
Regulation der Genexpression in Eukaryoten

Prof. Iris Augustin

Themen



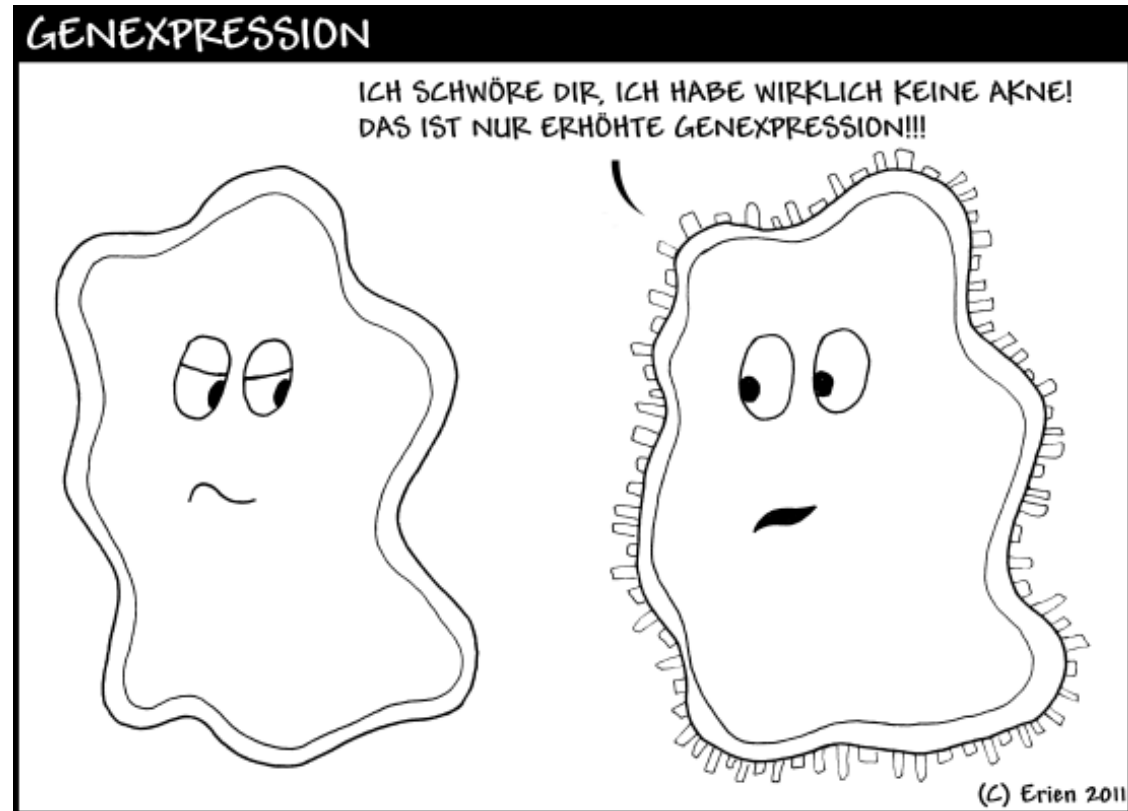
- RNA-Editing
- Stufen der Genregulation
- Epigenetische Veränderungen
- RNA Interferenz



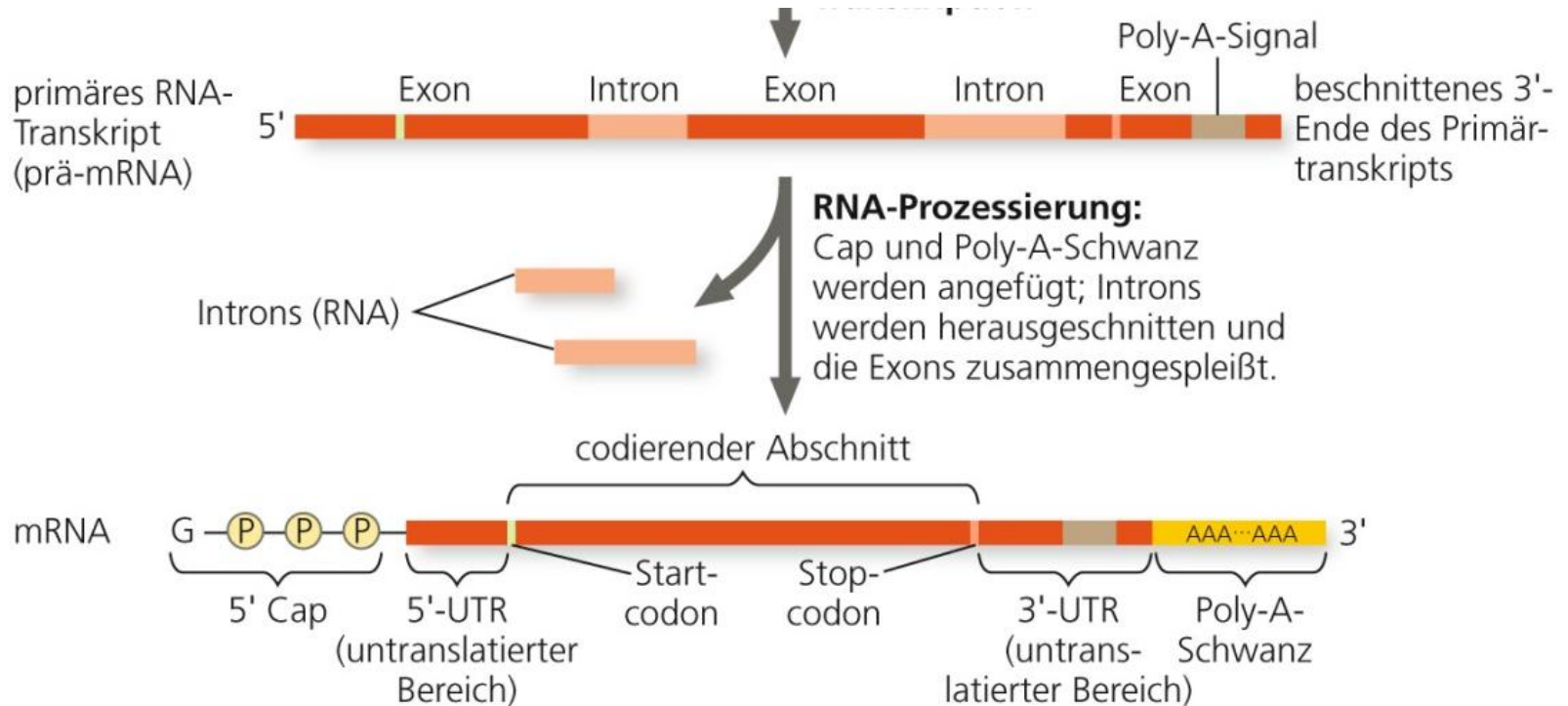
- Bedeutung des RNA-Editings erläutern können
- Stufen der Genregulation erklären können
- Konsequenzen der DNA- und Histonmodifikationen als Stufe der Genregulation erklären können (Epigenetik)
- Funktionsweise von mikro-RNAs / RNA-Interferenz erklären können

Welche Faktoren regulieren die Expressionsmuster verschiedener Gene?

- Warum werden bestimmte Gene nur von wenigen bestimmten Zellen exprimiert? Wie erfolgt die **örtliche Kontrolle** der Genexpression?
- Wie erfolgt die **zeitliche Kontrolle** der Genexpression?



Wiederholung: Prozessierung von mRNA in Eukaryoten



Prozessierung: prä-mRNA wird zu mRNA

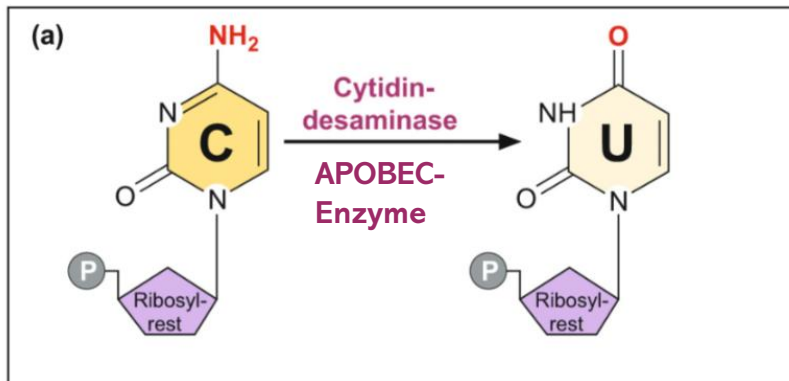
- Poly-A-Signal (3'Ende)
- 5'-Kappe
- Splicing

RNA Editing

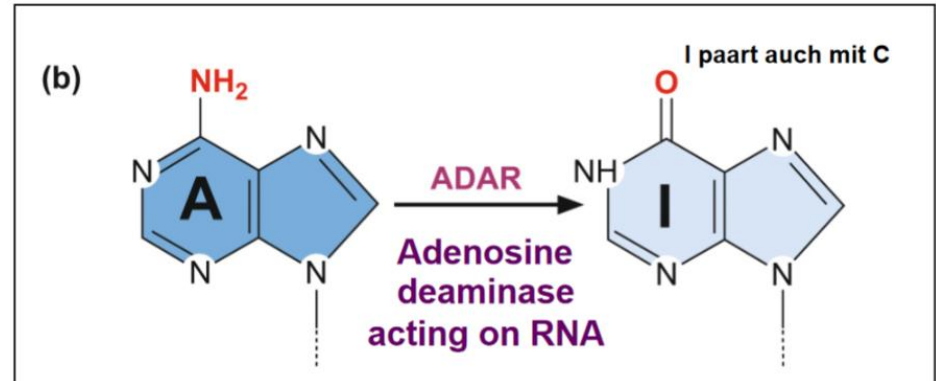
- Entdeckung 1986
- **Welche RNA?** betrifft alle RNA-Typen (mRNA, rRNA,...) in allen Spezies (Eukaryoten, Viren, Bakterien, ...)
- **Wann?** Findet nach 5' Capping, vor oder nach Splicing statt
=> im Zellkern, Cytoplasma, Mitochondrien & Plastiden
Kennzeichen: Modifikationen der RNA **nach** Transkription
- **Folge:** Nukleotide werden verändert, so dass die Aminosäuresequenz des Proteins nicht auf der Grundlage der DNA-Matrize vorhergesagt werden kann

Mechanismus des RNA-Editings in Säugerzellen

Ortsspezifische Deaminierung von Cytidin (C) und Adenosin (A)



Cytosin wird zu Uracil (U paart mit A)

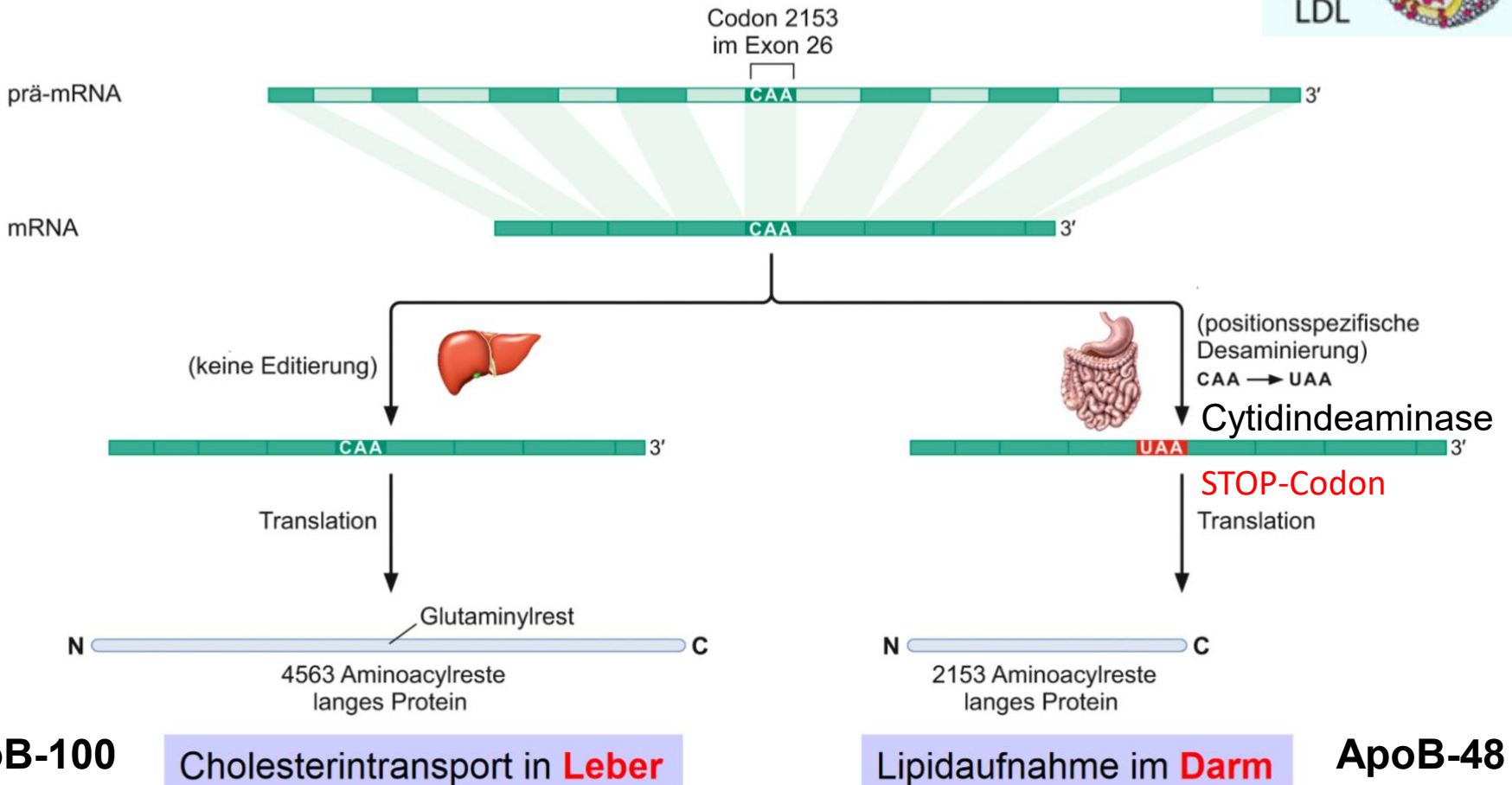
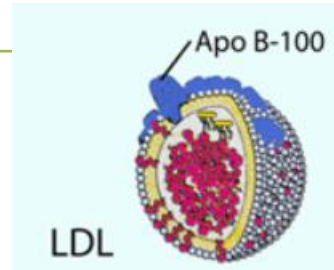


Adenosin wird zu Inosin (I paart am liebsten mit C)

ADAR-Enzyme erkennen **doppelsträngige RNA (dsRNA)**, die durch **Haarnadelstrukturen** oder RNA-RNA-Interaktionen entstehen.

