung epigenetischer Phänomene beitragen (siehe Abschnitt 3.7).

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Vergleiche von Epigenom-Daten bieten exzellente Informationen über die Entstehung und Entwicklung von Zellen, Geweben und Organen. Viele Befunde deuten an, dass sich langfristige entwicklungsbiologische Veränderungen tief in epigenomischen Eigenmustern manifestieren und sich Zwischen- und Endzustände entwicklungsdynamischer Prozesse ableiten lassen. Dies gilt sowohl für die Entwicklung von Organismen als auch für die Ausbildung spezialisierter Zellen im Verlauf des Lebens, zum Beispiel die Bildung von Blut- und Immunzellen oder die Regeneration von Leber- und Hautzellen, um nur einige Beispiele zu nennen.

Von besonderer Bedeutung sind vergleichende epigenomische Analysen in der Ursachenforschung von komplexen, multikausalen Erkrankungen. Das prominenteste Beispiel ist die Krebsforschung. Hier ist seit längerem bekannt, dass die Transformation von Krebszellen mit epigenetischen Veränderungen einhergeht. Unterschiedliche Krebstypen weisen krebsspezifische epigenomische Veränderungen auf (Weisenberger, 2014; Hovestadt et al., 2014). Auch wenn die Ursachen und die Reihenfolge epigenetischer Veränderungen in Krebszellen noch nicht abschließend verstanden sind, liefern epigenetische Daten bereits heute einen wichtigen Beitrag für die differenzielle Diagnostik und Behandlung von Krebserkrankungen. In einigen Krebsarten scheinen epigenetische Umbauvorgänge die treibende Kraft in der malignen Transformation zu sein, während in anderen Krebsarten die epigenetischen Veränderungen als Folge genetischer Veränderungen erfolgt. Die Genom-Sequenzierung vieler Krebsarten im Rahmen von TCGA und ICGC zeigt, dass viele Krebsarten gehäuft Mutationen in Enzymen aufweisen, die epigenetische Prozesse in der Zelle kontrollieren. Die gemeinsame Betrachtung von genetischen und epigenetischen Veränderungen ist zu einem festen Bestandteil der Krebsforschung geworden. Erste epigenomische Diagnostik- und Therapieansätze haben den Sprung in die Anwendung bereits geschafft, andere stehen vor der klinischen Zulassung.

Ein weiterer Kernbereich der krankheitsorientierten Epigenomforschung sind chronische Erkrankungen. Man geht davon aus, dass in komplexen chronischen Erkrankungen wie Rheuma, Diabetes, Herzinsuffizienz und Adipositas epigenetische Regulationsprogramme in vielen Zelltypen nachhaltig geändert sind. Einige dieser Fragen werden im deutschen Epigenom-Netzwerk DEEP an menschlichen Leber-, Fett- und Immun-Zellen zurzeit untersucht.

Epigenomische Daten werden aber auch zunehmend für das Monitoring von biotechnologischen Prozessen an Zellen genutzt. Im Vordergrund stehen hier die Qualitätskontrolle sowie die verbesserte Gewinnung und Nutzung von Zellen, vornehmlich Stammzellen. Epigenetische Prozesse spielen bei der Reprogrammierung von Stammzellen eine zentrale Rolle und geben Auskunft über die Qualität der durchgeführten Prozesse.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

