

Fra genetik til epigenetik

Forfattere:



Katrine Sonne-Hansen er Forskningskoordinator, m.sc. ph.d.
katrine.sonne@bric.ku.dk



Charlotte Etzerodt er centerkoordinator
charlotte.etzerodt@bric.ku.dk



Kristian Helin er professor, ph.d. og direktør
kristian.helin@bric.ku.dk

Alle ved Biotech Research and Innovation Centre (BRIC) og Center for Epigenetik, Københavns Universitet.

De senere år er det blevet klart, at celler indeholder anden arvelig information end den, der er indeholdt i den genetiske kode. Det har gjort epigenetik til et yderst varmt forskningsemne, der har ført til ny erkendelse om organismers udvikling og kan lede til potentielle behandlinger for folkesygdomme som kræft.

Kortlægningen af menneskets genom i 2001 gav forskere og læger håb om at, en række sygdomme nu kunne diagnosticeres og behandles hurtigere og mere effektivt. Med en viden om den "normale" genetiske kode, forventede man at kunne udpege sygdomsfremkaldende genetiske mutationer og målrettet behandle de skadelige effekter af dem. Men så enkelt skulle det ikke være. Det har nemlig vist sig, at mange sygdomme tilsyneladende ikke kun opstår som følge af ændringer i den genetiske kode – men også som følge af ændringer i vores geners organisering eller, populært sagt, deres arkitektur. Den information, som påvirker genarkitekturen, findes ikke i vores genetiske kode, men i modifikationer omkring vores DNA. Og det har vist sig, at denne information blive kopieret og givet videre i lighed med den genetiske kode, når vores celler deler sig. Vores celler indeholder altså anden "arvelig" information end den genetiske kode. Med den erken-

delse er forskning i såkaldt *epigenetik* stormet frem i den internationale forskningsverden de seneste år. Resultaterne har på flere punkter vendt op og ned på vores forståelse af helt grundlæggende forhold omkring organismers udvikling og sygdommes opståen, og det har udfordret vores opfattelse af, at den genetiske kode eksklusivt betinger disse processer.

Epigenetik – historisk set

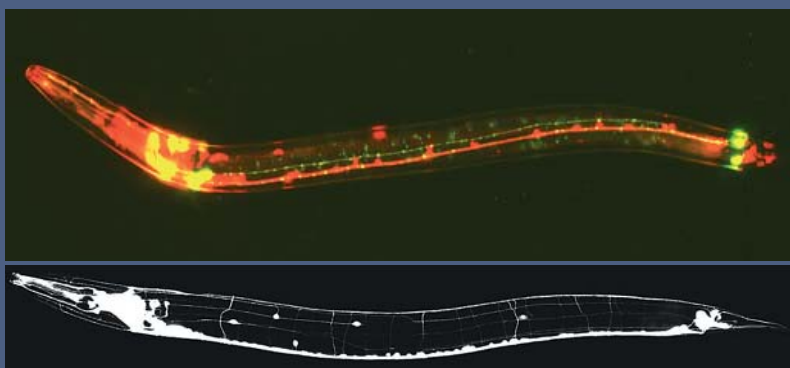
Ordet "epi" er af græsk oprindelse og betyder egentlig "ved siden af" – så epigenetik betyder "ved siden af generne". Ordet epigenesis kan spores langt tilbage i historien og var i blandt andet 1600- og 1700-tallet forbundet med den da fremherskende *præformationsteori*. I følge denne teori indeholdt kønscellerne forstadiet til et allerede dannet individ i miniature, hvorved udvikling alene blev et spørgsmål om vækst ud fra en forud fastlagt (præformeret) form. I 1942 introducerede biologen C. H. Wad-

Nye udfordringer – nye metoder

Inden for den epigenetiske forskning betræder man til stadighed ny grund, og det stiller store krav til de metoder og den teknologi, som anvendes. Eksempelvis har bestræbelserne på at kortlægge histon-modifikationer og de mønstre, de optræder i, gjort det nødvendigt at udvikle avancerede massespektrometriske og systematiske, kvantitative proteomanalyser (proteomics) i stor skala. Det åbner op for, at forskere kan øge deres indsigt i spørgsmålsområder som, hvordan cellerne indbyrdes signalerer, hvilken rolle histonerne spiller under celledeling samt undersøge de proteiner, som genkender og binder sig til bestemte histon-modifikationer.

