

Chromatin und epigenetische Regulation während der neuronalen Migration

Zusammenfassung:

Die Entwicklung des Cortex ist primär abhängig von Koordination der molekularen Abläufe während der Neurogenese und der neuronalen Migration. Es ist bekannt, dass die Störung des Prozesses während der neuronalen Migration von Neuronen zu schwerwiegenden Fehlentwicklungen des Gehirns führen kann. Der den Säugetieren eigene BAF (mSWI/SNF)- Chromatinkomplex spielt bei dem Prozess der Hirnentwicklung eine maßgebliche Rolle, jedoch fehlen detaillierte Ergebnisse zur Gesamtheit seines Einflusses auf die cortikale Entwicklung und deren Funktionalität. Die Verwendung von konditionellen BAF-knock-out (KO) Maus-Modellen erzeugen unterschiedliche Phänotypen. Letztendlich sollen Untersuchung des BAF-Komplexes zur Genomik, Proteomik und genetischen Techniken, sowie verbesserte Darstellungsmöglichkeit bildgebender Verfahren die neuronale Migration besser abbilden. Das Ziel unserer Untersuchung ist das Zusammenspiel des BAF-Komplexes und seinen epigenetischen Einflüssen auf die Neurogenese klären zu können.

Projektbeschreibung

Der Prozess der korrekten neuronalen Migration von Projektionsneuronen aus der Intermediärzone in die kortikale Platte ist abhängig von der Transformation einer multipolaren- hinzu einer charakteristisch, bipolaren Nervenzelle (Fig.1). Diese Untersuchung soll zeigen welche regulierende Rolle der mSWI/SNF oder auch BAF (Brg/Brm-associated factors) chromatin remodeling Komplex bei der Migration von kortikalen Neuronen in den Neokortex spielt. Der BAF Komplex agiert als wichtiges Kontrollmedium für die vielfältigen Transskriptionsprogramme während der neuronalen Entwicklung. Vorausgegangene Studien konnten zeigen, dass insbesondere zwei Proteinuntereinheiten, BAF155 und BAF170, ausschlaggebend sind für die Stabilität des gesamten BAF-Komplexes.

Die konditionierte Entfernung (cKO) dieser Untereinheiten im Vorderhirn führt zum vollständigen Verlust des BAF-Komplexes bei gleichzeitiger Erhöhung der repressiven H3K27me_{2/3}-dimethylase auf dem Gen-Locus. Das Ziel dieser Studie ist die Klärung der Funktionalität des BAF-Komplexes und seiner Schlüsselfaktoren, die die neuronale Migration der Neurone während der Entwicklung des Vorderhirns steuern. Im Vordergrund dieser Untersuchung steht die Migration von Projektionsneuronen bei

Chromatin und epigenetische Regulation während der neuronalen Migration

BAF-Mutanten (Nex-Cre und hGFAP-Cre) und der daraus resultierende Phänotyp. Zur Charakterisierung des Phänotyps werden schichtenspezifische neuronale Marker und Gensonden eingesetzt. Aufgrund unserer vorherigen Ergebnissen von BAF-defizitären Mäusen erwarten wir morphologisch veränderte, und pathologische Befunde von migrierenden Projektionsneuronen. Diese könnten für die gestörte und unterbrochene Migration verantwortlich sein. Weiterhin helfen die Verfahren wie die in-utero-Elektroporation und verbesserte bildgebende Verfahren zu verschiedenen Zeitpunkten unsere Fragestellung zu klären. Um die Vorgänge der BAF-Komplex abhängigen Mechanismen der Migration von PN zeigen zu können, werden Gen-Expressionsmuster mittels der RNA-Sequenzierung von BAF155/170 dcKO_Nex-Cre Hirnmaterial erstellt. Auffällige Genkandidaten werden selektiert und für weitere Versuche zur Überexpression und/oder dem Ausfall des Gens (knockdown) und deren Abhängigkeit zum BAF-Komplex und deren Rolle bei der radialen Migration charakterisiert.

Die Ergebnisse aus früheren Untersuchungen zeigen, dass der BAF-Komplex die H3K27-Dimethylase für eine geordnete Genexpression benötigt. Weitere Untersuchungen zur Funktionalität und Abhängigkeit zwischen diesem Proteinkomplex und der H3K27-Dimethylase sind notwendig, um deren Rolle bei der neuronalen Migration klären zu können.