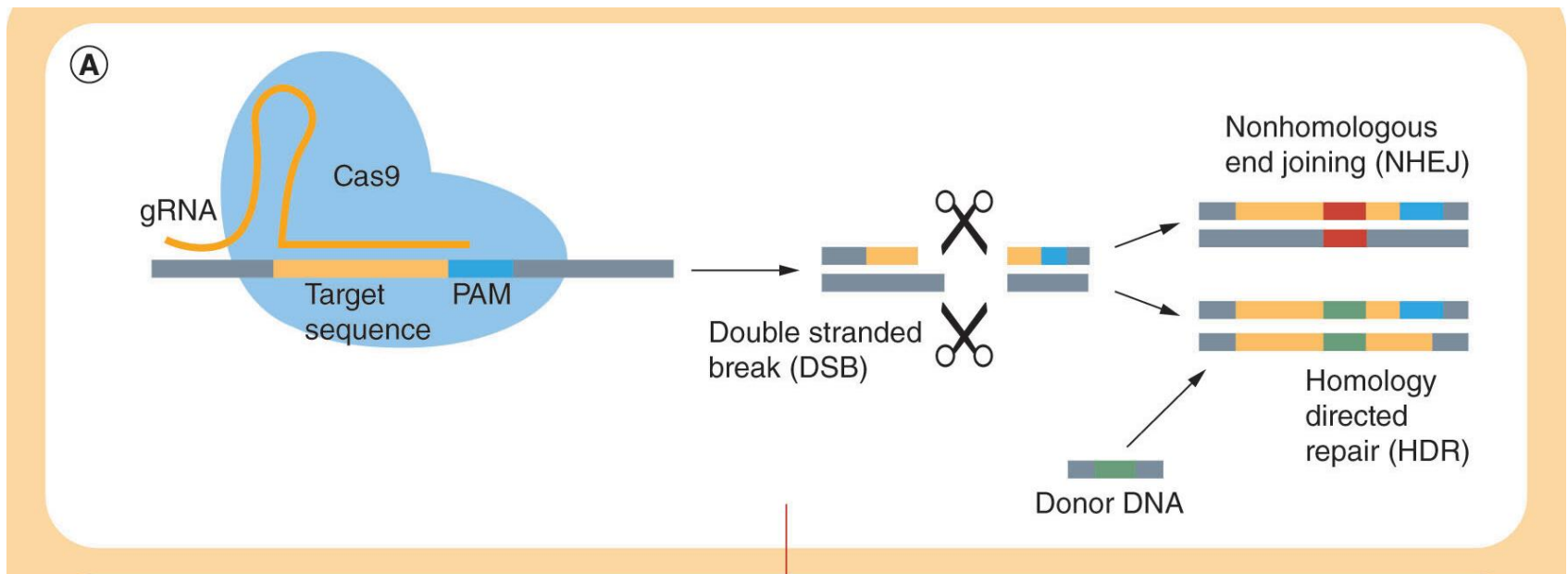
RNA Editierung vermittelt gewebespezifische Funktion

Beispiel aus Säugetieren: Apolipoprotein B (ApoB)
(Transport von Lipide und Cholesterin im Blut)



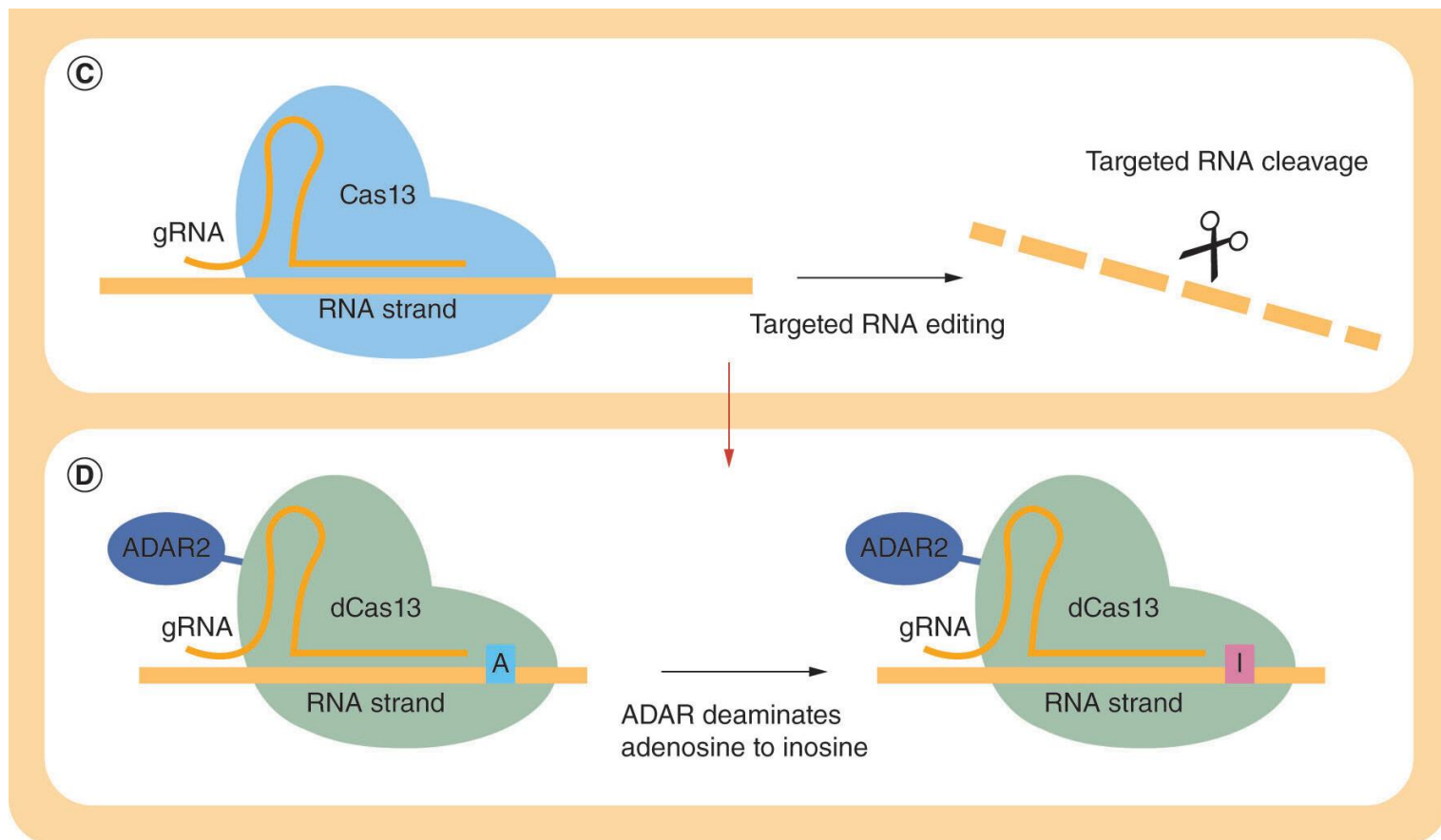
Exkurs: DNA Editing via CRISPR – Cas9

Genomeditierung mittels CRISPR-Cas9

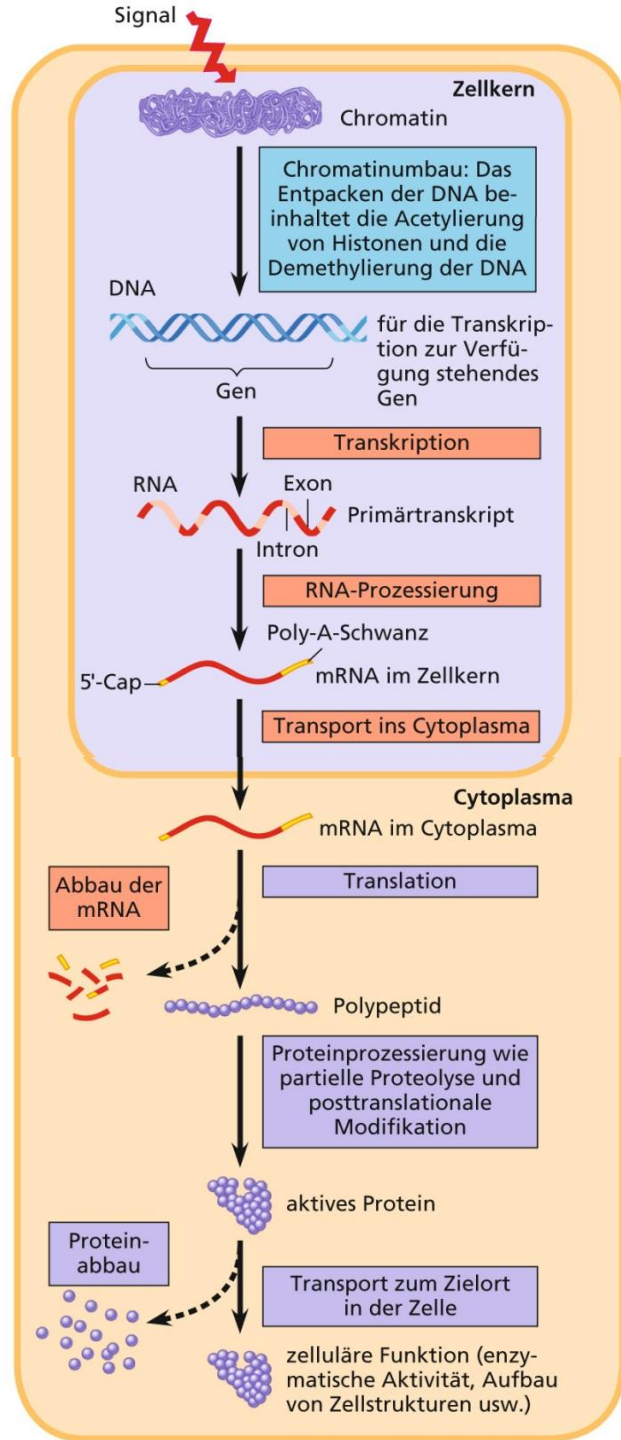


Exkurs: mRNA Editing via CRISPR – Cas13

- Cas13 schneidet RNA
- dCas13 (dead Cas13) schneidet nicht mehr RNA, aber rekrutiert Adenosin-Deaminase ortsspezifisch an die RNA