Forskerne ved Center for Epigenetik fokuserer på mange fundamentale biologiske og mekanistiske spørgsmål, bl.a. hvordan den epigenetiske "hukommelse" bevares igennem celledeling efter celledeling. Hvordan koordineres denne komplekse proces i tid og rum, og med kopieringen af DNA-koden under en celledeling, uden at der opstår uønskede forandringer i kromatinet og i placeringen af histon-modifikationer? Her har en af centrets grupper udviklet en ny banebrydende metode, som gør det muligt at følge histon-modifikationer over tid og igennem celledeling. Det er forventningen, at metoden kan kaste lys over den epigenetiske hukommelse og ikke mindst over betydningen for både normale organismers udvikling og for udvikling af eksempelvis kræft.

Centret bruger også rundormen *C. elegans* som en modelorganisme i bestræbelser på at kaste lys over de epigenetiske regu-



↑ Rundormen *Caenorhabditis elegans* er en meget brugt organisme i forskning. Den bliver ca. 1 mm lang, og da den er gennemsigtig kan den enkelte celledeling og afgrænsning tydeligt iagttages. Det gør ormen yderst velegnet til studier af såvel normal udvikling som af, hvad der sker, når udviklingen forløber unormalt.

Foto: Roger Pocock, BRIC.

lators biologiske funktion. Fordelen ved *C. elegans* er, at dens udvikling og celledifferentiering er beskrevet ned til den mindste detalje, så man kan følge hver enkelt celledeling.

Det gør det muligt at undersøge, hvordan epigenetiske enzymer regulerer de mekanismer, som tilsammen bestemmer den enkelte celledelingstype, men også hvordan denne identitet bevares, så eksempelvis en nervecelle forbliver en nervecelle.

← Illustrationen viser et DNA-molekyle, hvor der er koblet en metylgruppe (-CH₃) på begge DNA-strengene ved DNA-basen cytosin i midten. Dette kaldes DNA-metylering, og dette fænomen spiller en stor rolle i epigenetisk regulering af gener og for udvikling af kræft.

Illustration: Christoph Bock, Max Planck Institute for Informatics

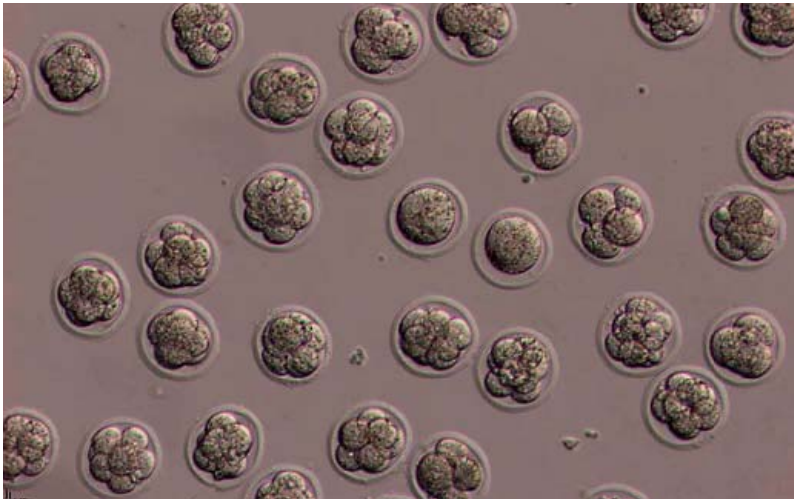
dington en mere moderne forståelse af ordet epigenetik som genernes evne til at frembringe et fænotypisk udtryk igennem vekselvirkning med omgivelserne i cellen. I dag, mere end et halvt århundrede senere, bruges begrebet epigenetik som nævnt oftest om funktionelle forandringer af genomet, uden at det involverer ændringer i selve DNA-sekvensen.