3.5.8 Datenschutz in der Epigenomik

Aufgrund des tiefgehenden genetischen und epigenetischen Informationsgehaltes epigenomischer Daten muss sehr sensibel mit diesen Daten umgegangen werden: Fragen nach den ethischen und rechtlichen Aspekten zur Privatheit im Verhältnis zur Nutzung dieser epigenetischen Information müssen diskutiert werden (Dyke et al., 2015). Wir können heute noch nicht abschätzen (aufgrund fehlender Fallzahlen und Vergleichsgrößen), ob epigenomische Daten nachhaltige Spuren einer persönlichen epigenetischen Anpassung an Lebensumstände und damit auch Lebensstil enthalten. Man beobachtet aber, dass, wie oben bereits diskutiert, das Lebens- und das Zell-Alter eine direkte Auswirkung auf epigenetische Muster hat. Die Epigenomkartierung wird hier noch eine Reihe neuer Erkenntnisse für die sehr intensiv diskutierte Frage bieten, inwieweit die Umwelt unsere Genfunktion nachhaltig prägt und beeinflusst. Die technischen Möglichkeiten für eine solche umweltbezogene epigenetische Diagnostik von persönlichen Merkmalen sind bereits vorhanden. Die Interpretation der Datenfülle setzt hier allerdings noch enge Grenzen. Die Komplexität der Daten schafft eine Fülle von oft widersprüchlichen Interpretationen, die nur mithilfe komplexer informatischer Bearbeitung in medizinisch relevante Aussagen transformiert werden kann. Es ist aber heute bereits klar, dass die personenbezogene genetische Diagnostik der Zukunft nicht ohne Epigenetik auskommen wird. DNA-Methylierung ist eine zentrale Ebene der Analyse, da sie am einfachsten zu detektieren und quantitativ zu bewerten ist.

3.5.9 Perspektiven der Epigenomforschung

Die Epigenomik ist eine Kerndisziplin für die funktionelle Genomforschung und wird wie oben angeführt in vielen Bereichen der modernen Biomedizin und Biotechnologie genutzt, um neue Hypothesen, Methoden und Verfahren zu entwickeln. Die Epigenomik verfolgt zunehmend einen integrierten, systembiologischen Ansatz und erweitert unser Verständnis der Genomnutzung im Organismus um ein Vielfaches. Mit dem weltweiten Programm IHEC und der deutschen Beteiligung DEEP wurde ein exzellenter Anfang gemacht, diese sehr innovative Forschung sehr schnell zu etablieren. Um mit den schnellen experimentellen und bioinformatischen Entwicklungen auf diesem Forschungsfeld international Schritt halten zu können, muss die Epigenomforschung nachhaltig in der Biomedizin und der Biotechnologie verankert werden.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

3.6 Epigenetik und Anpassung

Die Tatsache, dass die Gene eines Individuums auf Umweltreize und Lebensführung reagieren, wird seit langem beobachtet. Die unterschiedliche genetische Grundausstattung jedes Organismus bietet zudem einen individuellen Antwortrahmen auf Umweltreize. Man spricht mittlerweile häufig von einer epigenetischen Anpassung. Dieser Begriff wird zudem oft in einen Zusammenhang mit Neo-Lamarckismus gestellt und suggeriert eine Art individuell ausgerichtete, programmierte Anpassung des Organismus an veränderte Lebensbedingungen. Zwei Aspekte werden hier häufig außer Acht gelassen. Erstens, epigenetische Prozesse dienen primär der Steuerung von Entwicklung und der Aufrechterhaltung von Lebensfunktionen (Gesundheit und Altern), das heißt, epigenetisch gesteuerte Entwicklungsprozesse sind ursächlich genetisch determiniert und nur begrenzt variabel. Und zweitens, es gibt nur wenig Hinweise, dass Umwelteinflüsse gezielt und direkt eine epigenetische Variation individueller Zellprogramme erzeugen und nicht die umweltbedingte Reaktion eine sekundäre epigenetische Reaktion auslöst.

Unbenommen der Frage einer Ursächlichkeit wird das Ausmaß epigenetischer Anpassungsfähigkeit primär von der individuellen genetischen Ausstattung und Variation abhängen. Unser gegenwärtiger Kenntnisstand zeigt, dass epigenetische Prozesse genetische Spielräume modulieren – es entstehen aber keine neuen Ebenen der Regulation. Es ist daher immer zunächst zu hinterfragen, ob die beobachtete epigenetische Veränderung ihre Ursache oberhalb der Gensequenz hat oder doch gekoppelt an Genvarianten erfolgt.

