

BIOPHYSIK

Verwickelter Zellkern

Zum Auslesen unserer Erbsubstanz muss diese zunächst entpackt werden.

Helmut Schiessel

Die Träger unserer Erbsubstanz sind extrem lange Moleküle, die Desoxyribonukleinsäuren (DNS). Das Packen und Entpacken dieser Moleküle erfordert ausgeklügelte physikalische Mechanismen, die erst seit jüngster Zeit experimentell und theoretisch zugänglich sind.

Würde man die DNS aller Zellen eines menschlichen Körpers aneinanderheften, ergäbe dies ein Polymer von so gewaltiger Länge, dass es zirka hundert Mal von der Erde zur Sonne und zurück reicht. Selbst pro Zelle beträgt die Länge aller 46 DNS-Moleküle zusammengenommen beeindruckende zwei Meter. Die gesamte DNS muss jedoch in den nur wenige Mikrometer großen Zellkern passen. Um sie so dicht zu packen, muss es einen sehr effizienten Mechanismus geben. Ausgerechnet die hohe elektrische Ladung der DNS gibt Hinweise auf einen solchen Mechanismus, denn multivalente Gegenionen können eine Anziehung der Moleküle mit sich selbst erzeugen. Dieses Prinzip ist nachgewiesener Maßen in Samenzellen und Viren realisiert, wo das genetische Material so kompakt wie möglich transportiert werden muss. Für den Zellkern geht es jedoch nicht nur ums Packen, sondern auch darum, welche Gene einer DNS auslesbar sind und welche nicht. Gene enthalten Baupläne für Proteine. Da die Zusammenstellung der Proteine den Zelltyp festlegt – von der noch nicht differenzierten Stammzelle bis zur hoch spezialisierten Nervenzelle – und da alle Zellen die gleiche genetische Information in sich tragen, kommt dem Packen und Entpacken der DNS entscheidende Bedeutung zu.

Um all das zu erreichen, ist unsere Erbsubstanz – und so auch die aller Tiere, Pflanzen und Pilze – mithilfe von Proteinen in einen DNS-Protein-Komplex verpackt, der den Namen Chromatin trägt. In den letzten Jahren zeigte sich mehr und mehr, dass dieser raffinierte Komplex jede Menge faszinierende Physik enthält und weitaus weniger spezifische Biologie, wie man vielleicht zunächst vermutet. Chromatin hat eine hierarchische Struktur, die sich über zahlreiche Längenskalen von den 0,34 nm dicken Basenpaaren bis zum mehrere μm großen Chromosom erstreckt. Die 2 nm dicke DNS-Doppelhelix ist jedermann geläufig. Weniger bekannt ist, dass rund drei Viertel unserer DNS zu jedem gegebenen Zeitpunkt um Proteinzylinder gewickelt sind. Die resultierenden Komplexe mit

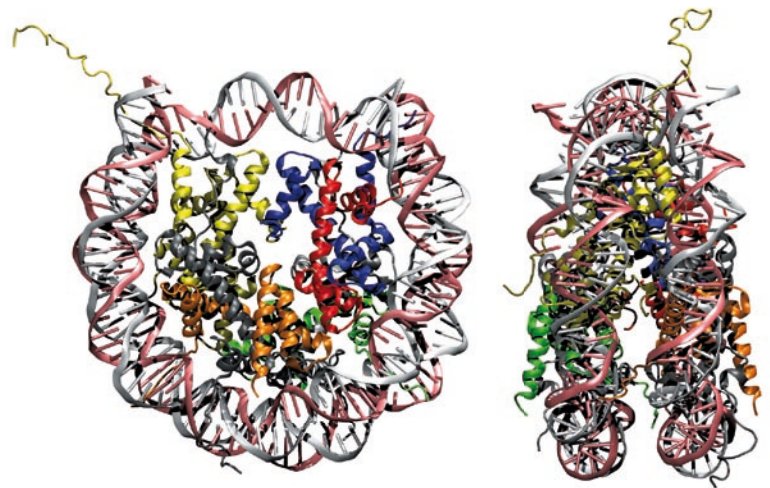


Abb. 1 Rund drei Viertel unserer DNS sind auf Proteinzylinder gewickelt (links: Aufsicht, rechts: Seitenansicht).

10 nm Durchmesser werden Nukleosomen genannt (Abb. 1), der ungewickelte Rest zwischen diesen sind die DNS-Linker. Als nächsthöhere Struktur gibt es die Chromatinfasern, auch Dreißig-Nanometer-Fasern genannt. Die Strukturen jenseits dieser Fasern sind unbekannt, aber am Ende faltet sich alles in das berühmte X-förmige Chromosom, welches in dieser dichtesten Form vor der Zellteilung auftritt und die beiden sauber getrennten DNS-Kopien enthält (Abb. 2a). Eine menschliche Zelle verfügt insgesamt über 46 DNS-Moleküle, die zusammen mit den oben genannten Proteinen 46 Chromosomen bilden.