Stufen der Regulation der Genexpression bei Eukaryoten

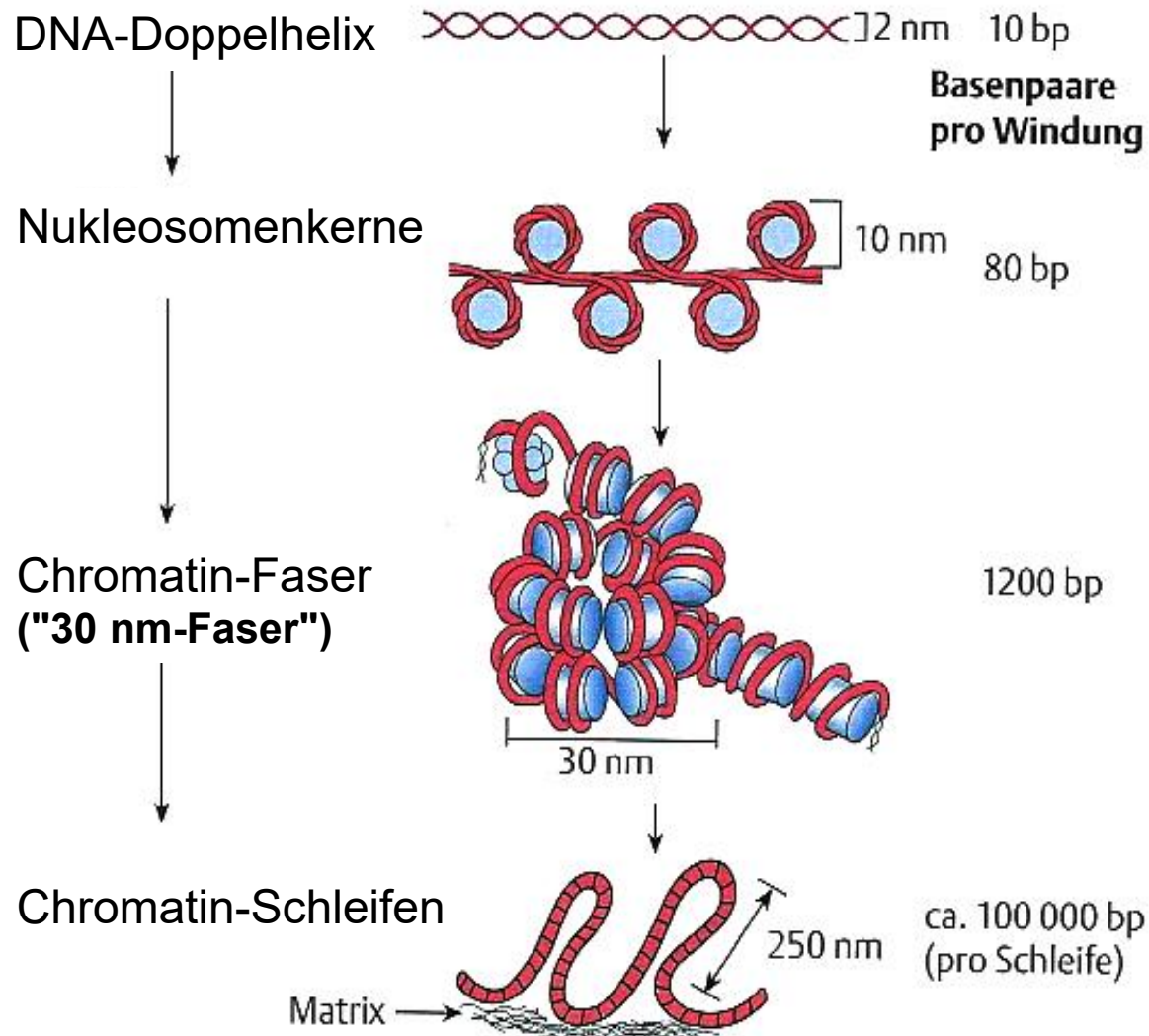


1. **Genom**
(Promotor, Enhancer, Silencer, **Epigenetik**)
2. **Transkription**
(Transkriptionsfaktoren)
3. **RNA-Prozessierung, Editierung & Kern-Export**
4. **mRNA Degradation**
5. **Translation**
6. **Posttranslation**

Regulation der Genexpression auf **Genomebene**

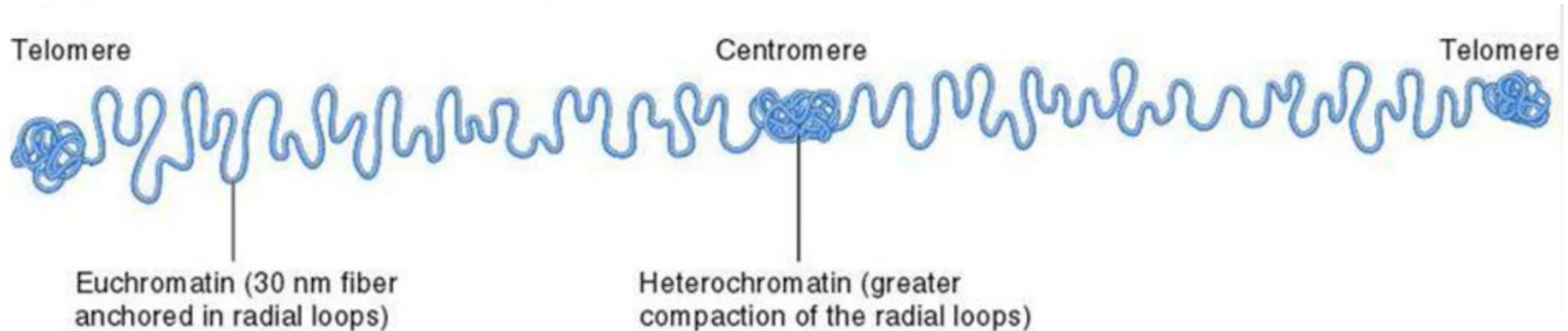
- Verpackung der DNA
- Zugänglichkeit der DNA

Kondensation von DNA

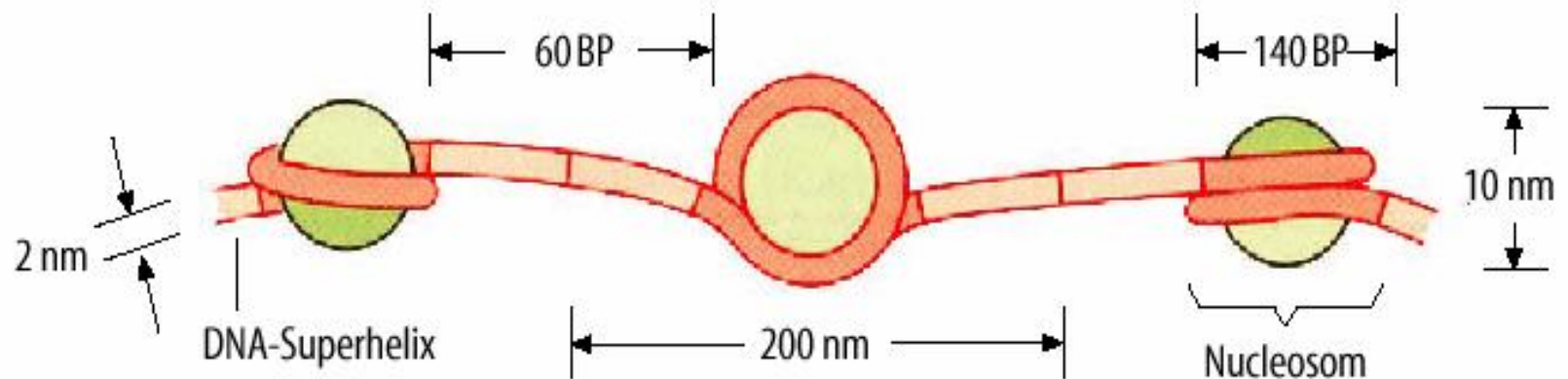


Heterogene Kondensation der Chromosomen

- **Euchromatin:** wenig kondensiert, transkriptional aktiv
- **Heterochromatin:** stark kondensiert, transkriptional inaktiv
 - konstitutiv (permanent inaktiv): Telomere, Zentromer
 - fakultativ (optional): Barr-Körperchen

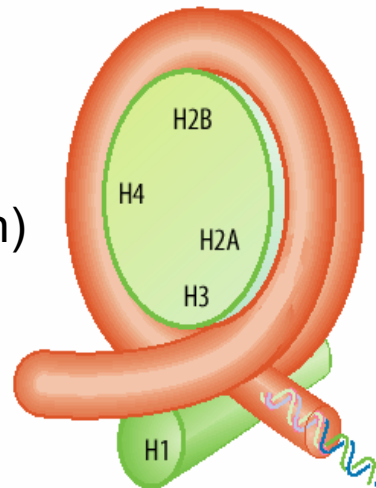


DNA-Histon-Komplex im Chromatin



Histone:

- kleine basische Proteine (pos. geladene Aminosäuren)
- bilden Histon-Oktamer

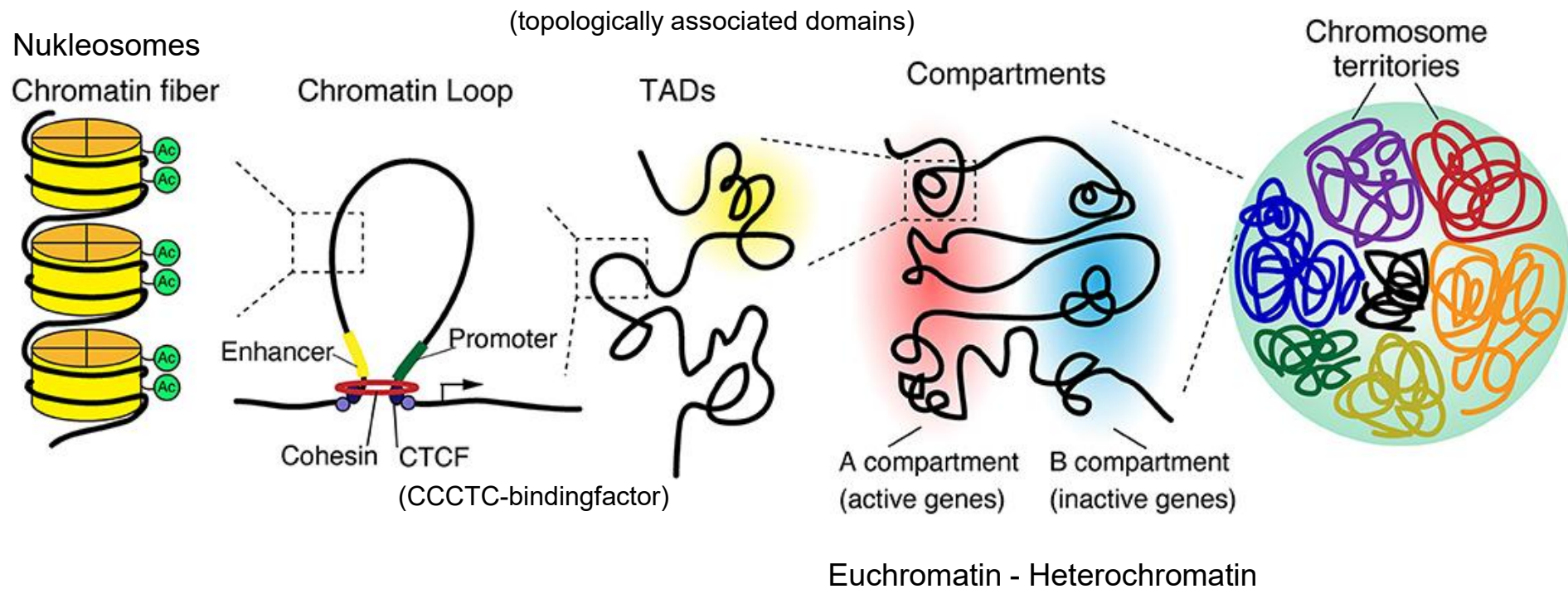


a

Nucleosome:

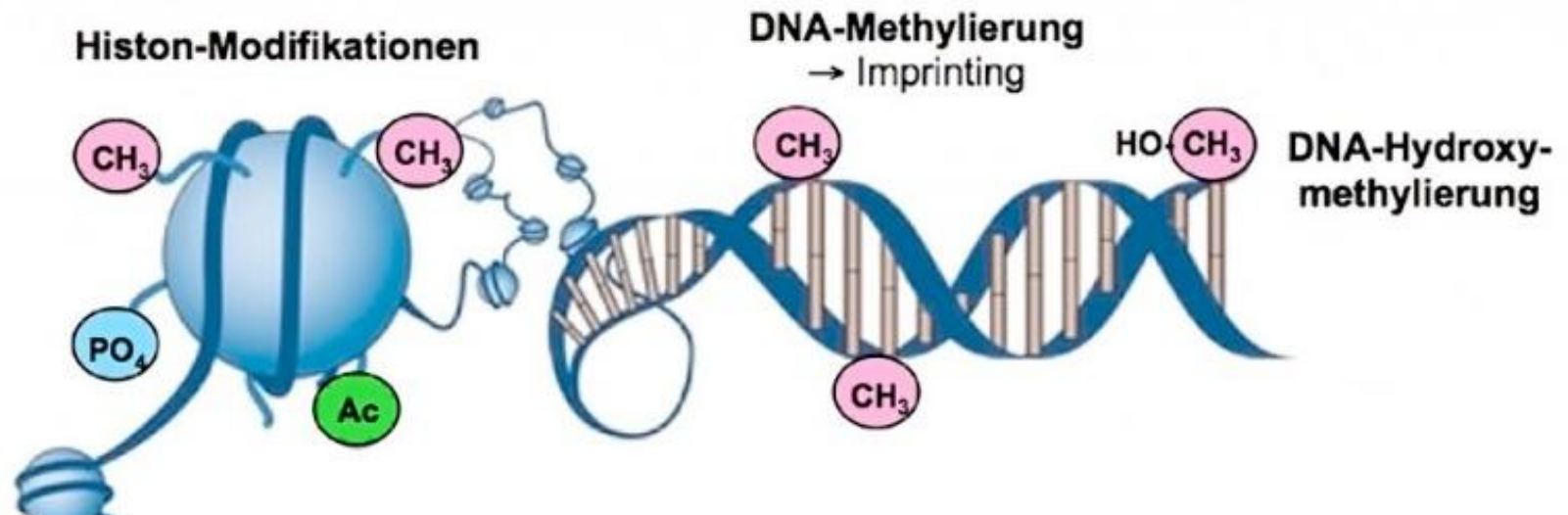
- Nucleosomenkern (je 2 x die Histonproteine **H2A**, **H2B**, **H3** und **H4**)
- Histonprotein **H1** liegt außerhalb und stabilisiert die Windungen.

