

Epigenetik

DNA-Methylierung und Evolution

EBERHARD SCHNEIDER, RUXANDRA FARCAS, THOMAS HAAF
INSTITUT FÜR HUMANGENETIK, UNIVERSITÄT WÜRZBURG

Epigenetische Unterschiede sind wahrscheinlich (mit-)verantwortlich für die oft enormen phänotypischen Unterschiede zwischen nahverwandten Spezies, die sich auf DNA-Sequenzebene nur wenig unterscheiden. Die Rolle der Epigenetik in der Evolution der Spezies wird bisher unterschätzt.

Epigenetic changes are likely to contribute to the enormous phenotypic differences between closely related species which differ only slightly at the DNA sequence level. So far the role of epigenetics for the evolution of species is largely underestimated.

Mechanismen und Funktionen der DNA-Methylierung

Die Epigenetik beschäftigt sich mit vererbaren Informationen, die nicht durch die DNA-Sequenz selbst codiert werden, sondern durch reversible biochemische Modifikationen der DNA und/oder Chromatinstruktur. Die Methylierung von CpG-Dinukleotiden ist die wichtigste Modifikation der DNA selbst. Durch DNA-Methyltransferasen wird eine Methylgruppe an das Kohlenstoffatom 5 des

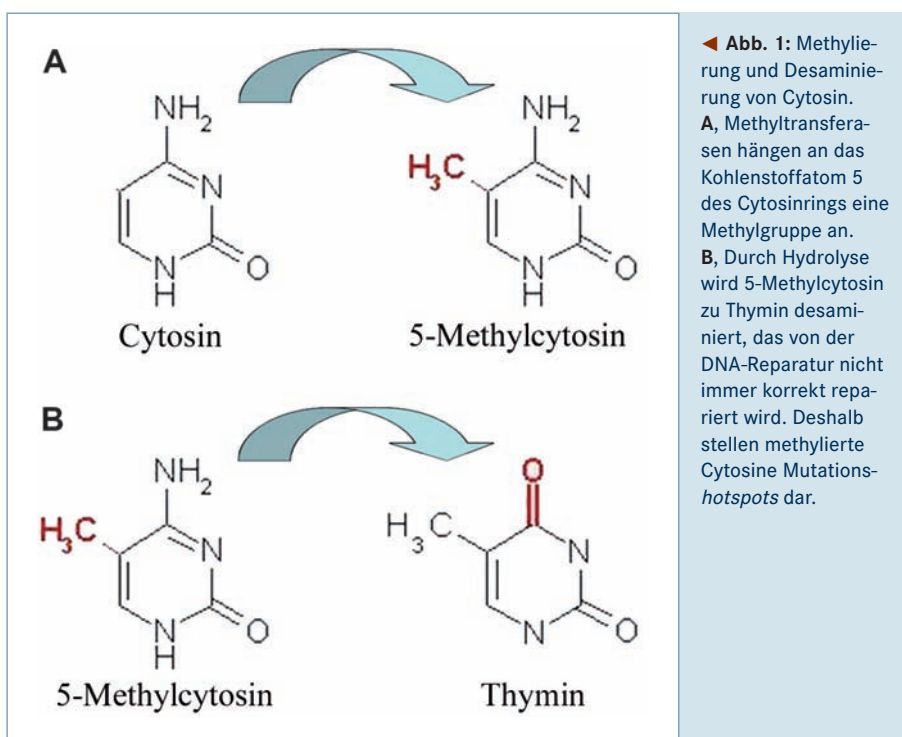
Cytosinrings angehängt (**Abb. 1A**, siehe auch S. 520 in dieser Ausgabe). Die resultierende spiegelsymmetrische Modifikation beider DNA-Stränge kann bei der mitotischen Zellteilung an die Tochterzellen, in seltenen Fällen auch durch die Meiose, an die nächste Generation weitergegeben werden. Die DNA-Methylierung ist mit einer kondensierten, inaktiven Chromatinstruktur assoziiert [1]. Stark vereinfacht kann die DNA-Methylierung mit einer Passwort-Codierung des Genoms

verglichen werden. In jeder Körperzelle sind dieselben Gene vorhanden, von denen aber nur etwa zehn Prozent aktiv sind. Ähnlich wie Computer-Datenbanken durch Passwörter nur für bestimmte Nutzer zugänglich sind, reguliert die DNA-Methylierung, welche Gene in welchem Zelltyp und in welchem Entwicklungsstadium benutzt werden.