Kommen wir wieder zum Ausgangsproblem zurück, nämlich dass die DNS nicht nur gepackt sein muss, um in den Zellkern zu passen, sondern auch wieder stückweise ausgepackt werden muss, um beispielsweise Zugang zu einem Gen zu erlauben. Könnte hierbei die hierarchische Struktur hilfreich sein? Folgende Analogie legt das nahe: Der gesamte Text der Zeitschrift,

KOMPAKT

- Die Erbinformation einer menschlichen Zelle lässt sich mit einem 2 m langen Magnetband vergleichen, das so kompakt archiviert werden muss, damit es in den nur μm großen Zellkern passt.
- Rund drei Viertel der DNS sind ständig um Proteinzylinder gewickelt, die Nukleosomkerne. Sie sind nur kurzzeitig „auslesbar“, wenn sie aufgrund thermischer Fluktuationen „atmen“. Dabei muss die Gesamtkonfiguration trotzdem stabil sein.
- Die Anordnung der DNS als gefaltete Chromatinfasern bis hin zum Chromosom ist noch unklar, sie weist jedoch Eigenschaften eines raumfüllenden Fraktals auf.

Prof. Dr. Helmut Schiessel, Instituut-Lorentz, Universiteit Leiden, Postbus 9506, 2300 RA Leiden, Niederlande

1) Dies ist mithilfe von Förster-Resonanzenergietransfer möglich.

die sie jetzt in Ihren Händen halten, ist ungefähr einen Kilometer lang. Der gesamte Text aller Zeitschriften, die sich in Ihrer Physikbibliothek befinden, geht wohl in die Zehntausende von Kilometern – und wahrscheinlich sind leider nur fünf Prozent das Papier wert, auf dem sie gedruckt sind, so wie auch nur fünf Prozent unserer DNS sinnvolle Informationen trägt. Stopfte man diesen langen Text als ein Papierband in die Bibliothek, wäre es schwierig, in diesem Wust eine bestimmte Textstelle zu finden. Mehr noch, es wäre physikalisch unmöglich, an sie heranzukommen, ohne auf dem Weg dahin den topologisch extrem verwickelten Papierstreifen an vielen Stellen zu zerreißen. Jeder kennt die Lösung dieses Problems, auch wenn er oder sie vielleicht nie bewusst darüber nachgedacht hat: Wir ordnen unseren Text hierarchisch in Zeilen, Seiten, Büchern und Regalen (Abb. 2b). Anhand einer Referenz können wir das Regal und dann das gesuchte Buch finden und es auf der gewünschten Seite aufschlagen – ohne dabei im mindesten den Rest der Bibliothek zu stören. Wir müssen lediglich dieses eine Buch entnehmen und auch nur an einer Stelle aufklappen; die anderen Seiten bleiben dicht gestapelt. Aber trifft diese Analogie auf die verschiedenen Ebenen in Chromatin – Nukleosom, Chromatinfaser und gesamtes Chromosom – wirklich zu?

Das Nukleosom – ein sorgfältig gebundenes Buch?

Wenn man die DNS eines Chromosoms lange genug mit einem Enzym namens Nuklease chemisch zersetzt, dann überlebt lediglich jener Teil, der um die Proteinzylinder gewickelt ist. Die Kristallstruktur des resultierenden Nukleosomkerns ist seit geraumer Zeit bekannt [1] (Abb. 1). Die DNS ist 147 Basenpaare (bp) lang und ist in eindreiviertel Windungen um einen

Zylinder aus acht Histonproteinen gewickelt. Sie ist dabei an 14 Stellen im Abstand von 10 bp unspezifisch an den Proteinzylinder gebunden. Rund drei Viertel unserer DNS sind so verpackt (vgl. den Nukleosomstrang in Abb. 2a) und – wie ein geschlossenes Buch – nicht lesbar.

Wie ein Gen durch hunderte von Nukleosomen hindurch kopiert werden kann, ist noch völlig unbekannt. Gut verstanden ist dagegen die experimentelle Beobachtung, dass DNS-bindende Proteine auch an ihre spezifische Bindungsstelle andocken können, wenn sich diese innerhalb eines Nukleosoms befindet [2]. Das sollte eigentlich nicht möglich sein, da gebundene Proteine typischerweise die DNS „umarmen“ und/oder verbiegen. Um dies zu erklären, postulierten Polach und Widom 1995, dass Nukleosome „atmen“ [2]. Demnach verursachen thermische Fluktuationen das zeitweise Abwickeln eines Teils der DNS (Abb. 3a). Heutzutage kann man dieses Atmen direkt „sehen“, wenn man Farbstoffe an geeigneten Stellen auf der DNS anbringt [3].¹⁾

Polach und Widom verwendeten spezielle Enzyme, welche die DNS irreversibel an ihrer spezifischen Bindungsstelle „durchbeißen“. Wie bereits angedeutet, können DNS-bindende Proteine aus Gründen der räumlichen Anordnung nicht andocken, solange die Bindungsstelle in einem Nukleosom aufgewickelt ist. Durch Vergleich des Zerfalls der intakten DNS im Nukleosom mit dem viel schnelleren Zerfall von identischer DNS ohne Nukleosom konnten sie nachweisen, dass die Bindungsstelle nur einen Bruchteil p_{offen} der Zeit offen ist. p_{offen} hängt dabei exponentiell von der Position der Bindungsstelle ab (Abb. 3b). Die effektive Bindungsenergie pro Stelle liegt lediglich in der Größenordnung der thermischen Energie $k_B T$. Mit 3,4 nm Abstand zwischen den Bindungsstellen folgt, dass nur eine Kraft f von zirka $f_{\text{crit}} = 1$ pN vonnöten ist, um die DNS vom Zylinder abzulösen (Abb. 3c).