Epigenetikken beskæftiger sig således med ændringer, som kan overføres fra en generation til den anden, uden at det direkte involverer ændringer i den genetiske kode. Begrebet "generation" har i denne sammenhæng to betydninger: Således kan ændringerne nedarves fra en *celle*-generation til den anden, fx når stamceller deler sig og giver ophav til nye datter-celler, og det har også været beskrevet, at epigenetiske ændringer endda nedarves fra et individ til de næste generationer. Hvis de epigenetiske ændringer således sker i et individs kønscel-



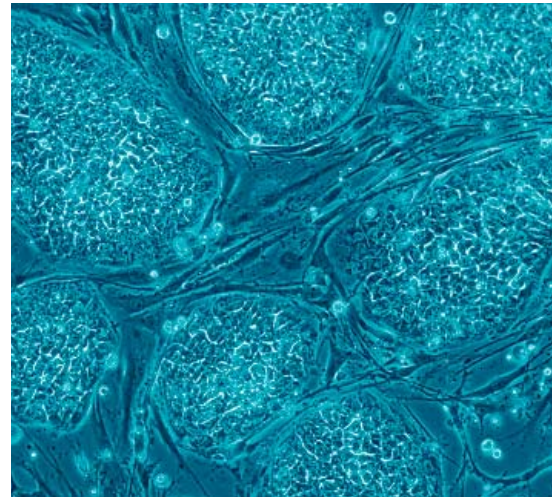
I cellekernen i hver eneste celle i vores krop findes den genetiske information lagret i DNA-molekylet. Den godt to meter lange DNA-dobbelthelix er sirligt viklet op omkring proteiner kaldet histoner. Tilsammen kaldes DNA og histoner for kromatin.

Akvarel af Nicolas Bouvier for G. Almouzni, CNRS Institut Curie, Paris.



Mikroskopibilleder af embryoer fra mus i de stadier (2-8 celler), hvor den allerførste celle er begyndt at dele sig. På dette tidspunkt er cellerne endnu ikke specialiserede – dvs. de har ikke udviklet den "identitet", som kendetegner den fuldt udviklede celle, og som cellen derefter giver videre til de efterfølgende cellegenerationer.

Foto: Aditya Sankar, BRIC



På billedet ses en koloni af humane stamceller fra et embryo. Disse celler, som stammer fra de tidligste udviklingsstadier, kan differentiere til hvilken som helst af de 220 typer af celler, som tilsammen udgør den menneskelige krop. Det gør stamcellerne yderst anvendelige inden for grundforskning, ligesom det åbner op for udvikling af nye behandlingsformer.

Foto: Nissim Benvenisty

ler, kan ændringen gives videre til individets afkom. Det har man fx observeret i populationsstudier af svenske befolkningsgrupper, hvor ernæringstilstanden angiveligt ser ud til at inducere nogle epigenetiske forandringer i alle kroppens celler, inklusiv kønscellerne, ændringer som viste sig at påvirke senere generationers sundhedstilstand. Man har dog endnu ikke forstået mekanismen for, hvordan epigenetiske ændringer i praksis kan nedarves fra en generation til en anden, og mange forskere er derfor stadig skeptiske overfor, om det faktisk kan lade sig gøre.

Epigenetikens store spørgsmål

Den genetiske kode er bestemt af rækkefølgen af basepar i vores DNA, og den er ens i alle kroppens celler. Hver gang en celle deler sig, helt fra den første stamcelle, dannes en identisk kopi af vores DNA, som gives videre til de to nye celler.

Et af de helt store videnskabelige spørgsmål er, hvordan den første stamcelle, som opstår, når æg og sædcelle smelter sammen, kan give ophav til de 220 forskellige celletyper, vores krop består af. Dette store spørgsmål rummer i sig selv en helt vifte af interessante spørgsmål: Hvordan ved cellerne, som alle har den samme genetiske kode, hvad de skal blive til? Og hvordan opretholdes cellernes specialiserede funktioner livet gennem? Her træder epigenetikken ind, da den udstyrer vores celler med en form for viden og hukommelse om, hvad de er, både under fosterudviklingen og senere i livet, hver gang de deler sig. Men hvordan lagres denne

hukommelse i cellerne? Og er denne "epigenetiske" hukommelse involveret, når celler glemmer, hvad de er og i stedet udvikler sig til kræftceller?

Svarene på de spørgsmål kan måske lede os på vej mod behandlinger af sygdomme – fx hvis man kan finde metoder til at re-programmere kræftceller, så de opnår deres normale epigenetiske hukommelse og ikke længere opfører sig som kræftceller.