Evolutionsbiologisch gesehen ist die DNA-Methylierung ein sehr alter Mechanismus, der schon in Prokaryoten dem Schutz vor fremder DNA und der Fehlerkorrektur bei der DNA-Synthese dient. In Eukaryoten wird die DNA-Methylierung ebenfalls als Schutzmechanismus benutzt, um Retrotransposons zu inaktivieren [2]; darüber hinaus aber auch, um Gene in Raum und Zeit zu regulieren. Die meisten CpGs findet man in CpG-Inseln, das sind 500 bis 2.000 Basenpaare lange *cis*-regulatorische Sequenzen in den meisten Säugergenen, und in repetitiven DNA-Elementen, z. B. ALU-Transposons bei Primaten. Im Gegensatz zu den hoch methylierten CpGs in Repeats, sind die meisten CpG-Inseln im Promotorbereich in somatischen Geweben hypomethyliert. Die Promotor-Methylierung bei Entwicklungs- oder Krankheitsprozessen ist in der Regel mit der Inaktivierung des Gens verknüpft. Eine andere wichtige Klasse von *cis*-regulatorischen Sequenzen sind die auf väterlichen und mütterlichen Chromosomen differenziell methylierten Regionen in geprägten Genen. Die genomische Prägung (Imprinting) ist eine elternspezifische epigenetische Modifikation, durch die eines der beiden elterlichen Allele inaktiviert wird [3].

Genomreprogrammierung in Gametogenese und Embryogenese

In der Gametogenese werden die primordialen Keimzellen zunächst vollständig demethyliert, um einen äquivalenten epigenetischen Zustand in der männlichen und weiblichen Keimbahn herzustellen. Danach werden die dem Geschlecht der Keimbahn entsprechenden Methylierungsmuster neu etabliert. Diese genomische Prägung ist in der Säugerevolution wahrscheinlich entstanden, um unterschiedliche elterliche Interessen bezüglich der Entwicklung der Nachkommen durchzusetzen. Viele geprägte Gene sind in

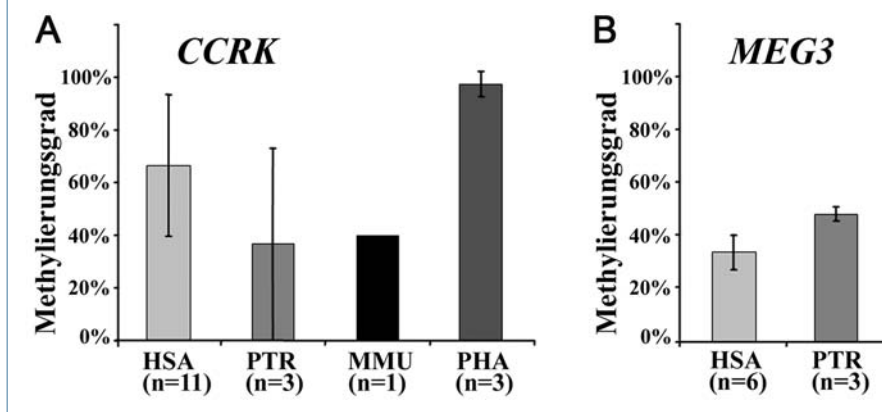


der Plazenta und/oder im Fetus aktiv und regulieren die Ressourcenverteilung zwischen Mutter und Kind. In der Zygote und im frühen Embryo findet eine zweite Reprogrammierungswelle statt, welche fast alle in der Keimbahn gesetzten Methylierungsmuster wieder entfernt und durch neue, auf beiden elterlichen Allelen identische somatische Muster ersetzt [4]. Nur 100 bis 200 geprägte Gene von insgesamt etwa 25.000 Genen behalten ihre Keimbahnmuster und elternspezifische Aktivität während der gesamten Entwicklung bei.

Epigenetische Veränderungen in der Evolution

Über die evolutionäre Konservierung von DNA-Methylierungsmustern ist wenig bekannt. Bei einem genomweiten Vergleich der Methylierungsprofile in verschiedenen Geweben zwischen Mensch und Maus unterschieden sich nur fünf Prozent der analysierten Loci [5]. Ein Array-basierter Vergleich von 36 Genen zwischen Mensch und Schimpanse zeigte in zwölf Genen differenziell methylierte CpGs, wobei im Gehirn die Unterschiede größer waren als in anderen Organen [6]. Wir haben quantitative Methylierungsunterschiede im Promotor des *CCRK* (*cell-cycle related kinase*)-Gens im Cortex von Mensch, Schimpanse und anderen Altweltaffen gefunden (**Abb. 2A**), die möglicherweise für die Feinregulierung der wachstumsfördernden und antiapoptischen Effekte von *CCRK* in der Evolution des Primatengehirns wichtig waren [7]. Die Imprinting-Kontrollregion des maternal exprimierten Gens 3 (*MEG3*), welches das embryonale Wachstum reduziert, zeigte ebenfalls quantitative Methylierungsunterschiede im Cortex von Mensch und Schimpanse (**Abb. 2B**).

