

tiver Erkrankungen entwickelt hat. Diese Übersichtsarbeit zeigt, dass iPS-Zell-basierte Krankheitsmodelle erfolgreich genutzt werden können, um Autophagie-relevante Phänotypen zu erforschen, die mit verschiedenen neurodegenerativen Krankheiten einhergehen. So können einerseits Autophagie-relevante Krankheitsmechanismen direkt an menschlichen Zellen erforscht, andererseits aber auch an anderen Modellsystemen entwickelte Hypothesen im Hinblick auf ihre Relevanz im humanen System geprüft werden. Schlüsselfragen für zukünftige Forschungsarbeiten werden sich zum Beispiel darauf beziehen, ob und bis zu welchem Grad Autophagie in verschiedenen neuronalen Subtypen unterschiedlich reguliert wird und wieso eine generelle Modulation der Autophagie zu spezifischen Effekten in individuellen zellulären Subtypen führt. Aus iPS-Zellen abgeleitete Neurone könnten möglicherweise auch genutzt werden, um die Rolle der Autophagie während des altersassoziierten Fortschreitens des neurodegenerativen Phänotyps zu untersuchen und zu prüfen, ob sich Alterungsprozesse durch die präzise Modulation autophagischer Stoffwechselwege verlangsamen lassen.

*Guangming Wu, Lei Lei, Hans R. Schöler*

### 3.3 Totipotenz im Mausmodell<sup>10</sup>

Zusammengefasst und aus dem Englischen übersetzt von Lilian Marx-Stölting

„Totipotenz“ ist die Eigenschaft einer Zelle, einen kompletten multizellulären Organismus hervorbringen zu können, der etwa beim Menschen aus mehr als 200 verschiedenen Gewebetypen besteht.<sup>11</sup> Bei Säugetieren ist es die Zygote (befruchtete Eizelle), aus der im Rahmen der geordnet verlaufenden Embryonalentwicklung alle Typen somatischer (Körper-)Zellen entstehen, und zwar sowohl Zellen in Geweben, die zum Embryo gehören, als auch solche, die extraembryonale Gewebe (Plazenta) bilden. Damit ist die Zygote die ultimative totipotente Zelle. Aus naturwissenschaftlicher Perspektive gibt es allerdings unterschiedlich strenge Kriterien für Totipotenz: zum einen im weiteren

**10** Dieser Beitrag ist eine deutsche Zusammenfassung des Review-Artikels „Totipotency in the mouse“ von Guangming Wu, Lei Lei und Hans R. Schöler, der eine umfangreiche Darstellung des wissenschaftlichen Sachstands und der aktuellen Literatur zum Thema (Stand Frühjahr 2017) bietet. Der Artikel ist im Juli 2017 im *Journal of Molecular Medicine* (95/7: 687–694) erschienen und kostenfrei öffentlich zugänglich unter: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-017-1509-5> [19.10.2017].

**11** Bei Pflanzen behalten strukturell und funktionell spezialisierte Zellen etwa aus Blättern, Wurzeln, Stamm oder Blüten die Fähigkeit, zum undifferenzierten Stadium zurück zu konvertieren und ganze neue Pflanzen hervorzubringen. Die Regeneration von Totipotenz aus isolierten einzelnen Pflanzenzellen ist inzwischen gut erforscht.

Sinn die Fähigkeit einer einzelnen Zelle, zu *allen* Zelllinien eines Organismus beizutragen, und zum anderen im engeren Sinn ihre Fähigkeit einer einzelnen Zelle, sich zu einem ganzen Organismus zu entwickeln.

Neben der einzelligen Zygote erfüllen auch noch die Blastomere<sup>12</sup> von 2-Zell-Embryonen die Definition für Totipotenz im engeren Sinne. Während der fortschreitenden Spezialisierung der Zellen (Zelllinienbildung) geht die Totipotenz dann graduell verloren. In der Zygote wird die Totipotenz durch eine Vielzahl von Prozessen aktiv herbeigeführt. So gibt es in der Eizelle maternale Faktoren, die die Genome der ausdifferenzierten Eizelle und des Spermiums epigenetisch, also auf der Ebene der Genregulation reprogrammieren. Eigenschaften und Voraussetzungen der Totipotenz sind bis heute allerdings nur teilweise verstanden.