Epigenetiske mekanismer styrer genaktiviteten

Som nævnt er et af epigenetikens helt store spørgsmål, hvordan dannelsen af specialiserede celletyper sker ud fra den første stamcelle – en proces kaldet differentiering. I denne proces er epigenetiske mekanismer populært sagt ansvarlige for at "slukke" og "tænde" for udvalgte gener, så kun de rette gener er tændt i en given celletype, på et givent tidspunkt. Og det er afgørende for, at en celle kan bevare sin identitet og funktion. Man mener således, at en af årsagerne til at kræft opstår, er, at nogle celler fejlagtigt "de-differentierer" og modtager signaler om, at de besidder stamcelleegenskaber, hvilket får dem til at dele sig ukontrolleret. Kræftudviklingen påvirkes dermed ikke kun af egentlige mutationer, men også af epigenetiske ændringer, som får cellen til at tro, at den skal dele sig. Det udfordrer den klassiske opfattelse af, at kræft udelukkende er en genetisk sygdom.

I cellernes kerne ligger vores to meter lange DNA-streng sirligt viklet op omkring nogle proteiner kal-

Center for Epigenetik

Center for Epigenetik er et af Grundforskningsfondens *Centers of excellence*, som holder til på forskningscentret BRIC ved Københavns Universitet. Det har medlemmer fra fem forskningsgrupper; fire ved BRIC og en ved Institut for Biokemi og Molekylærbiologi på Syddansk Universitet. I alt bringer centret ca. 50 forskere (først og fremmest postdoc og ph.d.-studerende) sammen i bestræbelserne på at besvare en række af de store spørgsmål inden for epigenetikken.

De overordnede forskningsmål for centret er:

At identificere nye modifikationer af histonerne og deres samspil med andre epigenetiske modifikationer. Med andre ord at bidrage til definition af det, der kaldes "histonkoden".

At identificere de enzymer, der katalyserer påsætningen og fjernelsen af histonmodifikationer, samt at identificere de proteiner, der afkoder histonmodifikationerne.

At identificere de udefrakommende signaleringsveje, der regulerer histonmodifikationerne.

At forstå den biologiske betydning af histonmodifikationerne samt de identificerede enzymer og proteiner, der influerer på



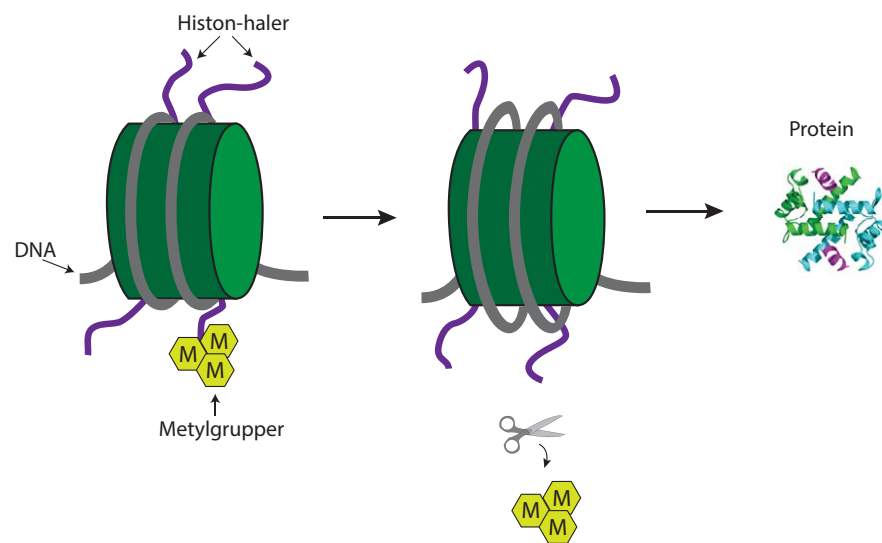
Forskningsmøde på Center for Epigenetik

Foto: René Andersen

reguleringen af disse.

At give indsigt i, hvordan den epigenetiske regulerings normale funktion bliver ændret ved forskellige sygdomme, især kræft.

Når bestemte kombinationer af histon-modifikationer, fx metylgrupper, sidder på histonerne, bliver kromatinstrukturen så tæt, at DNA-koden ikke kan aflæses. Men visse proteiner/proteinkomplekser kan fjerne modifikationerne, hvorved strukturen løsnes. Generne er nu tilgængelige for aflæsning, og produktionen af proteiner aktiveres.