Die schwache Bindung der DNS zum Zylinder ist der Grund dafür, dass das Nukleosom so heftig „atmet“ und damit seine DNS-Proteine zeitweilig zur Verfügung stellt. Es führt aber auch zu Fragen: Warum sind Nukleosomen ungemein stabil, obwohl sie so schwach gebunden sind? Und wie können sie pN-Kräfte überleben, die häufig im Zellkern auftreten? In der Sprache unserer Analogie: Wer versucht hat, ein Buch draußen bei Wind zu lesen, weiß, dass die Seiten automatisch ohne Widerstand durchgeblättert werden. Es ist dann besonders wichtig, dass das Buch gut gebunden ist, damit die Seiten nicht nacheinander ausreißen. Wie aber kann das Nukleosom diese zwei scheinbar antagonistischen Anforderungen, die der leichten Zugänglichkeit und die der Stabilität, in sich vereinen?

Seit Beginn der 1990er Jahre kann man direkt an der DNS ziehen, indem man ein Ende an eine Oberfläche und das andere Ende an eine dielektrische Kugelchen klebt, welches man in einer optischen Falle festhält. Solche Experimente erlauben es, Kraft-Dehnungs-Kurven aufzunehmen und damit zum

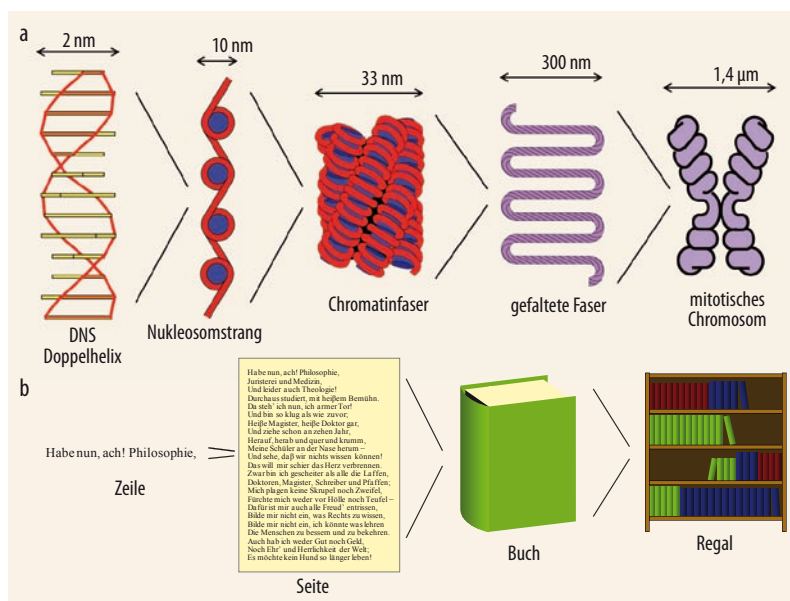


Abb. 2 Der Chromatinkomplex ist hierarchisch aufgebaut: Die DNS-Doppelhelix wickelt sich um Millionen von Proteinzylindern. Der resultierende Strang von Nukleosomen packt sich in eine Chromatinfaser, die sich ihrerseits in das gesamte Chromosom faltet (a). Ganz ähnlich ist eine Bibliothek strukturiert (b).

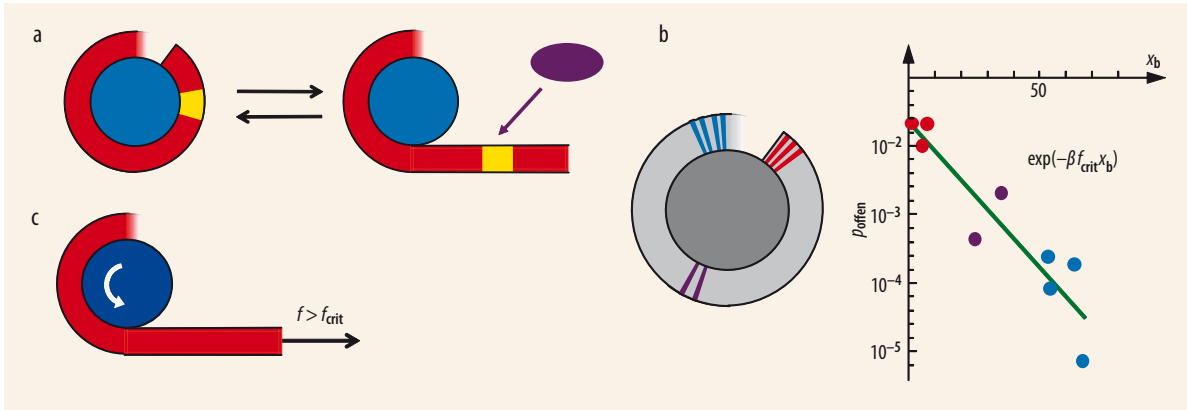


Abb. 3 Das spontane Abwickeln der DNS vom Nucleosom ermöglicht dem DNS-bindenden Protein (violett) das Docken an seine Bindungsstelle (gelb, a). Die Wahrscheinlichkeit p_{offen} , dass ein Protein seine Bindungsstelle offen antrifft, hängt exponentiell von der Position x_b innerhalb des Nucleosoms ab (b). Durch Anlegen einer Kraft f , die größer ist als die kritische Kraft f_{crit} , kann man die DNS gezielt vom Nucleosom abwickeln (c).