Hierachische 3D-Organisation des Genoms im Interphase-Zellkern

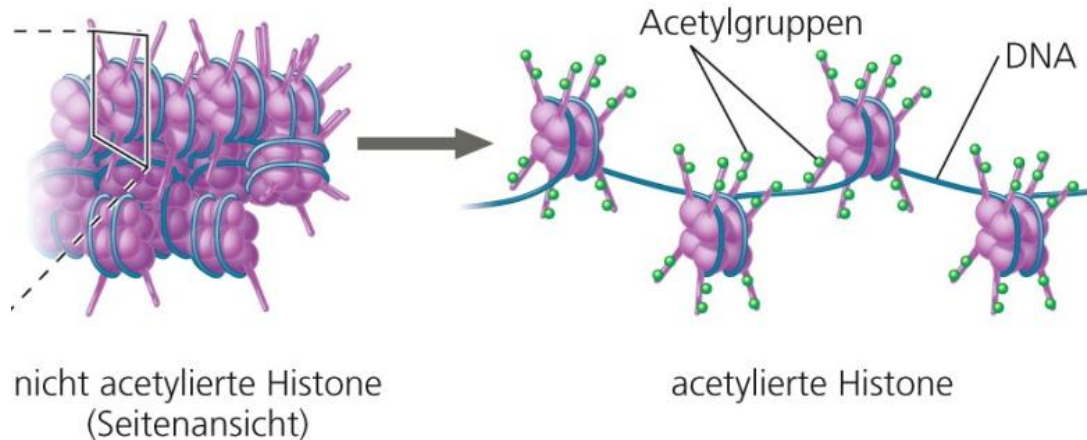
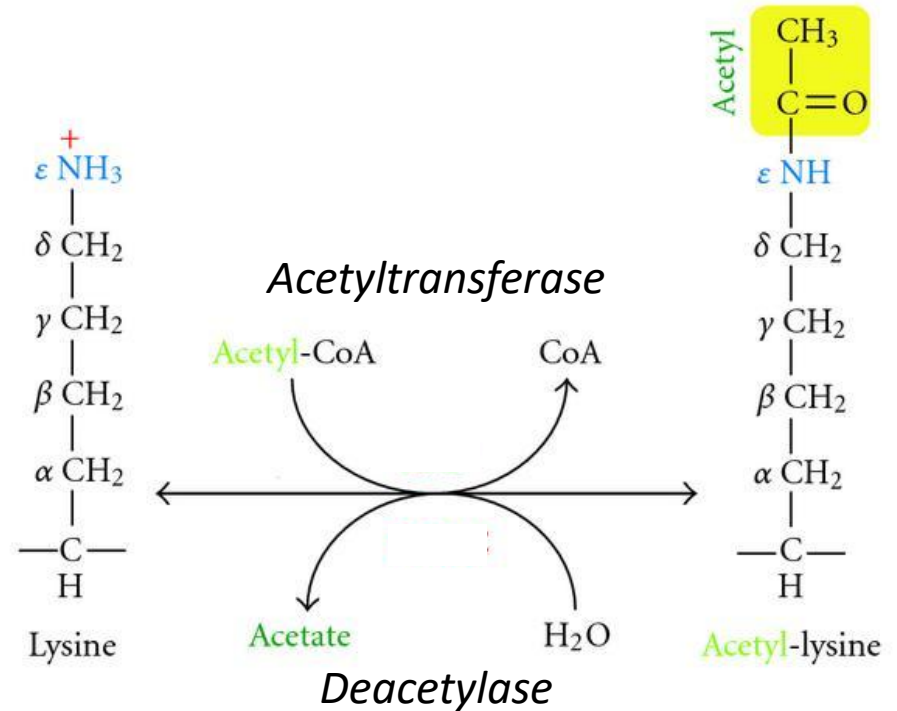
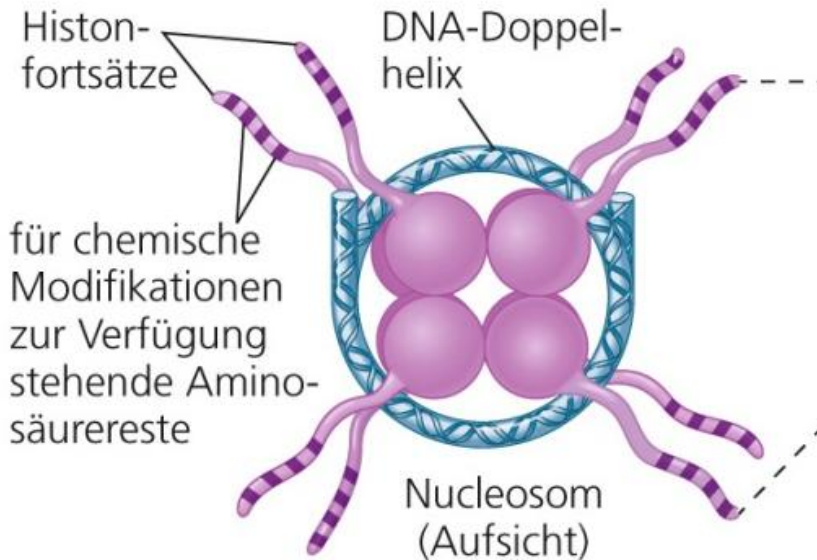


Regulation der Expression auf der Genomebene

- Eu- und Heterochromatin (Chromatin-Remodellierungsproteine)
 - **DNA- und Histonmodifikationen:**
 - jedes Histon kann mehrfach modifiziert sein, versch. Kombinationen sind möglich => „**Histon-Code**“
 - Modifikationen werden von „**Histon-Readern**“ erkannt
 - **DNA-Methylierung (CH_3)** und **DNA-Hydroxymethylierung ($-\text{CH}_2\text{OH}$)**



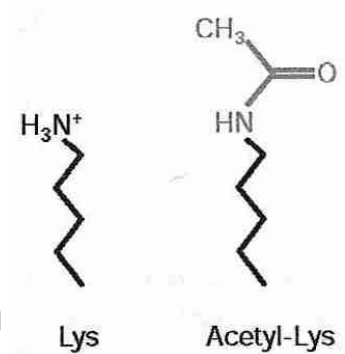
Histonmodifikation: Acetylierung



Histonmodifikationen

1. Histon-Acetylierung (-COCH₃): **Lysin**

- Neutralisierung der positiven Ladung des Lysins
- Verringerung der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen dem Lysin und den negativen Ladungen an der DNA
- Öffnung der Chromatin-Struktur
- Erleichterte Bindung von Transkriptionsfaktoren und Transkription



2. Histon-Phosphorylierung (-HPO₄):

an OH-Gruppe von **Serin, Threonin, Tyrosin**

- kann sowohl positiv als auch negativ mit Transkription korrelieren

3. Histon-Methylierung (-CH₃): **Lysin, Arginin**

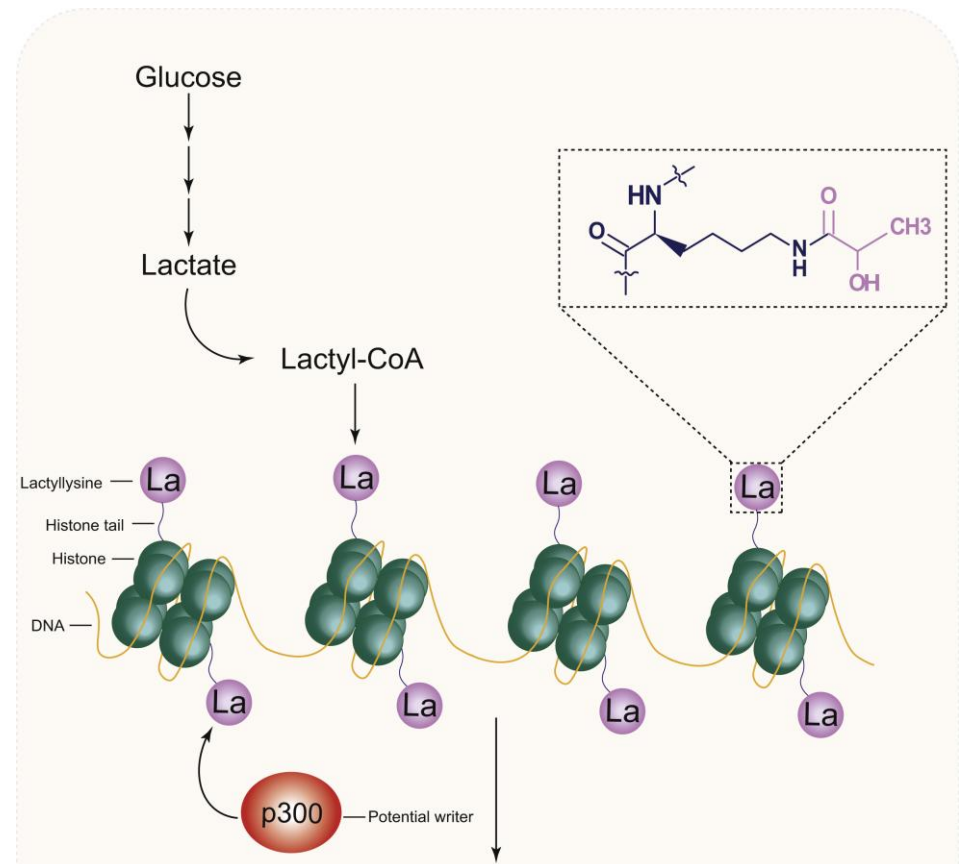
- kann sowohl positiv als auch negativ mit Transkription korrelieren, je nachdem, welches Lysin/Arginin man betrachtet

Neue Histonmodifikation

Laktylierung von Histonen als Reaktion der Zelle auf erhöhte Lactose Konzentrationen in der Zelle

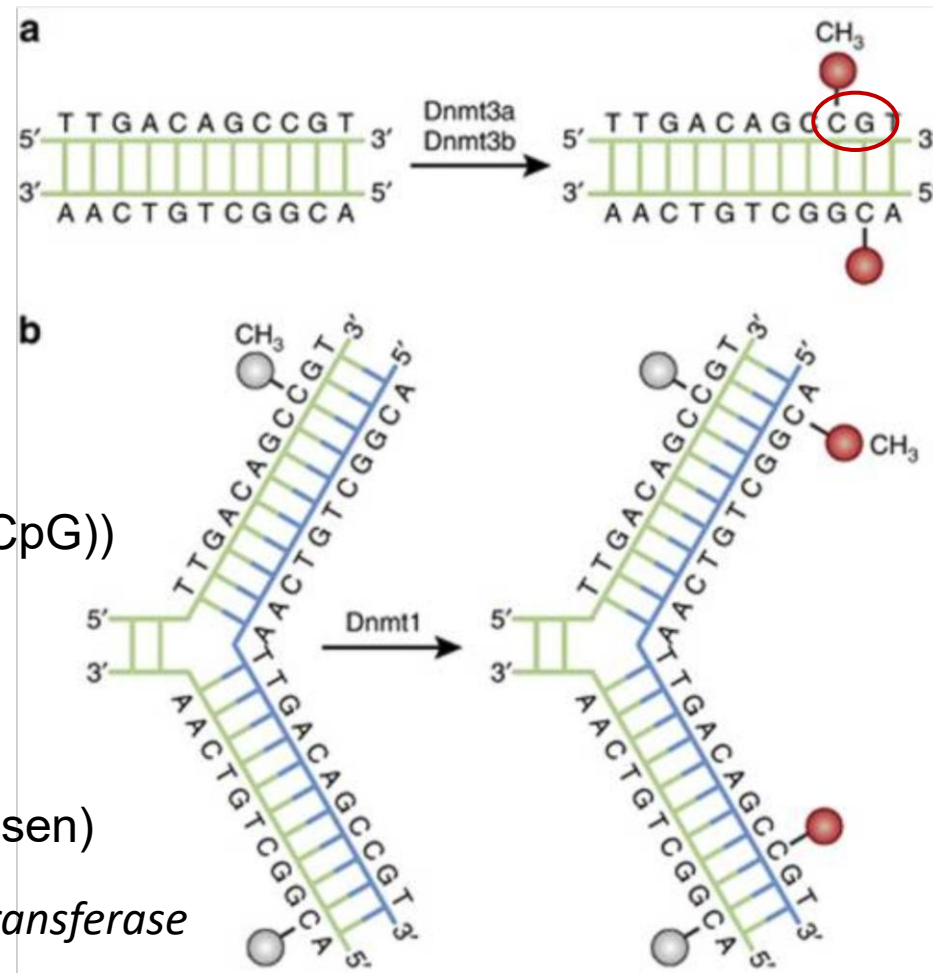
⇒ Verbindung von Zellstoffwechsel und Genregulation

Tumorzellen produzieren viel Lactat (Warburg Effekt)
=> Krebsbehandlung



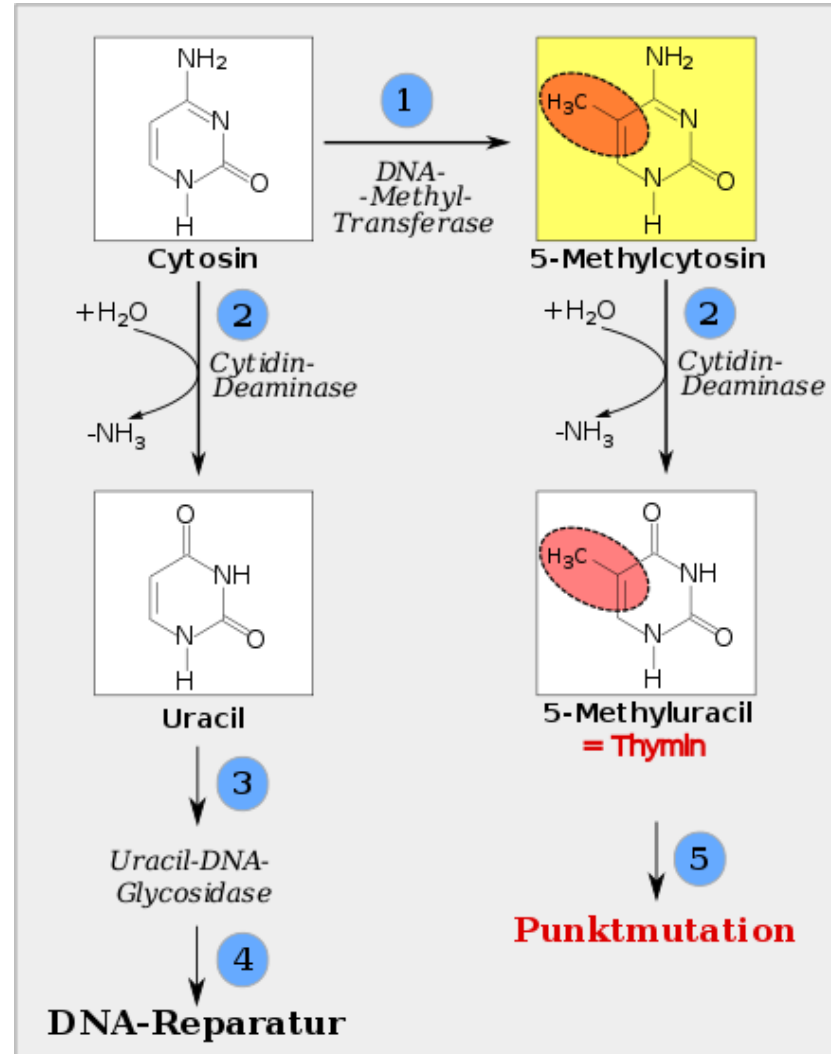
DNA-Methylierung (Säugetiere)