Epigenetische Steuerung ist dabei nicht nur als ein Aus- oder Anschalten von Genen zu betrachten, sondern für viele Beispiele individueller Variation als ein Prozess der begrenzenden Modulierbarkeit genetischer Information. Epigenetische Modifikationen bestimmen quasi den Nutzungsrahmen der genetischen Information. Als Folge dessen ist es bedeutsam, epigenetische Phänomene aus dem Blickwinkel einer quantitativen Biologie zu betrachten.

Daneben gibt es eine Reihe von genetisch gesteuerten, entwicklungsbiologisch festgelegten epigenetischen Phänomenen, wie die elterliche Prägung von Genen („Genomic Imprinting“) oder die Stilllegung eines der beiden X-Chromosomen bei Frauen. Für beide Phänomene gilt, dass die Entwicklung des Organismus zwingend an eine genau geregelte, festgelegte epigenetische Steuerung gekoppelt ist. Die bei Imprinting und X-Inaktivierung auftretenden epigenetischen Störungen führen entsprechend zu starken biologischen Konsequenzen wie syndromale Erkrankungen.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

3.7 Konzepte epigenetischer Vererbung im Menschen

Ein Grundcharakteristikum der Epigenetik ist ihre Vererbbarkeit, das heißt eine über Zellteilungen hinweg erfolgende, stabile Weitergabe fester epigenetischer Markierungen. Im Gegensatz zu echten Mutationen sind epigenetische Modifikationen („Epimutationen") jedoch umkehrbar und können (gezielt) wieder gelöscht werden. Die Vererbbarkeit epigenetischer Modifikationen (Histon-Modifikationen und DNA-Methylierung) über Mitosen hinweg ist zweifelsfrei ein Kernmerkmal aller mehrzelligen Organismen. Die Vererbung über die Keimbahn und die haploiden Keimzellen ist dagegen nicht für alle Organismen zweifelsfrei nachgewiesen. Im Menschen gibt es – mit Ausnahme des „Genomic Imprintings" – keine klaren Beweise für regulär vererbte epigenetische Effekte durch die Keimbahn (Heart und Martienssen, 2014). Vieldiskutierte Beobachtungen und Berichte transgenerationaler Effekte beruhen auf Interpretationen weniger empirischer Erhebungen (z. B. Kirchenregister und Krankheitsstatistiken wie im Fall der „Överkalix-Studie"). Das häufig zitierte Beispiel transgenerationaler Vererbung eines epigenetischen Zustandes am „viable yellow"-Gen von Agouti-Mäusen[8] zeigt bei genauer Betrachtung, dass hier epigenetische Programme eng an eine genetische Veränderung und den genetischen Hintergrund der Tiere gekoppelt sind (Whitelaw/Whitelaw, 2006). Trotzdem werden diese Beispiele immer wieder bemüht, neue grundlegende Konzepte der Vererbbarkeit epigenetischer Umweltanpassung im Menschen zu postulieren, im Extremfall sogar über mehrere Generationen hinweg. Bislang haben diese – überdies häufig neo-lamarckistisch interpretierten – Szenarien adaptiver „Epimutationen" bei genauerer Prüfung oft nur eine sehr dünne Datenbasis. Eine sehr bemerkenswerte neue Studie in der Maus (Huypens et al., 2016) bringt hier neue Erkenntnisse. Sie zeigt, dass die Anlage zur Fettleibigkeit und Diabetes über die Keimbahn vererbt werden kann. Auslöser der Anlage ist eine ernährungsbedingte Fettleibigkeit und Insulin-Resistenz der Eltern. Die sehr gut konzipierte Studie legt den Schluss nahe, dass es sich um ein über die Keimbahn vererbtes „epigenetisches" Signal handeln muss, dessen molekulare Grundlage aber noch ungeklärt ist. Es bleibt also festzustellen, dass die Hinweise einer in der Elterngeneration induzierten Vererbbarkeit von epigenetisch gesteuerten Merkmalen noch zu gering sind, um hier zu einem abschließenden Urteil kommen zu können.