Beispiel etwas über die elastischen Eigenschaften von DNS zu lernen. Die Gruppe von Michelle Wang an der Cornell University zog 2002 auf diese Weise an einem DNS-Molekül, das 17 Nucleosomen trug (Abb. 4) [4]. Die Messwerte zeigen für kleinere Kräfte einen schwachen Anstieg mit dem auferlegten End-zu-End-Abstand, der den Entropieverlust durch Streckung des Polymerknäuels widerspiegelt. Spätestens aber das zackenartige Profil bei größeren Dehnungen deutet auf Ereignisse hin, die direkt mit den Nucleosomen zusammenhängen. Jedes sprunghafte Absacken der Kraft signalisiert das irreversible Abwickeln der letzten Runde der DNS von einem Nucleosom (die ersten drei Viertel lösen sich schon bei deutlich kleineren Kräften ab). Erstaunlicherweise geschieht dieses Abwickeln erst, wenn sich eine Kraft aufgebaut hat, die typischerweise 20 Mal größer ist als die von rund 1 pN, die wir vom Atmen der Nucleosomen kennen. Wie ist das möglich?

Die Cornell-Gruppe beobachtete, dass die typische Kraft, bei der sich die Nucleosomen abwickeln, sehr stark von der Rate abhängt, mit der man an der DNS zieht. Sie schlossen daraus, dass es für das Abwickeln eine Barriere gibt, deren Höhe sie mit $36 k_B T$ abschätzten. Da die diskreten Ereignisse das Abwickeln

der letzten Windung signalisieren, folgerten sie, dass diese durch zwei $36 k_B T$ starke Bindungsstellen festgehalten wird. Diese Erklärung ist jedoch nicht mit der oben genannten Abschätzung von rund $14 k_B T$ (14 Bindungsstellen à $k_B T$) für die gesamte Adsorptionsenergie in Einklang zu bringen.

Mein ehemaliger Doktorand Igor Kulić [5] gab eine einfache Erklärung für die Barriere, die keine superstarken Bindungsstellen postulieren muss, sondern allein auf der Geometrie des Nucleosoms und der Elastizität der DNS beruht. Kulićs Modell beschreibt die DNS als einen semiflexiblen Schlauch, dessen Mittelstück auf einen Zylinder geklebt ist. An den Enden des Schlauchs, wo er im Einklang mit dem Experiment frei um seine Achse rotieren kann, greift die Zugkraft f an. Beim Abwickeln der letzten DNS-Wicklung dreht sich das Nucleosom um 180° (Abb. 5a, Winkel β). Ein zweiter Winkel, α , beschreibt das eigentliche Abwickeln und durchläuft die Werte 0 (eine Wicklung) bis 180° (keine Wicklung). Die dazugehörige Energielandschaft wurde basierend auf Eulers 266 Jahre alten Theorie der elastischen Stäbe exakt berechnet. Auch wenn in diesem Beispiel die von außen angelegte Kraft 17 pN beträgt, bei der das abgewickelte Nucleosom die Energie minimiert ($\alpha = 180^\circ$), gibt es ein lokales Minimum

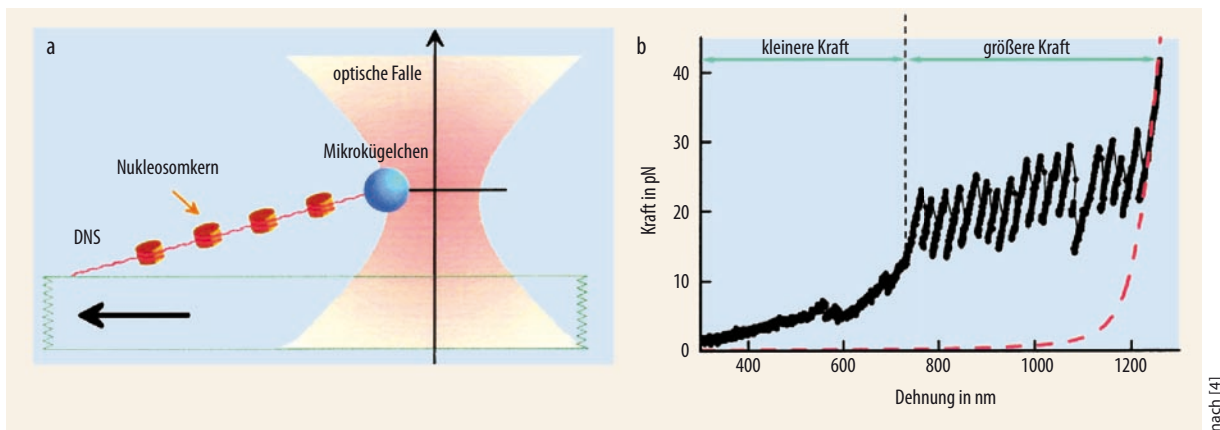


Abb. 4 Ein DNS-Strang lässt sich an einer Fläche fixieren und durch deren Bewegung in Pfeilrichtung dehnen (a). Die Zacken in der Kraft-Dehnungs-Kurve bei einem DNS-Molekül mit 17 Nucleosomen weisen auf irreversibles Abwickeln von DNS hin (b). Die rote gestrichelte Kurve entspricht der Kraft-Dehnungs-Kurve der DNS in der Abwesenheit von Nucleosomen.

bei $\alpha = 0^\circ$ – im Einklang mit dem experimentellen Befund. Um von dort zum globalen Minimum zu gelangen, muss das Nukleosom eine viele $k_B T$ hohe Barriere überqueren, deren Maximum dem halb gedrehten Nukleosom entspricht (Position 4 in Abb. 5a). Was ist der Ursprung dieser Hürde?