- **epigenetische Veränderung**, die dafür sorgt, dass bestimmte genetische Bereiche **stillgelegt** (oder seltener leichter transkribiert) werden können
- DNA-Grundgerüst bleibt erhalten
=> keine genetische Mutation, sondern **Modifikation !**
- **DNA-Methyltransferasen (DNMT)** übertagen Methylgruppen auf Nucleobasen
(Eukaryoten: **Cytidin**-Basen in Cytosin-Guanosin-Nucleotid-Dimeren (CpG))
- **reversible** kovalente Methylierung, die bei Mitose und (teilweise) Meiose weitervererbt werden (Methyl- und Demethyltransferasen)



Dnmt, DNA-Methyltransferase

Exkurs: Probleme durch die Desaminierung von Cytosin bzw. Methylcytosin auf der DNA



Basen-
Exzisionsreparatur

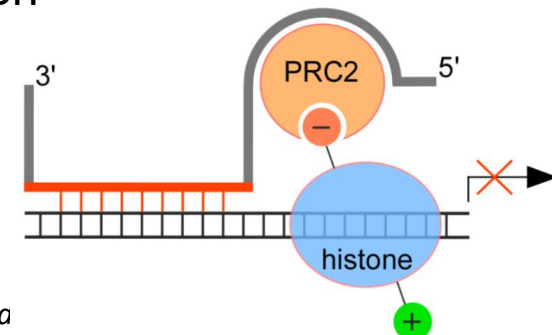
Regulation des Methylierungsmusters?

Dynamik des Methylierungsmusters:

- Einfluss von Entwicklungszustand, Umweltfaktoren (Ernährung), Krankheiten, psychische Verfassung, Vergangenheit
- Muster stellt das Gedächtnis der Zelle/Körpers dar

Woher wissen die DNA-Methyltransferasen, welche Gene methyliert werden?

1. Erkennen hemimethylierte CpG-Dinukleotide nach der DNA-Replikation
2. Interagieren mit Transkriptionsfaktoren und/oder Histonmodifizierern
3. interagieren mit lncRNAs wie pRNA (Promotor-assoziierte RNA
 - pRNA interagiert mit DNA (Dreifach-Helix bzw. R-Loop)
 - Methyltransferasen (PRC2) docken an und methylieren Histone oder DNA ortsspezifisch.



Epigenetische Veränderungen sind reversibel.

Exkurs: Inaktivierung des X-Chromosoms (Barrkörperchen) durch Xist

Xist, X-inactive specific transcript

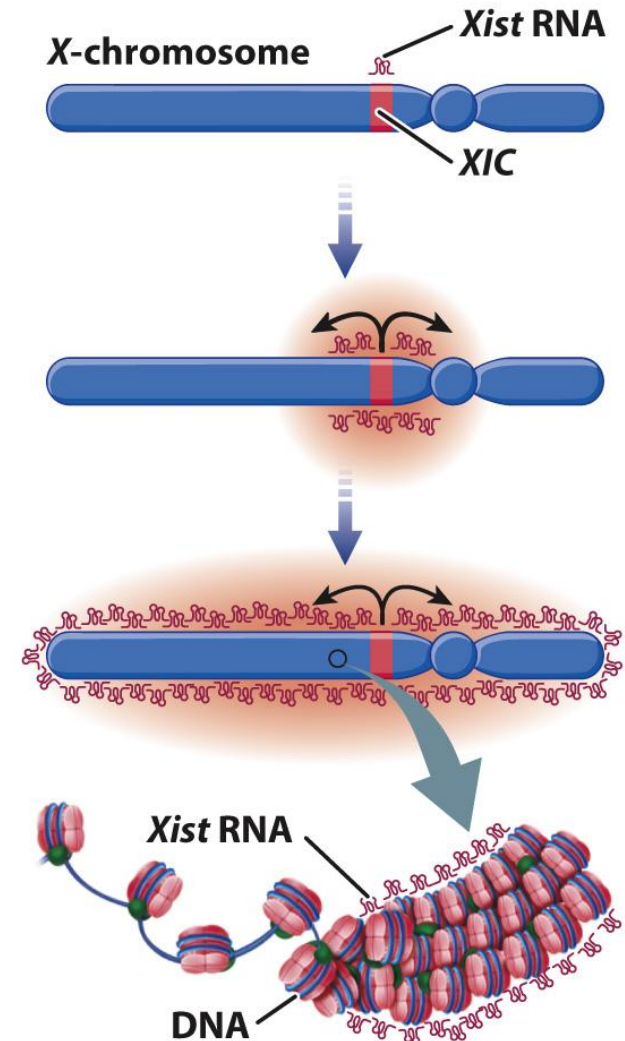
- lncRNA
- Gensequenz für Xist befindet sich auf jedem X-Chromosom (XIC Region = X-Chromosom inactivation center)
- Xist hat geringe Halbwertszeit, wird aber durch die Bindung an XIC stabilisiert => Inaktivierung schreitet voran
- Blockierungsmechanismen verhindern die Anlagerung von Xist auf dem activen X-Chromosom

The *Xist* gene is transcribed and spliced, and *Xist* noncoding RNA binds with the X-chromosome inactivation center (XIC).

Transcription of *Xist* continues, and the X chromosome becomes coated with *Xist* RNA.

Eventually the entire chromosome becomes coated with *Xist* RNA.

Presence of *Xist* RNA triggers DNA methylation and other changes associated with reduced transcriptional activity.



Epigenetik

Epigenetische Marker stecken nicht in den Buchstaben der DNA selbst, sondern auf ihr: Es sind chemische Anhängsel, die entlang des Doppel-Helix-Strangs oder auf dem "Verpackungsmaterial" der DNA verteilt sind. Sie wirken als Schalter, die Gene an- und ausknipsen.

Beispiel: Stressbelastung bei Ratten

- Rattenmütter umsorgen ihre Jungen
=> Tiere können im späteren Leben besser mit Stresssituationen umgehen
- Unterschiede in der DNA-Methylierung des Promotors des Glucocorticoid-Rezeptor-Gens im Hippocampus (wichtig bei Stressbewältigung), die bis ins Erwachsenenalter anhielten
- Pharmakologische De-Methylierung macht den Effekt rückgängig.

- Die ängstlichen Nachkommen der gestressten Ratten-Mutter werden im Mutterleib geprägt – die folgende Generation verhält sich wieder normal.



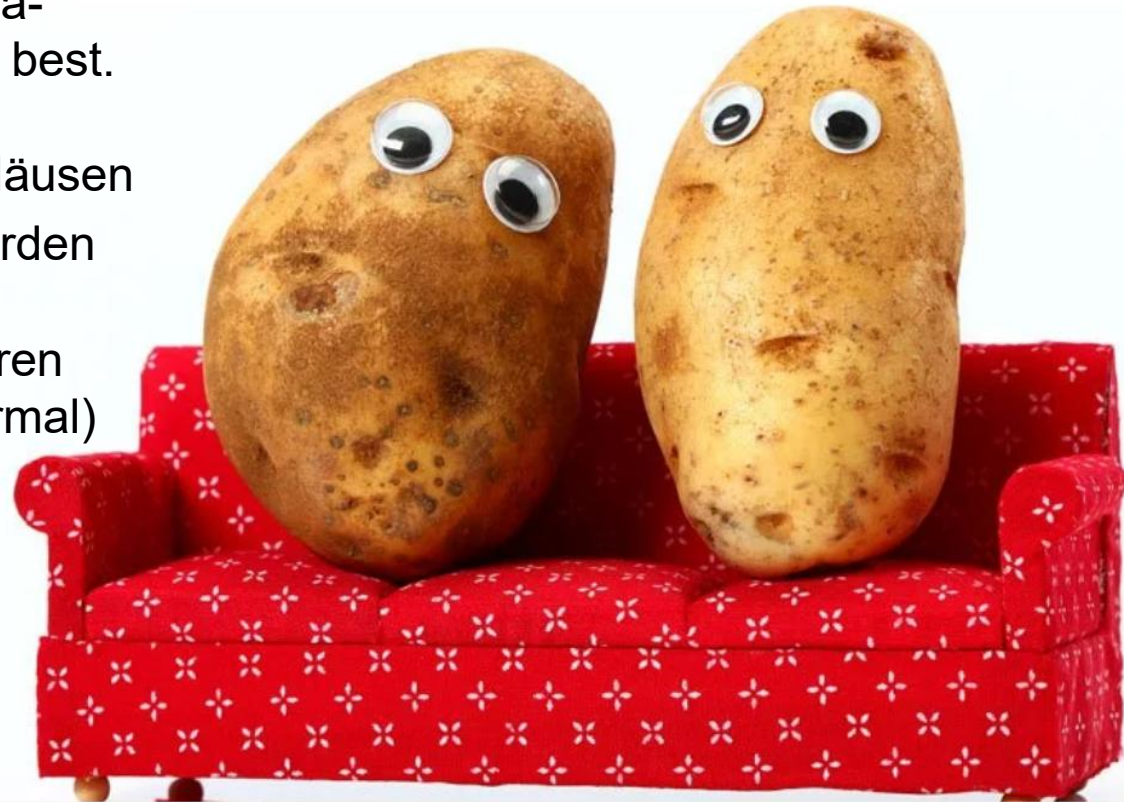
Beispiel: Kokainsucht bei Ratten



Was macht uns zur Couchpotato?

Epigenetische Veränderungen verwandeln Mäuse in Bewegungsmuffel

- Blockade der Dnmt3a-Methyltransferase in best. Neuronen des Hypothalamus bei Mäusen
- *Ergebnis:* Mäuse werden dicker, weil sie „bewegungsfaul“ waren (Futteraufnahme normal)



Weitere Beispiele

- Auch **eineiige Zwillinge** unterscheiden sich; ihr epigenetisches Muster unterscheidet sich mit zunehmendem Alter
 - Schizophrenie-Anfälligkeit
 - Diabetes-Anfälligkeit
- Grundlage für **X-Chromosom** Inaktivierung (inaktives X-Chromosom hat hohe DNA-Methylierung und Histondeacetylierung)
- **Nahrung bei Bienen:**
 - Fütterung mit Honig-Pollen-Brei => sterile Arbeiterin, da Gene für die Bienenentwicklung stumm gestaltet werden
 - Fütterung mit Gelée => Königin

Epigenetiker Thomas Jenuwein:

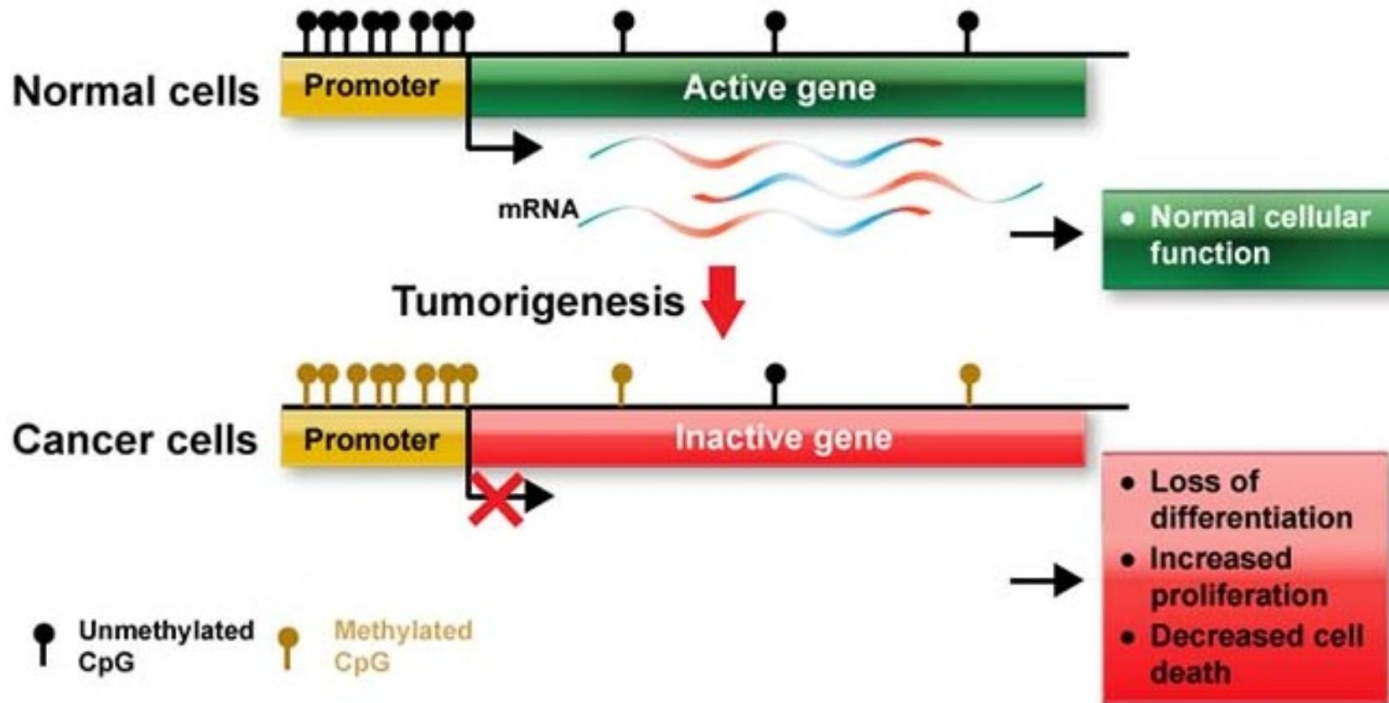
"Epigenetik stellt weiche Veränderungen dar, Veränderungen, die die Anpassungsfähigkeit in einem Leben ausmachen, die aber durchaus rückgängig gemacht werden können. Die Genetik hingegen sorgt für harte Veränderungen, denn DNS-Mutationen sind nicht reversibel. Damit treiben diese Mutationen aber eben die Evolution nach vorne.,,

"Die primäre Information, die einen Menschen ausmacht, ist zwar natürlich die Gen-Sequenz, sonst wären eineiige Zwillinge nicht genetisch identisch und sich äußerlich so ähnlich".