8 Die Agouti-Mäuse tragen eine spezielle Variante namens „*agouti viable yellow*" (*avy*) eines Fellfarbe bestimmenden Gens. Je stärker dieses Gen methyliert ist, desto dunkler ist die Fellfarbe – und desto gesünder ist die Maus. Eine Supplementierung der Ernährung mit methylierenden Molekülen wie Methionin, Folsäure und Zink der Mütter führt zu stärker methylierten *avy*-Genen der Nachkommen sogar bis in die Enkelgeneration. Dieses Experiment wird oft als Beispiel für den epigenetisch-vermittelten Einfluss des Lebensstils auf die Gesundheit der nächsten Generation(en) herangezogen.

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Gegen eine prinzipielle Vererbung von erworbenen epigenetischen „Eigenschaften“ aus der Keimbahn spricht dabei die Tatsache, dass nach der Befruchtung bereits während der ersten Phase der Embryonalentwicklung das epigenetische Programm der Keimzellen komplett umgebaut wird, das heißt, es kommt zu einem weitgehenden Löschen spontan auftretender epigenetischer „Fehler“ der Keimzellen. Es gibt Beispiele, die zeigen, dass zum Beispiel ein falsches Setzen oder Löschen von „Genomic Imprints“ zu nachhaltigen Erkrankungen führt. Jedoch wirkt sich diese Veränderung nur in der ersten Generation aus. Hinweise für eine tatsächliche epigenetische Vererbung über mehrere Generationen sind bislang wenig überzeugend dokumentiert.

Unbestritten ist die Tatsache, dass die elterlichen Genome durch Faktoren des maternalen Eizytoplasmas eine individuelle epigenetische Ausprägung von Genen erhalten können. Die Wirkung von Mitochondrien, kleiner RNA und bestimmten Modifikationen von Proteinen, die über das Eizellplasma mit den elterlichen Chromosomen in Kontakt oder Wechselwirkung treten, könnte diesen nachhaltigen Einfluss auf die Genregulation ausüben.

Im Gegensatz zum Menschen scheint in Pflanzen eine transgenerationelle epigenetische Vererbung eine größere Bedeutung zu haben. In Pflanzen gilt die Möglichkeit der Vererbung erworbener epigenetischer Veränderungen über Generationen hinweg als gesichert. Einige dieser Phänomene sind zudem molekular nachgewiesen (Henderson/Jacobsen, 2007). In Pflanzen kommt es im Gegensatz zu Tieren zu keiner kompletten Löschung epigenetischer Modifikationen in den Keimzellen. Einige der erworbenen epigenetischen Veränderungen können über Generationen hinweg erhalten bleiben. Carl von Linné und Goethe beschrieben bereits vor über 250 Jahren eine Mutante des Löwenmäulchens (veränderte Blütenform), die sich letztendlich nur durch eine Epimutation vom nächstverwandten Löwenmäulchen unterscheidet (Cubas et al., 1999).

3.8 Perspektiven epigenetischer Forschung

Die Epigenetik hat in vielen Bereichen Einzug in die Biomedizin und in die rote und grüne Biotechnologie gehalten. Epigenetische Mechanismen und epigenetische Daten spielen eine zunehmende Bedeutung in der Grundlagenforschung. Epigenetische Prozesse eröffnen neue Möglichkeiten der direkten Anwendungen vor allem im Bereich des molekularen Monitoring (Diagnose, Qualitätskontrolle, Züchtung) und der Prozessbeeinflussung (Wirkstoffe, neue Therapieformen). Epigenomische Daten erschließen verschiedene Ebenen der zellspezifischen Regulation und damit eine ziel- (zell-) und personenbezogene Diagnostik komplexer Erkrankungen. Die Epigenetik ist eine Kerndisziplin der Systembiologie und der System-Medizin. Integrierte epigenetische

Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Analysen ermöglichen eine systemische Betrachtung und ein neues Verständnis von komplexen Prozesssteuerungen im Verlauf von Vererbung, Entwicklung, Alterung, organischer Veränderungen und Erkrankungen.