Im Gegensatz zur DNA-Sequenz, die sich im Laufe der Evolution durch Mutation und Selektion nur relativ langsam verändert, sind epigenetische Modifikationen äußerst plastisch und können durch Umweltfaktoren beeinflusst werden. Besonders deutlich wird dies bei genetisch identischen Organismen, wie z. B. eineiigen Zwillingen, isogenen Mäusen oder klonierten Tieren, die sich in ihren genspezifischen Methylierungsmustern, Phänotyp und Krankheits-Suszeptibilität stark unterscheiden können. Man nimmt an, dass die spontane Epimutationsrate 100- bis 1.000-mal höher ist als die DNA-Sequenzmutationsrate. Inwieweit durch stochastische oder Umweltfaktoren induzierte Epimutationen an nachfolgende Generationen weitervererbt werden, ist unklar. In der Keimbahn und im



▲ **Abb. 2:** Methylierungsunterschiede von funktionell wichtigen *cis*-regulatorischen Sequenzen im Gehirn von Mensch und Primaten. **A**, Methylierungsgrad (Mittelwert und Standardabweichung) einer Region mit fünf CpGs im Promotor des *CCRK*-Gens im frontalen Cortex von elf Menschen (*Homo sapiens*, HSA), drei Schimpansen (*Pan troglodytes*, PTR), einem Rhesusaffen (*Macaca mulatta*, MMU) und drei Pavianen (*Papio hamadryas*, PHA). **B**, Methylierungsgrad von drei CpGs in der Imprinting-Kontrollregion von *MEG3* in sechs menschlichen (HSA) und drei Schimpansen-gehirnen (PTR).

frühen Embryo werden die allermeisten Methylierungsmuster ausgelöscht und neu programmiert [4], es gibt aber auch bei Säugetieren Hinweise auf transgenerationale epigenetische Vererbung.

In neo-darwinistischer Sichtweise wird durch epigenetische Variation die phänotypische Vielfalt bei gegebenem Genotyp enorm gesteigert. Diese erhöhte Variabilität ermöglicht eine flexiblere Reaktion auf sich verändernde Umwelteinflüsse und steigert damit die evolutionäre Fitness [8]. Dies entspricht auf organischer Ebene Vorgängen bei der Krebsentstehung.