Doch epigenetische Veränderungen sorgen dafür, dass nur ein Zwilling anfälliger für beispielsweise Diabetes wird.

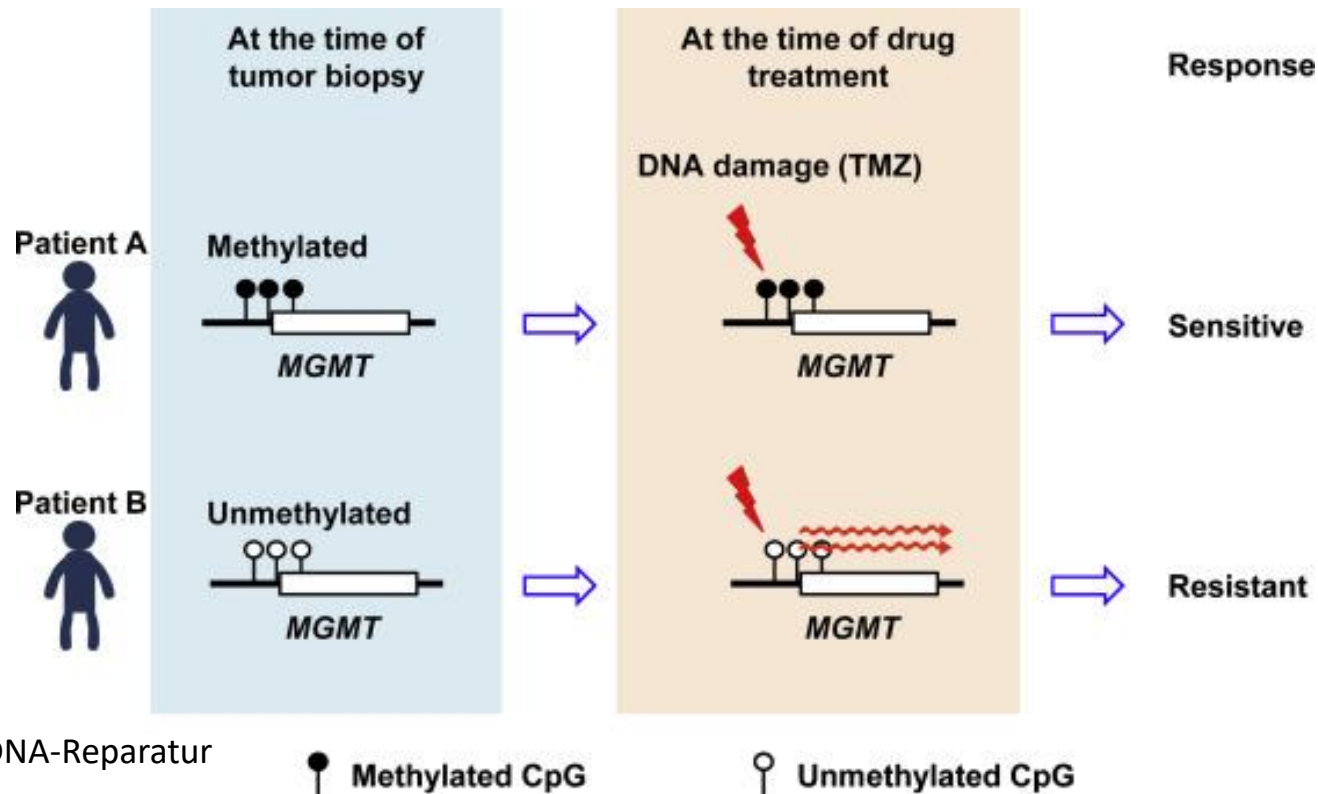
Exkurs: Epigenetik in der Tumordiagnostik und Therapie

- veränderter Methylierungszustand kann auf Krebsrisiko hinweisen
- Therapeutische Demethylierung (z.B. mit Azacitidin, Decitabin) zur Reprogrammierung des Epigenoms

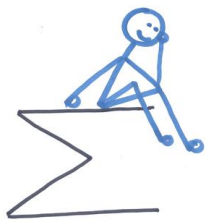


Exkurs: Epigenetik in der Tumordiagnostik und Therapie

- Methylierungszustand best. Gene können Hinweise auf Behandlungserfolge geben (reagiert der Patient auf das Medikament/Bestrahlung?)

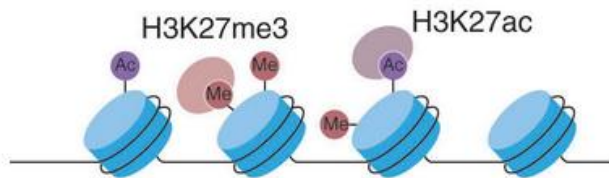


MGMT-Gen: DNA-Reparatur

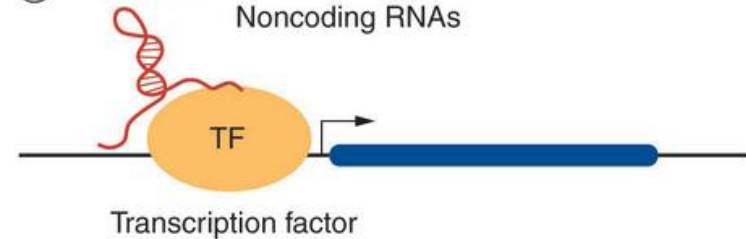


Molekulare Mechanismen, die das Epigenom modulieren

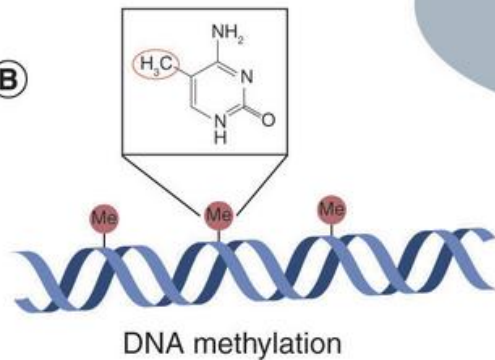
(A) Histone modifications



(C) IncRNA
Noncoding RNAs



(B)



The epigenomic landscape

(D)



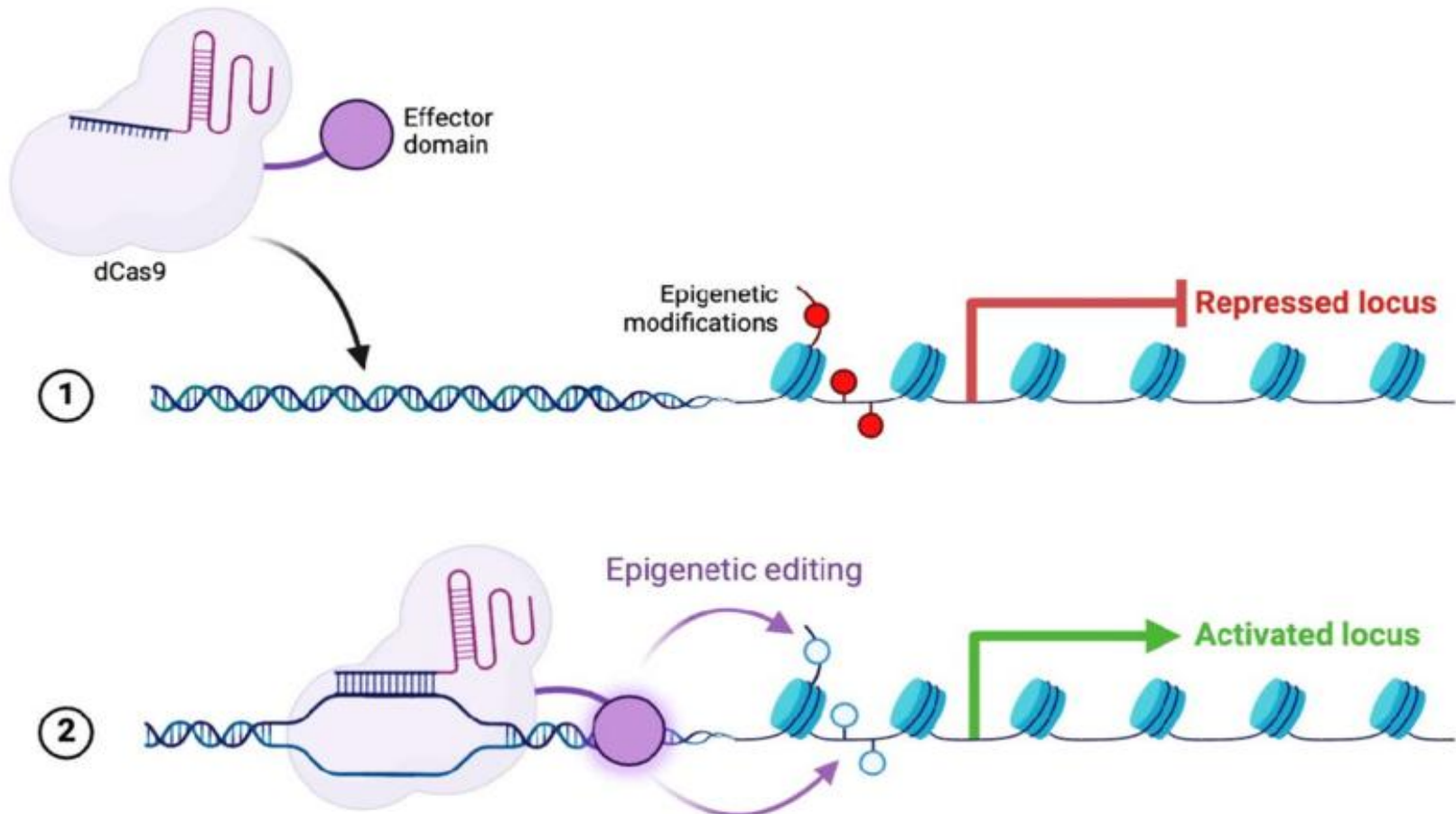
Nucleus

Genome 3D organization and interactions

The epigenome encompasses a variety of dynamic molecular processes crucial for cell function and development. (A) Nucleosomes, composed of DNA (black line) wrapped around histones (blue) are the basic units of chromatin packaging in eukaryotes. Histones tails can be modified by the covalent additions of chemical groups catalyzed by enzymes (colored circles), ultimately effecting chromatin accessibility. (B) Methyltransferases may add a methyl group to the C-5 position of cytosine, which may affect transcription status. (C) Noncoding RNA elements such as lncRNAs (red line) can modulate gene expression by binding TFs (yellow circle). (D) Chromatin is intricately folded into a 3D configuration in the nucleus, constituting chromatin domains and interactions of regulatory elements that affect gene expression.