Im Review-Artikel von Wu et al. werden aktuelle Forschungsergebnisse zu möglichen Mechanismen vorgestellt, die Totipotenz im Modellorganismus „Maus“ herbeiführen oder diese aufrechterhalten können. Dabei geht es einerseits um Veränderungen auf molekularer Ebene, andererseits aber auch um Netzwerke von Transkriptionsfaktoren (Proteinen), die die Aktivität von Genen beeinflussen, welche wiederum für die Totipotenz relevant sind.

Bei der Entstehung von Totipotenz spielt die sogenannte „zygote genome activation“ (Genomaktivierung in der Zygote, ZGA) eine zentrale Rolle. Dabei wird das gesamte Genom der Zygote durch maternale Faktoren aktiviert und es kommt zu einer rasanten Zunahme der Transkription, das heißt der Umschreibung der Basensequenz der DNA auf RNA, sowie zu einer Neuformatierung der elterlichen DNA und der Histone<sup>13</sup>. Die ZGA beginnt im späten 1-Zell-Stadium und ist im 2-Zell-Stadium am stärksten ausgeprägt. Sie ist die Grundvoraussetzung für die Etablierung von Totipotenz.

Die Transkription nimmt dabei durch verschiedene Mechanismen zu. So werden bestimmte Promotoren<sup>14</sup> effizienter genutzt. Außerdem werden bestimmte, sich wiederholende Elemente im Genom aktiviert. Transkription und Translation, bei der die Information der RNA in eine Aminosäuresequenz und somit in ein Protein umgewandelt wird, werden entkoppelt, und in 2-Zell-Embryos werden Transkriptionsverstärker aktiviert.

Während der Eizellreifung (Oogenese) steigt das Volumen der Eizelle exponentiell an, um die Speicherung von maternalen Faktoren (RNA, Proteine) zu ermöglichen, die für die Etablierung der Totipotenz nötig sind. In der wachsenden Eizelle werden be-

12 Zellen, die durch Zellteilung (Furchung) der Zygote entstanden sind.

13 Histone sind Proteine, um die die DNA in der Zelle aufgewickelt ist.

14 Promotoren sind Regionen auf der DNA, an denen die Transkription (auch: das „Ablesen“ der Gene) beginnt. Sie sind somit für die Regulierung der Genaktivität von großer Bedeutung.

stimmte Partikel gebildet, in denen maternale mRNA<sup>15</sup> gespeichert wird und spezifische Proteine akkumulieren, die eine wichtige Rolle während der ZGA spielen. Wie genau jedoch maternale Faktoren Zellen zur Totipotenz reprogrammieren, ist bislang noch nicht verstanden und wird weiter erforscht.

Eine wesentliche Voraussetzung der ZGA ist die Zugänglichkeit des Chromatins für die Transkriptionsmaschinerie, also die im Zellkern vorliegenden Komplexe aus DNA und Proteinen. Diese wird über die biochemische Modifizierung von Histonen reguliert. Während der Entwicklung vor der Implantation des Embryos in den Uterus kommt es beispielsweise zu auffälligen Veränderungen epigenetischer Modifikationen. Dazu gehören die Wiederherstellung von Histon-Markierungen sowie DNA-Methylierungen, das heißt chemische Modifikationen, bei denen eine Methylgruppe an eine Base der DNA angehängt wird, im ganzen Genom. Während des ersten Zellzyklus der Zygote werden auch bestimmte Histon-Varianten ins Chromatin integriert. Diese von der Norm abweichenden Histone werden in definierten Regionen abgelagert, wo sie DNA-Histon-Komplexe mit einzigartigen biophysikalischen Charakteristika bilden.