Die Ergebnisse aus dieser Untersuchung sind vielversprechend hinsichtlich eines detaillierten Verständnisses für epigenetisch bedingte molekulare Prozesse des Chromatin-remodeling-Komplex bei der kortikalen Entwicklung und für ein besseres Verständnis von neuronalen Fehlbildungen während dieser Zeit.

Chromatin und epigenetische Regulation während der neuronalen Migration

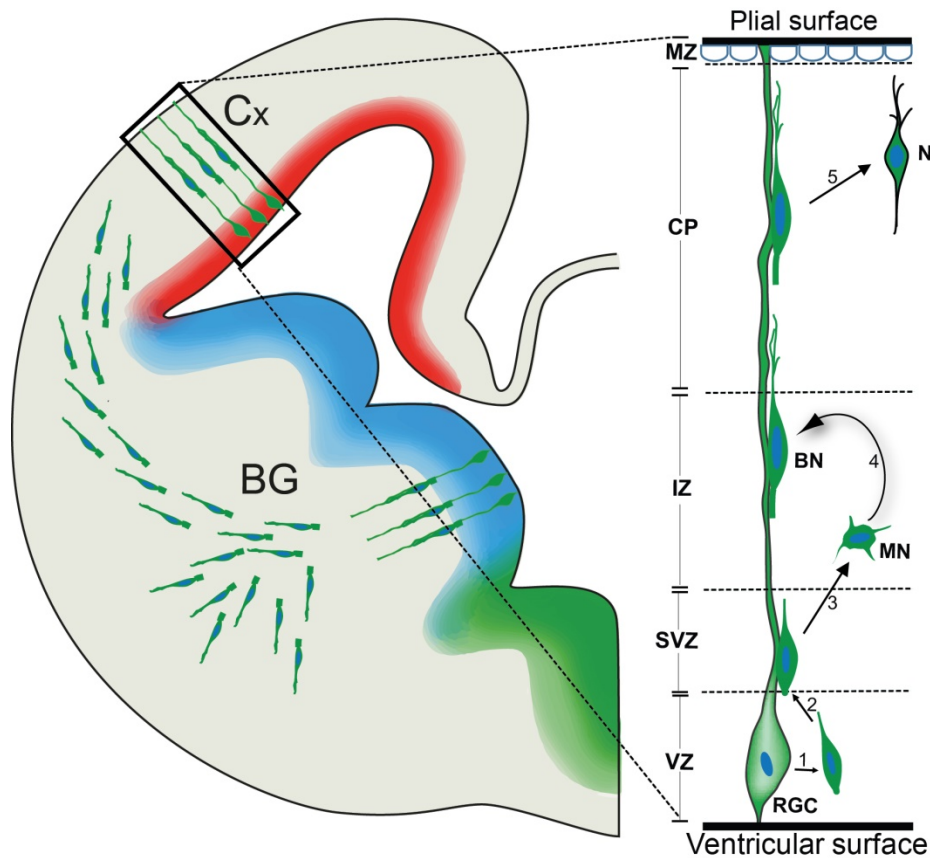


Abbildung: Schematische Darstellung der radialen neuronalen Migration in der Großhirnrinde. Das Hauptinteresse in dieser Untersuchung gilt der Passage eines neugebildeten Projektionsneurons in der Ventrikularzone (VZ) entlang seiner assoziierten Gliazelle auf Weg zur kortikalen Platte (CP, Schritt 1). Schritt 2 beschreibt die schnelle Überführung in die Subventrikularzone (SVZ). Am Übergang von der SVZ zur Intermediärzone (IZ) erfährt die Zelle eine morphologische Änderung- sie wird zu einem multipolaren Neuron (MNs) und löst sich von der Gliazelle. Weitere intra- und extrazelluläre Prozesse des MNs führen zu einer bipolaren (BN) Neuronenmorphologie. Der erneute Kontakt (Schritt 4) mit der assoziierten Gliazelle führt zu einer nach pial gerichteten Fortbewegung. Mit Hilfe des Migrationsprotein Reelin aus den Cajal Retzius-zellen (gelb) in der Marginalzone wird die radiale Migration durch die Positionierung (5) des Projektionsneurons (N) zum Abschluss geführt und das Neuron ist funktionsfähig.