Schauen wir uns diesen Zustand ganz genau an (Abb. 5b): Die zwei DNS-Arme weisen 90-Grad-Biegungen auf, um aus der Krafrichtung kommend glatt in das Nukleosom einzumünden. Die damit verbundene elastische Energie verursacht die Barriere, die wie A/λ skaliert, wobei $A = 50 \text{ nm} \cdot k_B T$ das Biegemodul der DNS bezeichnet und $\lambda = \sqrt{A/f}$ die Länge der gebogenen Stücke. Die Energie skaliert also wie \sqrt{Af} – je größer die Kraft, desto stärker sind die DNS-Arme gebogen und umso höher die Barriere. Ironischerweise hat also das Experiment, welches die Hürde vermessen wollte, sie durch das Anlegen der Kraft tatsächlich erst erzeugt.

Ein direkter Vergleich des theoretischen Modells mit dem Experiment legt jedoch nahe, dass man hier, trotz der hohen Barriere, eine deutlich höhere Adsorptionsenergie pro Länge annehmen muss als die genannten 1 pN. Das ist aber keine Schwäche des Modells, sondern gibt vielmehr Einblicke in das Design des Nukleosoms, das, wie bereits erwähnt, leichte Zugänglichkeit und Stabilität in sich vereinen muss. Die zwei Windungen der DNS stoßen sich elektrostatisch ab. Wenn sich die DNS an einer Stelle vom Zylinder ablöst, wie das beim „Atmen“ des Nukleosoms der Fall ist (Abb. 3a), reduziert diese gegenseitige Abstoßung die effektive Adsorptionsenergie. Wenn dagegen in der kraftinduzierten Abwicklung der letzten DNS-Windung diese Abstoßung fehlt, ist die zu überwindende Adsorptionsenergie deutlich größer.

Wir sehen jetzt, wie das Nukleosom mit seinen zwei abstoßenden Windungen sowohl Zugänglichkeit als auch Stabilität in sich vereinen kann (Abb. 5c). Thermische Fluktuationen führen deshalb zum zeitweisen Ablösen der gewickelten DNS von einem der beiden Enden. Dieses Abwickeln stoppt spätestens, wenn nur noch eine Windung übrig ist, da diese dann erheblich stärker adsorbiert ist. Auf diese Weise ist alle DNS spontan zugänglich, aber nie weniger DNS auf dem

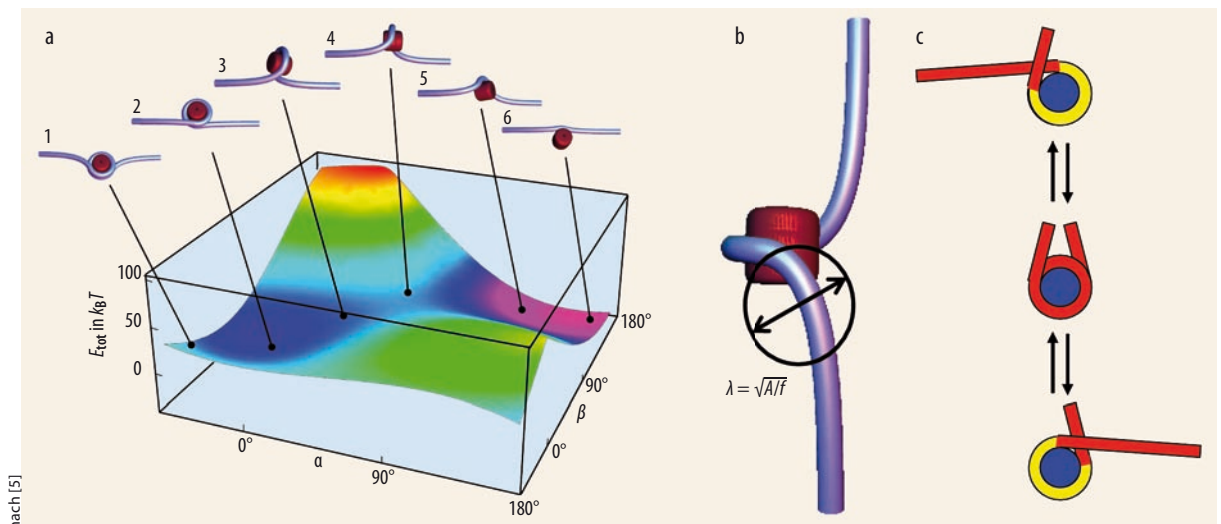
Nukleosom als eine volle Runde, was die Stabilität gewährleistet. Ein zweiter Vorteil der Spulenform liegt im Aufbau einer kinetischen Barriere, welche das Nukleosom gegen zeitlich begrenzte Kräfte schützt (Abb. 4b). Kurzum: Das Nukleosom gleicht tatsächlich einem gut gebundenen Buch.

Die Chromatinfaser – der Äther im Zellkern?

Die nächste Struktur in der Hierarchie ist die Chromatinfaser (Abb. 2a). Anhand der Analogie zur Bibliothek scheint alles schon ganz klar vorgezeichnet. Die Chromatinfaser ist wie ein Buchregal, und wir müssen nur herausfinden, wie man die Nukleosomen aus der dichten Faser herausziehen kann, um an deren DNS heranzukommen, oder wie man ganze Abschnitte einer Faser in einen offenen Strang von Nukleosomen umwandeln kann. Für letzteren Mechanismus müsste man lediglich die Wechselwirkung zwischen den Nukleosomen verringern. Tatsächlich kann die Zelle die Anziehung zwischen Nukleosomen durch die Neutralisierung geladener Gruppen in den so genannten Histonschwänzen regulieren, acht flexiblen Endstücken der Histonproteine, die in der Kristallstruktur nur bruchstückweise zu sehen sind (Abb. 1) [6].