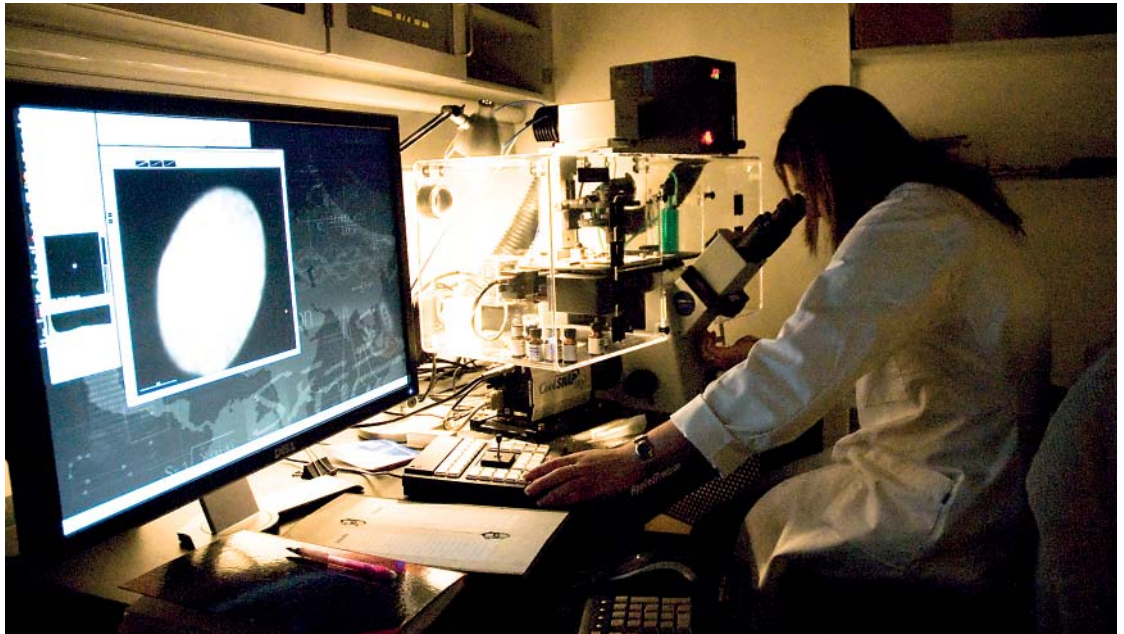


det histoner. Sammen udgør DNA og histoner en struktur kaldet kromatin, og netop denne struktur har stor betydning for vores genes aktivitet. Hvis strukturen er tæt, kan det maskineri, som aflæser og kopierer DNA-koden, ikke komme til, og generne i området vil være slukket. Omvendt vil generne i et område med en løs kromatinstruktur have muligheden for at være tændte. Det er derfor interessant at studere de epigenetiske mekanismer, der kan regulere kromatinets struktur og dermed vores genes aktivitet. Og det er netop omdrejningspunktet for forskeres arbejde ved Center for Epigenetik.

Nogle af disse epigenetiske mekanismer påvirker histonerne ved at inducere små kovalente modifikationer, såkaldte histonmærker, som er kemiske grupper (fx metylgrupper), der er hæftet på histonernes overflade. Modifikationerne medvirker til, at forskellige proteiner og proteinkomplekser binder til kromatinet, hvilket har betydning for, hvor tilgængeligt det underliggende DNA er. Forskere fra Center for Epigenetik har identificeret og karakteriseret flere enzymer, som er i stand til at påsætte og fjerne nogle af disse histon-modifikationer. At fjerne histon-modifikationer giver i nogle tilfælde en mere åben struktur af kromatinet og i andre til-

Prøver undersøges i mikroskopet på BRIC.

Foto: René Andersen



Videre læsning:

Centrets hjemmeside
<http://epigenetics.ku.dk/>
www.epigenetics.dk

Helin and Dhanak,
 Nature, 2014 (oversigts-
 artikel)

Alabert et al. Nature Mol
 Biol, 2014 (metodeudvik-
 ling til at aflæse kromat-
 induplikering)

Gehani et al, Molecu-
 lar Cell, 2010 (cellulære
 stres-faktorer påvirker
 genaktivitet)

Cloos et al, Nature 2006
 (fund af demetyleringsen-
 zymer)

Oversigtsartikel som
 diskuterer mulige måder
 effekterne kan nedar-
 ves på:
 Young, N.A. & White-
 law, E. (2008): Transge-
 nerationale Epigenetic
 Effects. Annual Review
 of Genomics and Human
 Genetics. Vol. 9: 233-257.