Interaktion von Epigenom und Umwelt

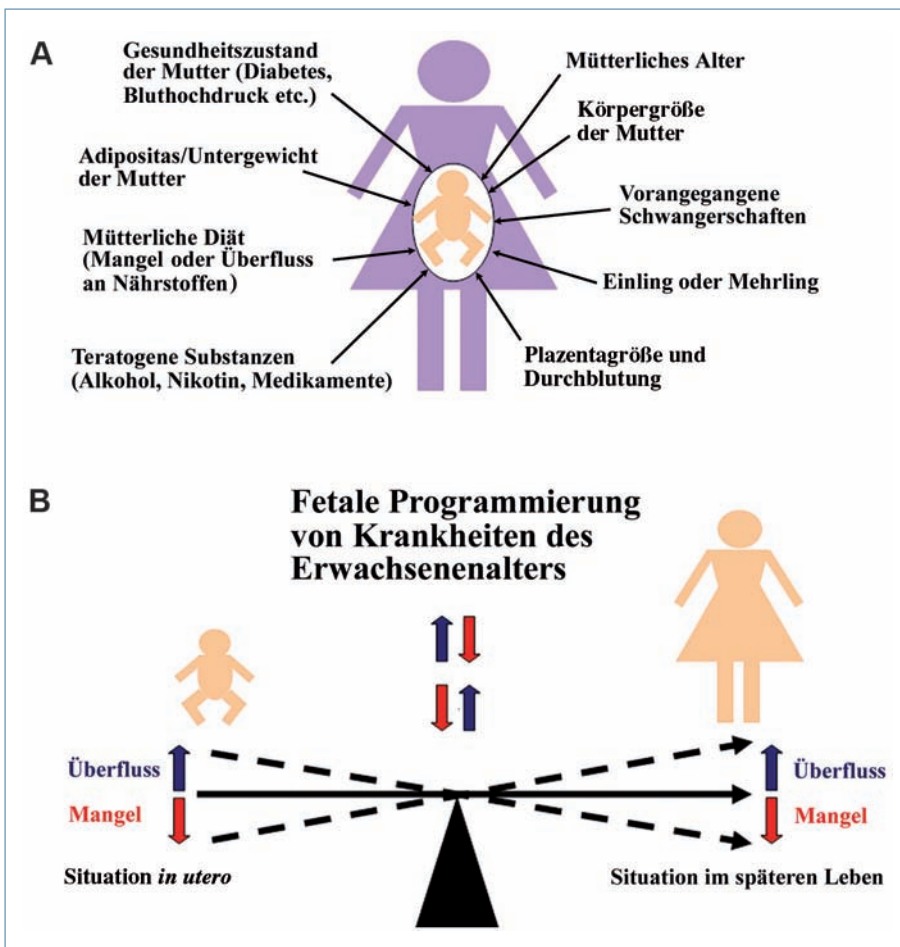
Bleibt ein umweltbedingter Auslöser über viele Generationen gleich, wird in jeder Generation die gleiche Ursache-Wirkungs-Kette in Gang gesetzt und könnte durch Selektionsprozesse zu einer treibenden Kraft der Evolution werden [9]. Tierexperimentelle Daten und epidemiologische Studien beim Menschen zeigen, dass durch die Situation *in utero*, z. B. die mütterliche Ernährung, Gene für hormonelle, neuronale und autokrine Regulation des Feten permanent epigenetisch modifiziert werden können (**Abb. 3A**). Das Konzept der fetalen Programmierung geht davon aus, dass viele Krankheiten des Erwachsenenalters einen fetalen Ursprung haben [10]. Beispielsweise sind die Kinder von übergewichtigen Müttern mit Gestationsdiabetes intrauterin einem Überangebot an Nährstoffen ausgesetzt. Stimmen im späteren Leben die Umweltbedingungen nicht mehr mit den Bedingungen in der Phase der fetalen Programmierung überein, dann steigt

das Risiko für metabolische Krankheiten, wie z. B. Adipositas und Diabetes (**Abb. 3B**). So kann ein Phänotyp an die nächste Generation weitergegeben werden, ohne dass dies in der DNA-Sequenz fixiert ist. Die Erkenntnis, dass Evolution nicht nur ein Mutations-Selektions-Mechanismus ist, sondern dass Umweltfaktoren das Epigenom und damit den Phänotyp beeinflussen, erinnert fast ein wenig an Lamarck. Umweltbedingte epigenetische Veränderungen können möglicherweise direkt über die Keimbahn (transgenerationale Vererbung) oder indirekt (z. B. durch fetale Programmierung) an kommende Generationen weitergegeben werden.

Einfluss der DNA-Methylierung auf die Sequenzevolution

Neben reversiblen epigenetischen Effekten hat die DNA-Methylierung auch evolutionäre Konsequenzen für die DNA-Sequenz selbst. Cytosine sind anfällig für eine spontane oder durch Mutagene induzierte Desaminierung, bei der Cytosin in Uracil umgewandelt wird. Die falsche Base wird dann durch DNA-Reparaturmechanismen wieder ausgetauscht. Ist das Cytosin methyliert, entsteht durch die Desaminierung ein Thymin, ein Fehler, der von der DNA-Reparatur wesentlich häufiger toleriert wird (**Abb. 1B**). Das impliziert eine erhöhte DNA-Mutationsrate aufgrund der DNA-Methylierung.

Die CpG-Methylierung hält Retrotransposons in einem inaktiven Zustand und trägt so zur Genomstabilität bei [2]. Gibbons zeigen im Vergleich zu anderen Primaten eine erhöhte Rate von Chromosomenumbauten. Die evolutionären Bruchpunkte sind überwiegend mit ALU-Elementen assoziiert, die eine



▲ **Abb. 3:** Fetale Programmierung des Epigenoms. **A,** Zahlreiche mütterliche Faktoren beeinflussen den Feten *in utero*. **B,** Das fetale Epigenom ist noch äußerst plastisch, und der Metabolismus kann an verschiedene Umweltbedingungen angepasst werden. Entsprechen die Bedingungen im späteren Leben nicht mehr der Situation *in utero*, dann ist der Metabolismus „fehlprogrammiert“, und es besteht eine erhöhte Krankheits-Suszeptibilität.

besonders hohe CpG-Dichte aufweisen. Im Vergleich zu den humanen Orthologen zeigen die ALUs in den Gibbon-Bruchpunkregionen eine deutlich erniedrigte CpG-Methylierung. Die epigenetische Genomarchitektur könnte eine treibende Kraft der Chromosomenevolution darstellen [11].