Leider ist die Welt der Chromatinfasern viel komplizierter, als man erwarten würde. Das zeichnet sich schon ab, wenn man das Standard-Lehrbuch der molekularen Biologie zu Rate zieht [7]. Jede Ausgabe dieses Buches enthält ein Bild der Chromatinhierarchie. Seit der ersten Ausgabe im Jahre 1983 hat sich nichts wesentliches daran verändert mit Ausnahme der Chromatinfaser, die jedes Mal anders aussieht. Die zwei wichtigsten Fasermodelle, die auch einstmals in besagtem Lehrbuch zu finden waren, sind zum einen das Solenoid-Modell, das annimmt, dass Nukleosomen, die entlang der DNS aufeinander folgen, sich in ein Solenoid stapeln. Die DNS-Linker müssen dabei verbogen sein, um diese Geometrie zu erlauben. Das Crossed-Linker-Modell zum anderen nimmt dagegen an, die Linker seien gerade, was eine andere Geometrie bedingt. In diesem Modell durchkreuzen die Linker die Faser (Abb. 6a).

Abb. 5 Beim Abwickeln der DNS vom Nukleosom muss eine Energiebarriere an der Position 4 überwunden werden (a). Der Ursprung dieser Barriere ist die 90°-Biegung der DNS-Arme (b). Das spontane Abwickeln der DNS endet typischerweise, wenn nur noch eine Windung vorhanden ist (c).



Es ist nicht überraschend, dass sich die Bilder der DNS-Doppelhelix und des Nukleosoms in den letzten Jahrzehnten nicht verändert haben, denn diese Strukturen sind gut verstanden. Auch gibt es keinen Grund, das Bild jenseits der Chromatinfaser zu verändern, denn hier ist alles noch ziemlich im Dunkeln. Aber warum findet jede neue Mode bezüglich der Chromatinfaser ihren Eingang in ein Standard-Lehrbuch?

Dies spiegelt das Dilemma wider, dass experimentelle Methoden entweder noch nicht funktionieren (z. B. gibt es keine Kristallstruktur der Chromatinfaser) oder zu viel Raum für Interpretationen lassen (z. B. lösen Elektronenmikroskopieaufnahmen die innere Struktur der Fasern nicht auf, Abb. 6b). So sind dem hemmungslosen Modellbau keine Grenzen gesetzt. Notwendig ist nur, irgendwie eine 30 nm – oder eher 33 nm – dicke Faser aus Nukleosomen zusammenzusetzen, um der einzig klaren experimentellen Beobachtung Rechnung zu tragen. Fasern solcher Dicke beobachtet man übrigens, wenn man Chromatin aus einem Zellkern extrahiert oder sie aus DNS und Histonproteinen wieder zusammensetzt. Und so kommen Jahr um Jahr Dutzende neuer Modelle auf den Markt, ohne dass man sie auf ihren Wahrheitsgehalt testen könnte.

Mein Ratschlag bezüglich Chromatinfasern: Glauben Sie niemand! Ich sage das nicht ohne Augenzwinkern, denn nachfolgend versuche ich natürlich, Sie von „meinem“ Modell zu überzeugen. Bevor ich dazu komme, möchte ich von einem Experiment berichten, das überraschende neue quantitative Erkenntnisse geliefert hat: Der Gruppe um Daniela Rhodes in Cambridge ist es gelungen, ein langes DNS-Molekül mit zirka 50 Nukleosomen herzustellen, die einen genau definierten Abstand voneinander haben [8]. Dieser Nukleosomenstrang formt dichte Fasern. Experimente wurden mit sechs verschiedenen DNS-Wiederholungen pro Nukleosom durchgeführt, nämlich von 187 bis 237 bp in Schritten von 10 bp (147 bp davon sind gewickelt). Das spektakuläre Ergebnis: Fasern für jeweils drei Längen sehen komplett identisch aus. Für die kürzeren Linker (40 bis 60 bp lang) sind die Fasern 33 nm dick, für die längeren (70 bis 90 bp lang) 44 nm (Abb. 6b).

Die Beobachtung der Rhodes-Gruppe legt nahe, dass in erster Linie die Nukleosomen den Durchmesser der Fasern festlegen und nicht die DNS-Linker. Damit sind alle Modelle in der Literatur, die wie das Crossed-Linker-Modell ungebogene Linker postulieren, aus dem Spiel. Zusammen mit Martin Depken (jetzt an der Freien Universität in Amsterdam) haben wir untersucht, was Durchmesser von 33 und 44 nm auszeichnen könnte [9]. Wir postulieren, dass Nukleosomen in den Rhodes-Fasern so dicht wie möglich gepackt sind. Wenn Sie sich die Seitenansicht des Nukleosomkerns genauer anschauen (Abb. 1 rechts), können Sie sehen, dass die Ober- und Unterseite (der linke und rechte Rand) dieses zylindrischen Teilchens nicht genau parallel zueinander sind: Der Nukleosomkern ist unten dicker als oben. Das verursacht einen Spreizwinkel

von 8° beim Stapeln solcher Teilchen. Sie können nun Nukleosomen dicht packen, indem Sie mehrere solcher gebogenen Stapel umeinander verdrillen. Dann ergibt sich eine endliche Anzahl von möglichen Geometrien, darunter eine Faser aus fünf Stapeln mit 33 nm Durchmesser und eine aus sieben Stapeln mit 44 nm Durchmesser (Abb. 6c). Derzeit arbeiten wir an einer Erweiterung des Modells, welche die Energie der DNS-Linker berücksichtigt und den Übergang von 33 zu 44 nm Durchmesser erklären kann.