In der Gesundheitsprävention, der Psychologie und den Sozialwissenschaften werden epigenetische Mechanismen bereits heute als persönlichkeitsbeeinflussende Faktoren diskutiert. Der Diskurs beruht allerdings auf sehr wenigen konkreten Daten. So werden wenige Beispiele, meist von Modellorganismen, herangezogen, um Argumentationsketten aufzubauen, die sich dann auf Daten der empirischen Biologie wie die „Dutch Hunger"-Winter-Studie oder die „Överkalix-Studie" beziehen. Die molekularen Daten zu diesen Studien sind allerdings entweder nicht vorhanden oder nur sehr eingeschränkt bewertbar. Dies gilt für eine Reihe empirischer Studien, in denen die angewandten epigenetischen Methoden oft nicht den gegenwärtigen Standards entsprechen beziehungsweise die Daten sehr gewagt interpretiert werden. Die beobachteten molekularen Veränderungen sind häufig sehr klein und zudem meist statistisch überbewertet. Vergleichende Untersuchungen sollten in Zukunft auf eine breite und solidere experimentelle und informatische Basis gestellt werden.

Generell ist im Umgang mit epigenetischen Daten und ihrer Interpretation sehr umsichtig vorzugehen. Es besteht durchaus die Möglichkeit, dass epigenetische Daten Informationen zum Lebensstil des Menschen widerspiegeln. Epigenomische Daten sollten daher mit Sorgfalt interpretiert und bewertet werden, um Stigmatisierungen zu vermeiden.

In Zukunft sollte der Epigenetik und epigenetischen Konzepten ein größerer Stellenwert in aktuellen (natur-)philosophischen und gesellschaftswissenschaftlichen Diskursen zu humanbiologischen Fragen eingeräumt werden. Es ist dabei wichtig, ein starkes Augenmerk auf die Grundlagen epigenetischer Daten und die aus ihnen abgeleiteten Theorien zu legen.

3.9 Literatur

Arand, J. et al. (2015): Selective impairment of methylation maintenance is the major cause of DNA methylation reprogramming in the early embryo. In: Epigenetics Chromatin 8(1):1.

Azad, N. et al. (2013): The future of epigenetic therapy in solid tumours – lessons from the past. In: Nat Rev ClinOncol 10(5):256–266.

Baulcombe, D. (2004): RNA silencing in plants. In: Nature 431(7006):356–363.

Bernstein, B. E. et al. (2006): A bivalent chromatin structure marks key developmental genes in embryonic stem cells. In: Cell 125(2):315–326.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Bernstein, B. E. et al. (2010): The NIH roadmap epigenomics mapping consortium. In: Nature Biotechnology 28:1045–1048.

Chi, A. S./Bernstein, B. E. (2009): Developmental biology. Pluripotent chromatin state. In: Science 323(5911):220–221.

Clerc, P./Avner, P. (2006): Random X-chromosome inactivation. Skewing lessons for mice and men. In: CurrOpin Genet Dev 16(3):246–253.

Corpet, A./Almouzni, G. (2009): Making copies of chromatin. The challenge of nucleosomal organization and epigenetic information. In: Trends Cell Biol 19(1):29–34.

Cubas, P. et al. (1999): An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. In: Nature 401(6749):157–161.

Dyke, S. O. et al. (2015): Epigenome data release: a participant-centered approach to privacy protection. In: Genome Biology 16:142.

ENCODE Project Consortium et al. (2012): An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. In: Nature 489(7414):57–74.

Ficz, G. et al. (2013): FGF signaling inhibition in ESCs drives rapid genome-wide demethylation to the epigenetic ground state of pluripotency. In: Cell Stemm Cell 13(3):351–359.

Gehring, M. et al. (2009): DNA demethylation by DNA repair. In: Trends Genet 25(2):82–90.

Habibi, E. et al. (2013): Whole-genome bisulfite sequencing of two distinct interconvertible DNA methylomes of mouse embryonic stem cells. In: Cell Stem Cell 13(3):360–369.

Heard, E./Martienssen, R. A. (2014): Transgenerational epigeneticinheritance: myths and mechanisms. In: Cell 157(1):95–109.