Ausblick

Die menschliche Kultur hat in den letzten 50.000 Jahren unser Genom möglicherweise stärker geformt als die Biologie. Hunderte von Genen zeigen Anpassungsprozesse, die mit menschlicher kultureller Aktivität zusammenhängen [12]. Die DNA-Methylierung ist ein Mechanismus, der sensibel für Umwelteinflüsse ist und sich auf die Evolution einer Art auswirken kann. Zukünftige Forschungen werden zeigen, inwieweit biologische und kulturelle Faktoren über epigenetische Veränderungen der Erbinformation spezifisch

menschliche Eigenschaften beeinflussen und geformt haben. ■

Literatur

- [1] Jaenisch R, Bird A (2003) Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet* 33:245–250
- [2] Yoder JA, Walsh CP, Bestor TH (1997) Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. *Trends Genet* 13:335–340
- [3] Bartolomei MS, Tilghman SM (1997) Genomic imprinting in mammals. *Annu Rev Genet* 31:493–525
- [4] Haaf T (2006) Methylation dynamics in the early mammalian embryo: implications of genome reprogramming defects for development. *Curr Top Microbiol Immunol* 310:13–22
- [5] Eckhardt F, Lewin J, Cortese R et al. (2006) DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22. *Nat Genet* 38:1378–1385
- [6] Enard W, Fassbender A, Model F et al. (2004) Differences in DNA methylation patterns between humans and chimpanzees. *Curr Biol* 14:148–149
- [7] Farcas R, Schneider E, Frauenknecht K et al. (2009) Differences in DNA methylation patterns and expression of the CCRK gene in human and nonhuman primate cortices. *Mol Biol Evol* 26:1379–1389
- [8] Feinberg AP, Irizarry RA (2010) Stochastic epigenetic variation as a driving force of development, evolutionary adaptation, and disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:1757–1764
- [9] Turner BM (2009) Epigenetic responses to environmental change and their evolutionary implications. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:3403–3418
- [10] Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C et al. (2008) Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *New Engl J Med* 359:61–73
- [11] Carbone L, Harris RA, Vessere GM et al. (2009) Evolutionary breakpoints in the gibbon suggest association between cytosine methylation and karyotype evolution. *PLoS Genet* 5:e1000538
- [12] Laland KN, Odling-Smee J, Myles S (2010) How culture shaped the human genome: bringing genetics and the human sciences together. *Nat Rev Genet* 11:137–148

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Thomas Haaf
 Institut für Humangenetik
 Julius-Maximilians-Universität Würzburg
 Biozentrum
 Am Hubland
 D-97074 Würzburg
 Tel.: 0931-3188738
 Fax: 0931-3184069
 thomas.haaf@uni-wuerzburg.de

AUTOREN



Eberhard Schneider

Jahrgang 1965. 2001–2007 Studium der biologischen Anthropologie an der Universität Mainz. 2007–2010 Doktorarbeit im Institut für Humangenetik der Universitäten Mainz und Würzburg bei Prof. Dr. Haaf.



Ruxandra Farcas

Jahrgang 1980. 1999–2004 Biotechnologiestudium an der Universität Klausenburg, Rumänien. 2006–2009 Doktorarbeit im Institut für Humangenetik der Universität Mainz bei Prof. Dr. Haaf.



Thomas Haaf

Jahrgang 1959. 1978–1984 Medizinstudium an der Universität Würzburg. 1984–1989 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Würzburger Institut für Humangenetik. 1985 Promotion; 1989 Habilitation im Fach Humangenetik. 1989–1995 Heisenberg-Stipendiat der DFG am Department of Genetics der Stanford University und der Yale University. 1995–2001 Arbeitsgruppenleiter am Berliner Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik. 2001–2009 Leiter des Lehrstuhls für Humangenetik am Mainzer Universitätsklinikum. Seit 2009 Vorstand des Instituts für Humangenetik an der Universität Würzburg.