Auch wenn es unwahrscheinlich ist – nehmen wir mal an, wir verstünden endlich die Struktur der Chromatinfaser. Was lernen wir über deren biologischen Funktion? Hier kommt die nächste Überraschung – die Hinweise für Fasern in lebenden Zellen sind dünn gesät. Je genauer man hinschaut, desto mehr scheint es so, als treten Fasern nur im Reagenzglas auf. So wurden kürzlich Zellen extrem schnell abgekühlt und dann dünne Schnitte unter dem Elektronenmikroskop untersucht. Im Zellkern fanden sich dabei nicht die geringsten Spuren von Fasern, sondern lediglich eine scheinbar unstrukturierte Suppe von Nukleosomen [10]. Die in-vitro-Bedingungen (z. B. die Konzentration der Nukleosomen) sind sehr verschieden von denen innerhalb des Zellkerns. Durch die Abwesenheit von Konkurrenten können sich dann benachbarte Nukleosomen entlang der DNS aufeinander stapeln und gemäß unserem Modell eine dichte Packung in einer 33 nm dicken Faser erreichen. Ob sich in der Zukunft doch noch Chromatinfasern in lebenden Zellen finden lassen oder ob sie irgendwann aus den Lehrbüchern verschwinden, bleibt eine spannende Frage.

Das Chromosom – ein raumfüllendes Fraktal?

Spätestens jetzt dürften Sie mir glauben, dass wir noch nicht viel über die räumliche Organisation jenseits des Nukleosoms wissen. Doch gerade jetzt werden auf großen Längenskalen erhebliche Fortschritte erzielt.

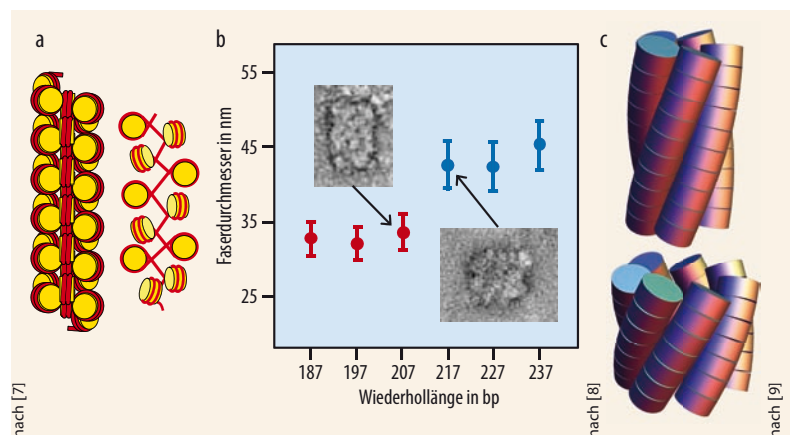


Abb. 6 Je nach Auflage zeigt das Standardlehrbuch das Solenoid-Modell (1994, links) oder das Crossed-Linker-Modell (2002, rechts) für die Chromatinfasern (a). Mit dem Elektronenmikroskop lässt sich die Faserdicke als Funktion der Wieder-

derhollänge in Einheiten von Basenpaaren (bp) bestimmen (b). Wenn man Nukleosomen dicht packt, erhält man u. a. Fasern aus fünf (oben) bzw. sieben Nukleosomstapeln (unten) mit 33 bzw. 44 nm Durchmesser (c).

Es geht hier vor allem um Chromosomen während der Interphase, jener Phase im Zellzyklus, in der die Zelle durch die Produktion von Proteinen wächst. Chromosomen sind dann weniger dicht als im mitotischen Zustand (Abb. 2a) und füllen den Zellkern nahezu vollständig aus. Interessanterweise vermischen sich die Chromosomen aber nicht miteinander, was sich beispielsweise mit Hilfe von Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) nachweisen lässt. Dabei fixiert man die Zelle, erhitzt sie und dockt dann Farbstoffe an die gewünschten DNS-Sequenzen an. Auf diese Weise kann man ganze Chromosomen einfärben und sehen, dass die einzelnen Exemplare räumlich deutlich voneinander getrennt sind [11]. Stattdessen lassen sich auch nur zwei kurze Stücke eines Chromosoms mit unterschiedlichen Farben markieren, um deren räumlichen Abstand als Funktion des Abstands entlang der DNS zu messen [12].

Gleichgewichts-Polymermodelle dienen seit über einem Jahrzehnt zur Interpretation dieser Experimente. Sie können aber nicht erklären, warum die Chromosomen sich nicht vermischen, d. h., warum sie nicht räumlich überlappen. Die chemischen Unterschiede innerhalb eines Chromosoms sind nämlich vergleichbar mit denen zwischen verschiedenen Exemplaren. Rosa und Everaers haben jedoch darauf hingewiesen, dass menschliche DNS-Moleküle so lang sind, dass man 500 Jahre warten müsste, bevor sie sich vermischen [13]. Wenn also die Chromosomen im Ungleichgewicht sind, was ist dann deren Konfiguration?