Henderson, I. R./Jacobsen, S. E. (2007): Epigenetic inheritance in plants. In: Nature 447(7143):418–424.

Henikoff, S./Greally, J. (2016): Epigenetics, cellular memory and gene regulation. In: Current Biology 25;26(14):R644–8.

Hirsch, S. et al. (2012): Epigenetic Variation, Inheritance, and Selection in Plant Populations. In: Cold Spring Harb Symp Quant Biol 77:904.

Hovestadt, V. et al. (2014): Decoding the regulatory landscape of medulloblastoma using DNA methylation sequencing. In: Nature 510(7506):537–41.

Huypens, P. et al. (2016): Epigenetic germline inheritance of diet-induced obesity and insulin resistance. In: Nat Genetics 48:497–499.

Karnik, R./Meissner, A. (2013): Browsing (Epi)genomes: a guide to data resources and epigenome browsers for stem cell researchers. In: CellStemCell 13(1):14–21.

Kim, S. et al. (2016): Enlarged leucocyte referent libraries can explain additional variance in blood-based epignome-wide association studies. In: Epigenomics 8(9):1185–92.

Knippers, R./Nordheim A. (2015): Molekulare Genetik. 10 Aufl., ThiemeVerlag, Stuttgart.

Kouzarides, T. (2007): Chromatin modifications and their function. In: Cell 128(4):693–705.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb

Kubicek, S. et al. (2006): The role of histone modifications in epigenetic transitions during normal and perturbed development. In: Ernst Schering Res Found Workshop (57):1–27.

Lewin, B. (1998): The mystique of epigenetics. In: Cell 93(3):301–303.
Luo, G.-Z. et al. (2015): DNA N(6)-methyladenine: a new epigenetic mark in eukaryotes? In: Nat Rev Mol Cell Biol. 2015 Dec;16(12):705-10.

Maleszka, R. (2008): Epigenetic integration of environmental and genomic signals in honey bees. The critical interplay of nutritional, brain and reproductive networks. In: Epigenetics 3(4):188–192.
Mikkelsen, T. S. et al. (2007): Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. In: Nature 448(7153):553–560.

Roadmap epigenetics consortium et al. (2015): In: Nature 518(7539):317–330.
Robinson, M. D./Pelizzola, M. (2015): Computational epigenomics: challenges and opportunities. In: Front Genet 6:88.

Seisenberger, S. et al. (2013): Conceptual links between DNA methylation reprogramming in the early embryo and primordial germ cells. In: CurrOpin Cell Biol 25(3):281–288.
Stunnenberg, H. et al. (2015): Developmental biology: A Me6Age for pluripotency. In: Science 6;347(6222):614–5.

Varga-Weisz, P. D./Becker, P. B. (2006): Regulation of higher-order chromatin structures by nucleosome-remodelling factors. In: CurrOpin Genet Dev 16(2):151–156.

Wang, Y. et al. (2006): Functional CpG methylation system in a social insect. In: Science 314(5799):645–647.
Weisenberger, D. J. (2014): Characterizing DNA methylation alterations from The Cancer Genome Atlas. In: J Clin Invest 124(1):17–23.
Whitcomb, S. J. et al. (2007): Polycomb Group proteins. An evolutionary perspective. In: Trends Genet 23(10):494–502.
Whitelaw, N. C./Whitelaw, E. (2006): How lifetimes shape epigenotype within and across generations. In: Hum Mol Genet 15(2):R131–137.
Wossidlo, M. et al. (2011): 5-Hydroxymethylcytosine in the mammalian zygote is linked with epigenetic reprogramming. In: Nat Commun 2:241.

Youngson, N. A./Whitelaw, E. (2008): Transgenerational epigenetic effects. In: Annu Rev Genomics Hum Genet 9:233–257.

Zheng, X. et al. (2008): ROS3 is an RNA-binding protein required for DNA demethylation in Arabidopsis. In: Nature 455(7217):1259–1262.

https://doi.org/10.5771/9783845270838-38, am 12.10.2024, 06:22:01
Open Access – (cc) BY – https://www.nomos-elibrary.de/agb