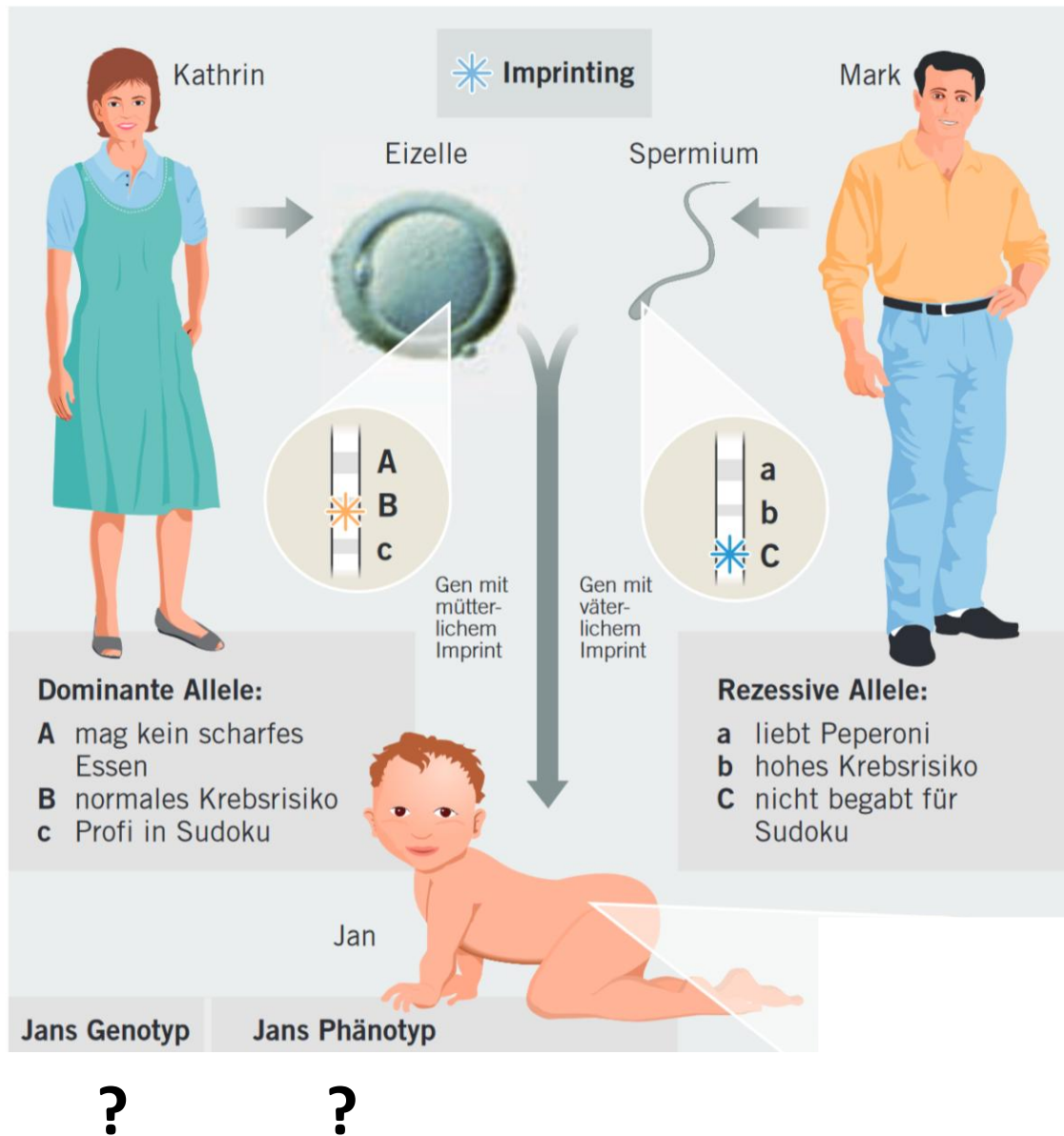
lncRNA: Long noncoding RNA; TF: Transcription factor.

Exkurs: Epigenome und DNA Editing via CRISPR – dCas9



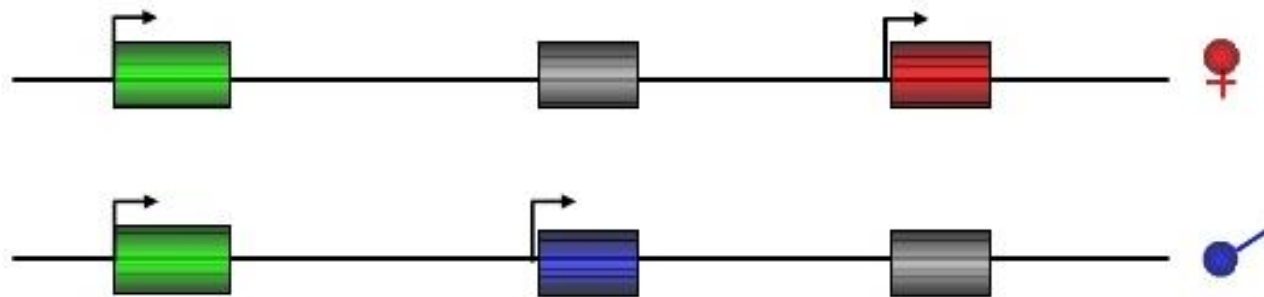
Anwendung in Drug Screening, Krebstherapie und regenerativer Medizin

Erfolgt eine Weitergabe der epigenetischen
Modifikationen der Eltern an die Kinder?

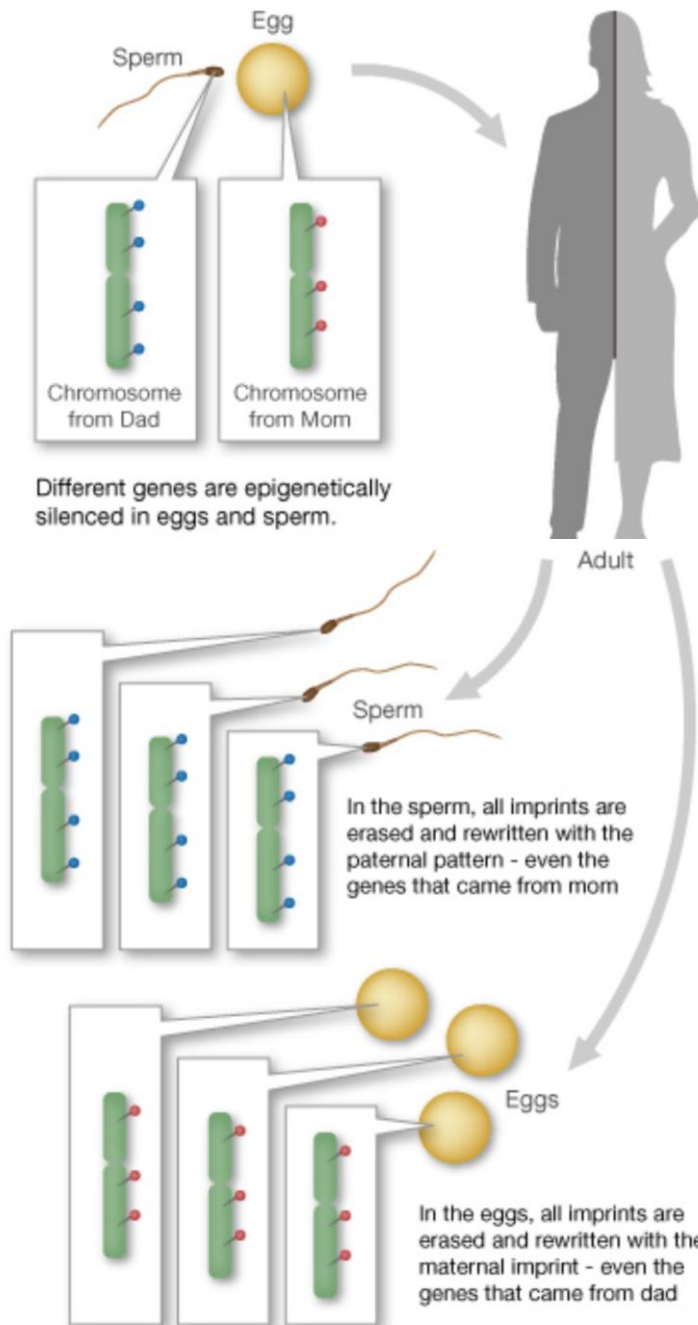


Genomische Prägung (*genomic imprinting*)

- **Methylierungsmuster** der DNA (und Histone) legen fest, ob mütterliches oder väterliches Allel ausgeprägt / abgelesen wird.
- Genomisch geprägte Gene sind meistens Wachstum- oder Stoffwechselfgene, die für die pränatale Entwicklung (Gehirn, Plazenta) wichtig sind. (erstes Gen 1990 entdeckt; bisher >100 Gene bekannt)
- Epigenetische Abschaltung führt zu einem **hemizygoten Phänotyp**
- Fehler bei der genomischen Prägung führt zu 2 aktiven bzw. inaktiven Allelen. → Pathologien wie Entwicklungsstörungen, neuronalen Störungen oder Tumore



Maternallele
Paternallele



- In der **Zygote** werden die meisten epigenetischen Modifikationen gelöscht, nur die „geprägten“ Gene (~1%) bleiben modifiziert.
(→ genomic imprinting)
- Das sich **entwickelnde Individuum** führt weitere zelltypspezifischen epigenetischen Modifikationen durch.
- Geschlechtsspezifisches epigenetisches „Reset“ während der **Gametogenese** (beide mütterlichen Allele werden bei der Oogenese maternal modifiziert; ähnliches bei Spermatogenese)

Annahmen nach Mendel:

- Beide Eltern liefern zu gleichen Teilen ihr Erbgut weiter
- Der Effekt eines Allels ist unabhängig davon, ob er von mütterlicher oder väterlicher Seite kommt.

ABER: Mendel Regeln gelten nicht für alle Säugergene!

Paternal / Maternal Imprinting (Allel vom Vater / Mutter ist inaktiv)

- ungleiche Expression von mütterlichem / väterlichem Allel
→ **hemizygote** Phänotypen

Beispiel: Prader-Willi-Syndrom & Angelman-Syndrom (Mensch)

Verlust eines DNA-Abschnitts bzw. Funktion auf Chromosom 15

(→ Individuum hemizygot für Genabschnitt)

=> unzureichende Gendosis und rezessive Gendefekte können einen Phänotyp auslösen

Prader-Willi-Syndrom: Gene des Vaters werden nicht abgelesen

Angelman-Syndrom: Gene der Mutter werden nicht abgelesen

Ursache der Syndrome meist Deletion des Chromosomenabschnitts;

ca. 1% der Patienten haben die Ursache im Genomic Imprinting

Beispiel: Augenfarbe von *Drosophila melanogaster*



Elternfliege:
weiße Augenfarbe
25°C



Embryo

kurzer Anstieg auf **37°C**

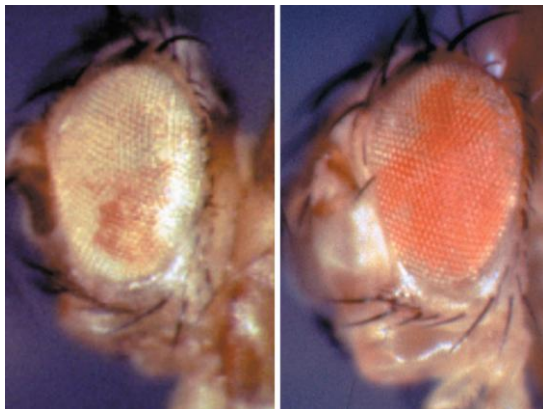


Nachkommen:
alle rote Augen

Kreuzung untereinander
(keine Wärmebehandlung)



Augenfarbe von genetisch
identischen Fliegen



Beispiel: Agouti-Fellfarbe bei Mäusen

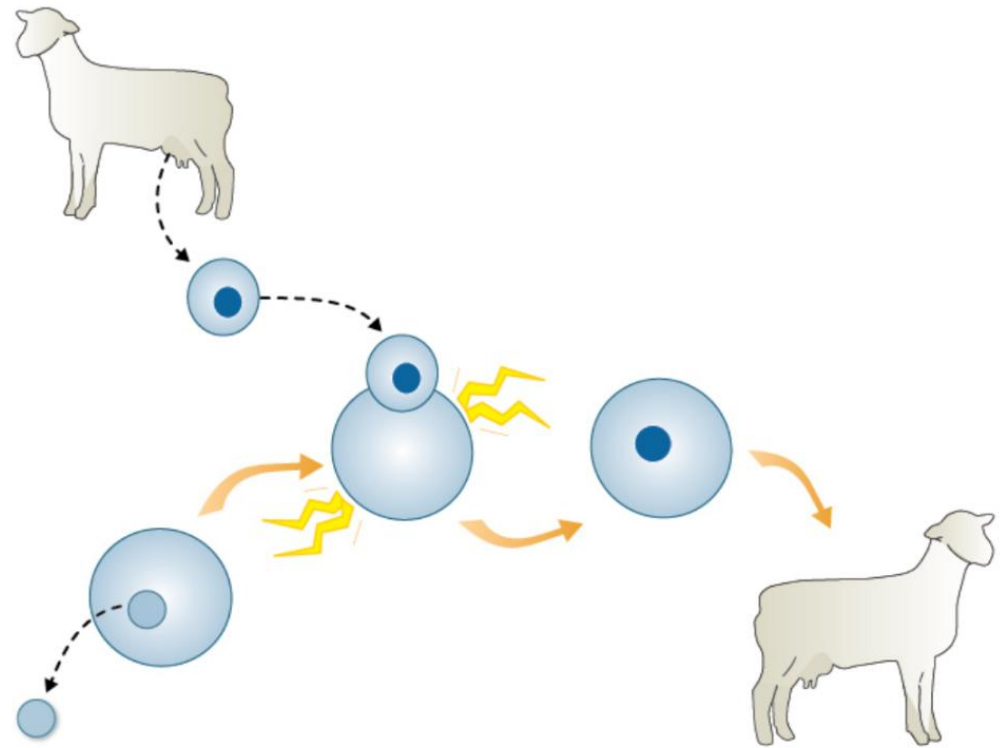
- Agouti-Allel „A^{vy}“ trägt zu gelbem Fell bei.
- Gesundheitliche Beeinträchtigungen der Agouti-Mäuse:
 - Fettleibigkeit
 - Diabetes
 - Krebs
- Weibchen bekommt vor der Paarung und während der Schwangerschaft Folsäure und B12 (enthält viele Methylverbindungen):
Nachkommen sind braun und gesund, da Agouti-Gen abgeschaltet wurde



Zunahme der Methylierung

Säugetiere zu klonen ist schwierig.