Artiklen bygger på artik-
 len: "Center for Epigene-
 tik – når den genetiske
 kode ikke giver (hele)
 svaret", oprindelig offent-
 liggjort i BioZoom vol. 15,
 nr. 2, 2012.

fælde en mere lukket struktur. Altså har disse enzymer betydning for tilgængeligheden af DNA'et og om generne bliver aflæst eller ej – og dermed altså for aktiviteten af vores gener. Men historien er ikke så enkel og andre epigenetiske reguleringsmekanismer virker i samspil med de kemiske histonmærker og udfordrer forskernes forståelse af, hvad der præcist skal til for, at vores gener er aktive.

Epigenetik og sygdom

En af de helt store erkendelser, der følger af disse resultater, er, at de epigenetiske mekanismer er langt mere reversible end tidligere antaget. Før antog man, at modifikationerne var stabile, når de først sad på histonerne. Men med afsløringen af særlige enzymer, som kan fjerne modifikationer fra histonerne, har centrets forskere vist, at den epigenetiske regulering er reversibel. Det antyder, at epigenetiske mekanismer er en fleksibel måde at regulere vores gener på i forhold til genetiske mekanismer, som kræver ændringer af den genetiske kode. Andre resultater fra centerets forskere understøtter denne opdagelse. Det har således vist sig, at epigenetiske mekanismer justerer processer og funktioner i vores celler, når de fx udsættes for ydre stress-faktorer. Det kan fx være tobaksrøg, stråling eller bakterielle toksiner, der stresser cellerne, så de er nødt til at tilpasse deres normale funktioner for at overleve. Forskerne har således vist, at stressfaktorer kan tænde for gener, som normalt er slukkede, og det kan hjælpe cellen til at overkomme akut stress. Langvarig stress-påvirkning af vores celler giver derimod risiko for, at den ændrede genaktivitet kan være sygdomsfremkaldende og under fostertilstanden kan ændringer i genaktiviteten give udviklingsforstyrrelser. De epigenetiske ændringer kan altså i lighed med genetiske ændringer påvirke både vores normale udvikling og give anledning til sygdom.

At de epigenetiske mekanismer kan være reversible og fleksible, giver dog også begrundet håb om, at viden om disse mekanismer kan udnyttes til sygdomsbehandling. Ved kræft kan man ofte måle en overaktivitet af de såkaldte onko-gener, som stimulerer cellerne til at dele sig. Hvis man eksempelvis kan rette lægemidler mod de enzymer, som regulerer mængden af histon-modifikationer, kan man muligvis slukke for eller dæmpe aktiviteten af onko-generne og dermed hindre kræftcellerne i at dele sig.

Det vil også være meget interessant, hvis man ved skader på nervesystemet kunne om-programmere specialiserede celler og få dem til at opføre sig som stamceller, der kan give ophav til nye nerveceller.

Nyt lys over store spørgsmål

Epigenetikken er altså et felt, der videnskabeligt kan besvare nogle af de store forunderlige spørgsmål inden for biologien, blandt andet hvordan en kompleks organisme med 220 celletyper kan dannes fra en enkelt celle med en enkelt gentisk kode, og hvordan ydre påvirkninger lagres i vores cellers hukommelse og potentielt nedarves. Samtidig er epigenetikken et felt, der forventes at kunne give afsæt for nye behandlingsformer af de store folkesygdomme som fx kræft. Der forskes således verden over på højtryk i, hvordan man blandt andet kan modulere histonernes påhæftede kemiske grupper, som er vist ændret i stort set alle kræfttyper. Forskere fra Center for Epigenetik bidrager til dette arbejde og har startet biotek firmaet EpiTherapeutics, som forsker i og udvikler hæmmere af epigenetiske enzymer til brug i behandlingen af kræftpatienter. Den første hæmmer fra firmaet forventes at komme i kliniske forsøg i starten af 2015 som behandling for myelomatose (kræft i knoglemarven) og brystkræft. ■