Bei der Befruchtung weist das Chromatin des paternalen und maternalen Genoms verschiedene epigenetische Markierungen und eine unterschiedliche Organisation auf. Das haploide paternale Genom (besteht also nur aus einem Chromosomensatz) ist besonders eng mit sogenannten Protaminen verpackt. Protamine sind kleine, stark basische Proteine, die nur in den Zellkernen von Spermien vorkommen und eine besonders dichte Verpackung der Erbinformation ermöglichen. Sie ersetzen dabei die normalerweise für die Verpackung von DNA genutzten Histone. Auch das maternale Genom der Eizelle ist mit Histonen verpackt. Nachdem das Spermium in das Zytoplasma der Eizelle eingedrungen ist, dekontensiert das Spermiumgenom, was bedeutet, dass es lockerer und besser zugänglich wird. Dadurch wird die Entfernung der Protamine und die Umverpackung mithilfe der vorher gespeicherten maternalen Histone ermöglicht. So werden nach der Befruchtung während des Protamin-Histon-Austausches auch maternale Histon-Varianten auf paternales Chromatin abgelagert.

Mit der Übernahme von Histonen verliert das paternale Genom genomweit auch DNA-Methylierungen.<sup>16</sup> Während der ZGA werden die paternalen Methylierungsmuster durch einen aktiven Mechanismus verändert.

15 Als mRNA („messenger RNA“) oder auch Boten-RNA bezeichnet man das einzelsträngige RNA-Transkript eines Gens. Bei der Translation dient sie als Vorlage für die Proteinbiosynthese.

16 Auf der Ebene der DNA wird häufig die Base Cytosin methyliert. Das genomweite Cytosin-Methylierungsprofil ist bei verschiedenen Zelltypen unterschiedlich und bestimmt deren Identität mit. Die Enzyme, die Cytosin methylieren und demethylieren, sind gut beschrieben.

Darüber hinaus tragen Transkripte von Retrotransposons, also Elementen auf der DNA, die ihren Standort mithilfe von RNA-Transkripten ändern können (Transposition), einen signifikanten Anteil des Transkriptoms (Gesamtheit aller Transkripte einer Zelle, also sämtliche RNA) während der ZGA bei. Retrotransposons können auch als alternative Promotoren an der Aktivierung von Protein-kodierenden Genen eine Rolle spielen. Maternale Retrotransposon-Transkripte können zur weiteren Aktivierung von Retrotransposons nach der Befruchtung beitragen („auto-enhancing loop“). Die Rolle dieser Retrotransposons für die Entwicklung von Totipotenz ist jedoch noch unklar.

Auf der Ebene der Genregulation wird insbesondere dem Transkriptionsfaktor Oct4 („octamer-binding transcription factor 4“) in frühen Embryonen eine Rolle für die Unterscheidung von Pluripotenz und Totipotenz und die Aufrechterhaltung von Pluripotenz zugeschrieben. Daher ist die Identifizierung von Faktoren, die die Aktivierung von Oct4 in frühen Embryonen beeinflussen, wichtig für das Verständnis der molekularen Netzwerke, welche die Regulierung von Totipotenz sowie den Übergang von Totipotenz zu Pluripotenz steuern. Inzwischen sind einige dieser Transkriptionsfaktoren bekannt und auch gut erforscht.

Auch die Morphologie von 2-Zell-Embryonen weist bestimmte Änderungen am Chromatin auf. Das Transkriptionsprofil von 2-Zell-Embryonen ist durch die Aktivierung bestimmter, für dieses Stadium teilweise spezifischer Gene gekennzeichnet. Eine Änderung von Chromatin-verändernden Faktoren in embryonalen Stammzellen („embryonic stem cells“, ES cells) führt zur Bildung von 2-Zell-Stadium-ähnlichen Zellen, deren Morphologie und Transkriptionsprofil dem von 2-Zell-Embryonen entspricht. Dies deutet darauf hin, dass die Chromatinkonfiguration ein Schlüsselmechanismus bei der Etablierung von Totipotenz ist.

Auch wenn viele Fragen zur Etablierung von Totipotenz noch offen bleiben, hat der Fortschritt bei der Identifizierung von 2-Zell-Marker-Genen und von neuen Faktoren im genomweiten Demethylierungsprozess viel zur Aufklärung der molekularen Mechanismen der Regulation von Totipotenz beigetragen.