Gehen wir wieder zu der Bibliotheksanalogie zurück. Wie weiter oben schon erwähnt: Wäre der Text als eine lange Papierschlange in die Bibliothek gestopft, dann käme man aufgrund topologischer Verfilzungen praktisch nie an die gewünschte Textstelle heran. Das sollte genau so auf Chromosomen zutreffen. In der Tat haben Grosberg, Rabin, Havlin und Neer schon 1993 in einer bahnbrechenden theoretischen Arbeit auf dieses Problem hingewiesen und vorgeschlagen, dass DNS in Form einer fraktalen Globule organisiert sein muss [14]. Diese Struktur entsteht beispielsweise, wenn ein gequollenes Polymerknäuel nach einem Temperatursprung kollabiert. Der Kollaps erfolgt hierarchisch, da erst kürzere Segmente zusammenbrechen, die dann mit anderen zu größeren Bereichen verschmelzen, die sich wiederum aneinander lagern. Die resultierende Konformation bildet ein raumfüllendes Fraktal, eine selbstähnliche Struktur, die auf allen Längenskalen in der gleichen Art und Weise gefaltet ist. Mathematiker kennen so etwas beispielsweise als so genannte Peano-Kurve. Erst danach setzt ein viel langsamerer Prozess ein, der schließlich zur Gleichgewichtsstruktur des Polymers führt. Die Autoren argumentierten, DNS müsse die Struktur einer fraktalen Globule haben, damit topologische Verschlaufungen minimal sind und DNS-Bereiche sich leicht öffnen können.

Die Gruppe um Job Dekker hat nun experimentell nachgewiesen, dass Chromosomen tatsächlich solch eine Struktur haben könnten [15]. Diese äußerst wichtige Arbeit basiert auf einem neuen mehrschrittigen

Verfahren, bei dem man die DNS einer fixierten Zelle zerschneidet und danach wieder neu zusammenklebt. Auf diese Weise zeigt sich, welche DNS-Stücke ursprünglich räumlich benachbart waren. Die Kontaktwahrscheinlichkeit P der DNS als Funktion des Abstandes s zeigt in einem Bereich von 500 kbp bis zu 7 Mbp eine Abhängigkeit der Form $P \propto s^{-1}$, welche auf ein fraktales Globul hinweist, da hier das Volumen wie s^1 skaliert. Zum Vergleich: Für eine Globule im Gleichgewicht erwartet man $P \propto s^{-3/2}$, da hier aufgrund der Abschirmung des ausgeschlossenen Volumens die Kette der Gauß-Statistik gehorcht.

Chromatinforschung steckt immer noch in den Kinderschuhen, aber ich hoffe, ich konnte deutlich machen, dass sich heutzutage Fortschritte im Verständnis dieses Systems oft nur mit Hilfe von quantitativen Methoden erzielen lassen, welche die experimentelle und theoretische Physik bereitstellt. Ich erwarte, dass während des kommenden Jahrzehnts Durchbrüche auf allen Längenskalen erzielt werden, sodass sich unser naives 30 Jahre altes Chromatinbild radikal verändert.

Literatur

- [1] K. Luger, A. W. Mäder, R. K. Richmond, D. F. Sargent und T. J. Richmond, *Nature* **389**, 351 (1997)
- [2] K. J. Polach und J. Widom, *J. Mol. Biol.* **254**, 130 (1995)
- [3] W. J. A. Koopmans, R. Buning, T. Schmidt und J. van Noort, *Bio-phys. J.* **97**, 195 (2009)
- [4] B. D. Brower-Toland, C. L. Smith, R. C. Yeh, J. T. Lis, C. L. Peterson und M. D. Wang, *PNAS* **99**, 1960 (2002)
- [5] I. M. Kulić und H. Schiessel, *Phys. Rev. Lett.* **92**, 228101 (2004)
- [6] F. Mühlbacher, C. Holm und H. Schiessel, *Europhys. Lett.* **73**, 135 (2006)
- [7] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts und P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, 5. Auflage, Garland, New York (2008)
- [8] P. J. J. Robinson, L. Fairall, V. A. T. Huynh und D. Rhodes, *PNAS* **103**, 6506 (2006)
- [9] D. Depken und H. Schiessel, 2009, *Biophys. J.* **96**, 777 (2009)
- [10] M. Eltsov, K. M. MacLellan, K. Maeshima, A. S. Frangakis und J. Dubochet, *PNAS* **105**, 19732 (2008)
- [11] A. Bolzer et al., *Plos Biol* **3**, e157 (2005)
- [12] J. Mateos-Langerak et al., *PNAS* **106**, 3812 (2009)
- [13] A. Rosa und R. Everaers, *PLoS Comp. Biol.* **4**, e1000153 (2008)
- [14] A. Grosberg, Y. Rabin, S. Havlin und A. Neer, *Europhys. Lett.* **23**, 373 (1993)
- [15] E. Lieberman-Aiden et al., *Science* **326**, 289 (2009)

DER AUTOR

Helmut Schiessel (FV Biologische Physik) interessiert sich seit seiner Promotion in Theoretischer Physik an der Universität Freiburg für die Theorie weicher Materie und seit seinen Forschungsaufenthalten an der UC Santa Barbara und UC Los Angeles für die Theorie biologischer Systeme. Nach seiner Rückkehr nach Deutschland im Jahr 2000 war er Projektleiter am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz und habilitierte sich 2004 an der Universität Konstanz. 2005 erhielt er einen Ruf an das Instituut Lorentz an der Universität Leiden in den Niederlanden, wo er seither einen Lehrstuhl für die Physik der Lebensprozesse innehat.