Die unvollständige Löschung der epigenetische Modifikationen machen es schwierig nach einem Transfer eines Zellkerns aus einer differenzierten Zelle in eine kernfreien Eizelle ein neues Individuum zu erhalten.

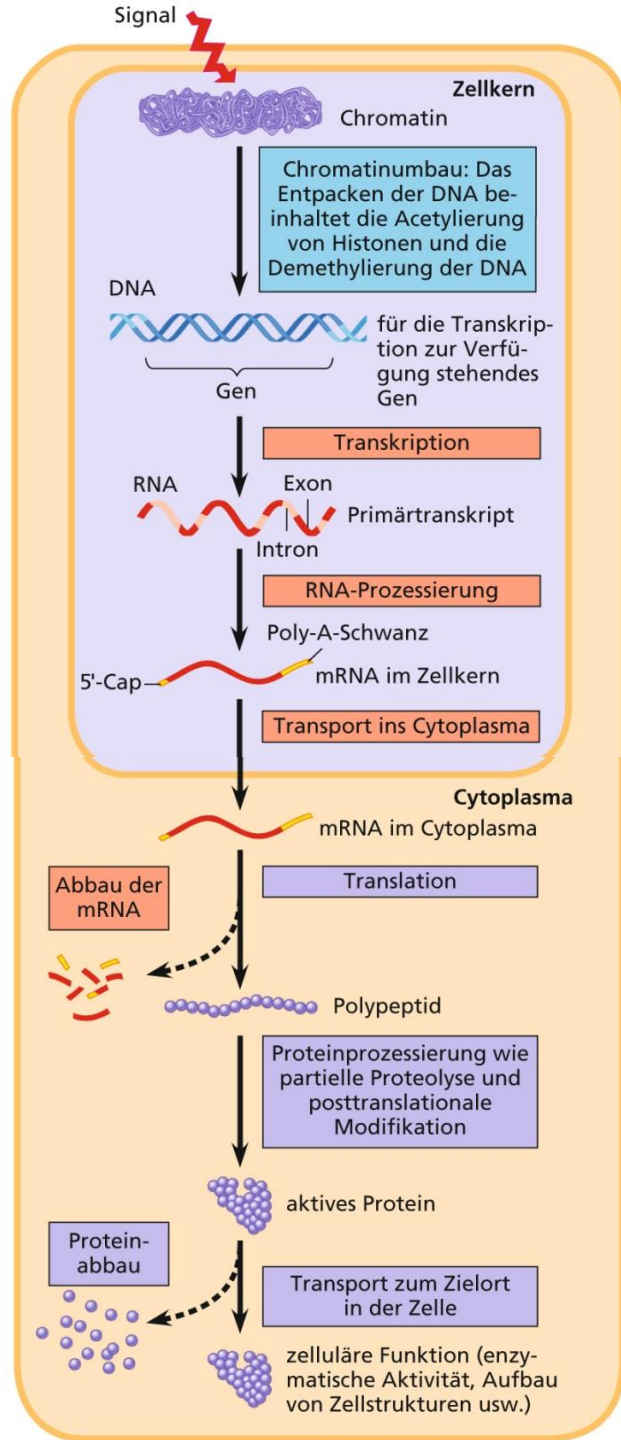


Wie gleich sind embryonale Stammzellen und iPS-Zellen?

Dolly the sheep was the first mammal to be cloned by somatic cell nuclear transfer (SCNT). Learn more about SCNT in [Click and Clone](#)

-
- "Traumata sorgen nicht nur für Narben in der Seele, sondern auch für Narben im Erbgut,,.
 - Wenn diese Narben auch im Erbgut der Keimzellen sind, dann werden sie sogar weitervererbt.
 - Ein kanadischer Psychologe vertritt die These, dass unser epigenetisches Erbe eine Reihe von Persönlichkeitsmerkmalen – darunter Temperament und Intelligenz – beeinflusst. Deshalb dauere es vermutlich mehrere Generationen, um in einer Bevölkerung die Folgen wieder wettzumachen, die Armut, Krieg und Vertreibung im epigenetischen Code hinterließen.

Stufen der Regulation der Genexpression bei Eukaryoten



1. Genom
2. Transkription
3. RNA-Prozessierung & Kern-Export
4. mRNA Degradation
5. Translation
6. Posttranslation

RNA-Degradation

- Genexpression wird nicht nur durch „An-/Abschalten“ von Genen reguliert, sondern auch dadurch „Wie lange bleibt die RNA bestehen.“
- Die **Halbwertszeit** von RNA schwankt zw. Minuten/Stunden (mRNA) bis Tage/Wochen (rRNA, tRNA).



- **Poly(A)-Schwanz wird verkürzt durch Exonuklease (*Deadenylierung*)**
- **5'-Cap wird entfernt (*Decapping*)**
- Abbau durch **Exonukleasen** (gefördert durch AU-reiche Elemente)
- Verzögerung des Abbaus durch *hair pin* Struktur
- Proteine, die an RNA binden schützen vor Abbau und erleichtern den Abbau

Abbau geschädigter RNA (vgl. Vorlesung DNA Reparatur)

Die Zelle repariert RNA nicht.

Stattdessen erkennt sie geschädigte RNA früh und **eliminiert sie konsequent über mehrere redundante Abbauwege**, abhängig davon:

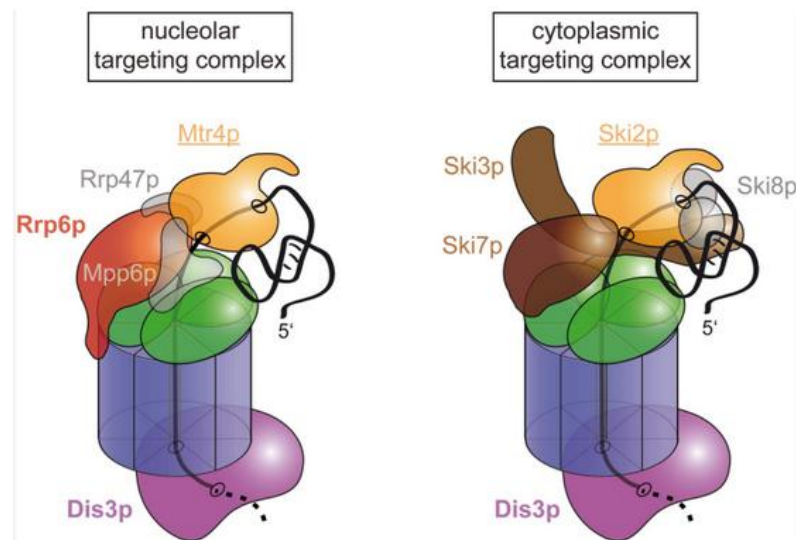
- *wo* die RNA ist,
- *wie* sie beschädigt ist,
- *ob* sie gerade translatiert wird.

Beispiele für Abbauwege:

- Verkürzung des Poly(A) Tails und anschließend Entfernung der 5'Kappe mit Abbau durch Exonuklease im Cytosol
- Abbau mittels **RNA-Exosom** (Multienzymkomplex aus Exo- und Endonukleasen), RNA-Schredder
- Abbau von RNA am Ribosom, wenn Ribosom „stecken“ bleibt oder vorzeitiges Stopcodon
- Abbau von RNA im Zellkern durch Retention im Zellkern
- Stressgranula mit RNA, die autophagozytiert werden

Exosome und RNA-Degradation (RNA-Recycling)

- RNA-Exosom: Proteinkomplex im Zellkern und Cytoplasma
- Funktion: Abbau von „unbrauchbarer“, alter RNA (Qualitätskontrolle der RNA)
- DHX9 entwindet die RNA, damit das Exosom die RNA „einsaugen“ und schreddern kann.



im Zellkern

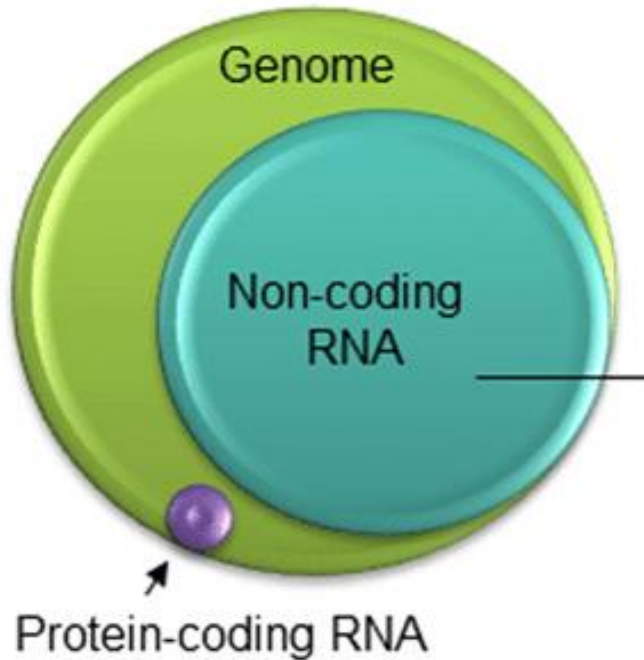
- Fehlerhafte mRNA-Vorläufer
- Unbrauchbare rRNA, tRNA

im Cytoplasma

- gealterte, defekte mRNA

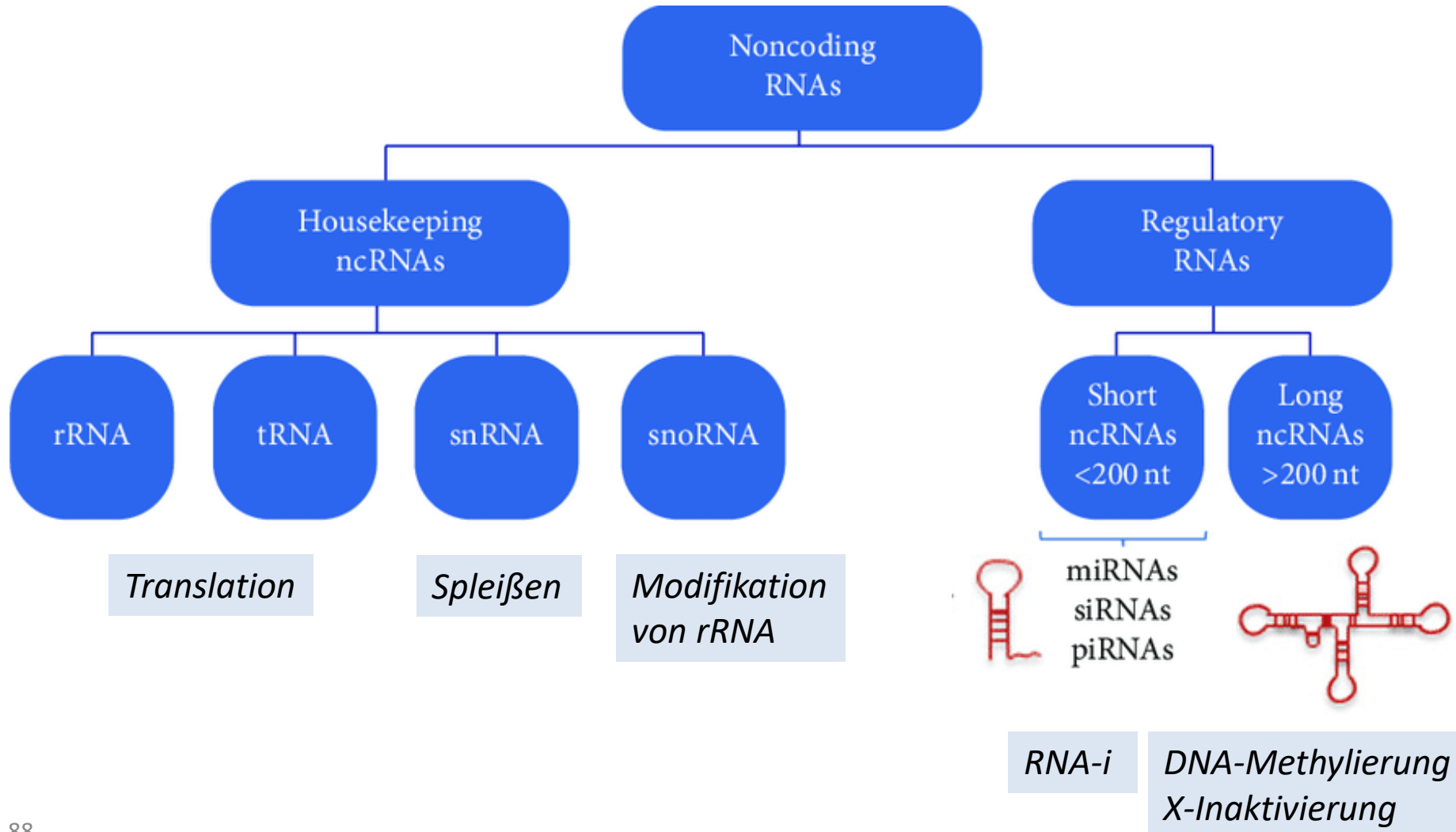
mRNA-Degradation mittels siRNA und miRNA

Zusammensetzung des menschlichen Genoms



- 1-2 % des Genoms codieren für Proteine, aber bis zu 60-80 % werden in RNA umgeschrieben
- RNAs, die nicht für Proteine codieren werden als **nicht-codierende RNAs** (ncRNA) bezeichnet
- Die Kontrolle der Genexpression durch regulatorische ncRNAs kann im Verlauf der Genexpression ansetzen an:
 1. **Translation der mRNA**
 2. **RNA Prozessierung (Spleißen) & Editierung**
 3. **Konformation des Chromatins (Epigenetik)**

Non-coding RNA (ncRNA)

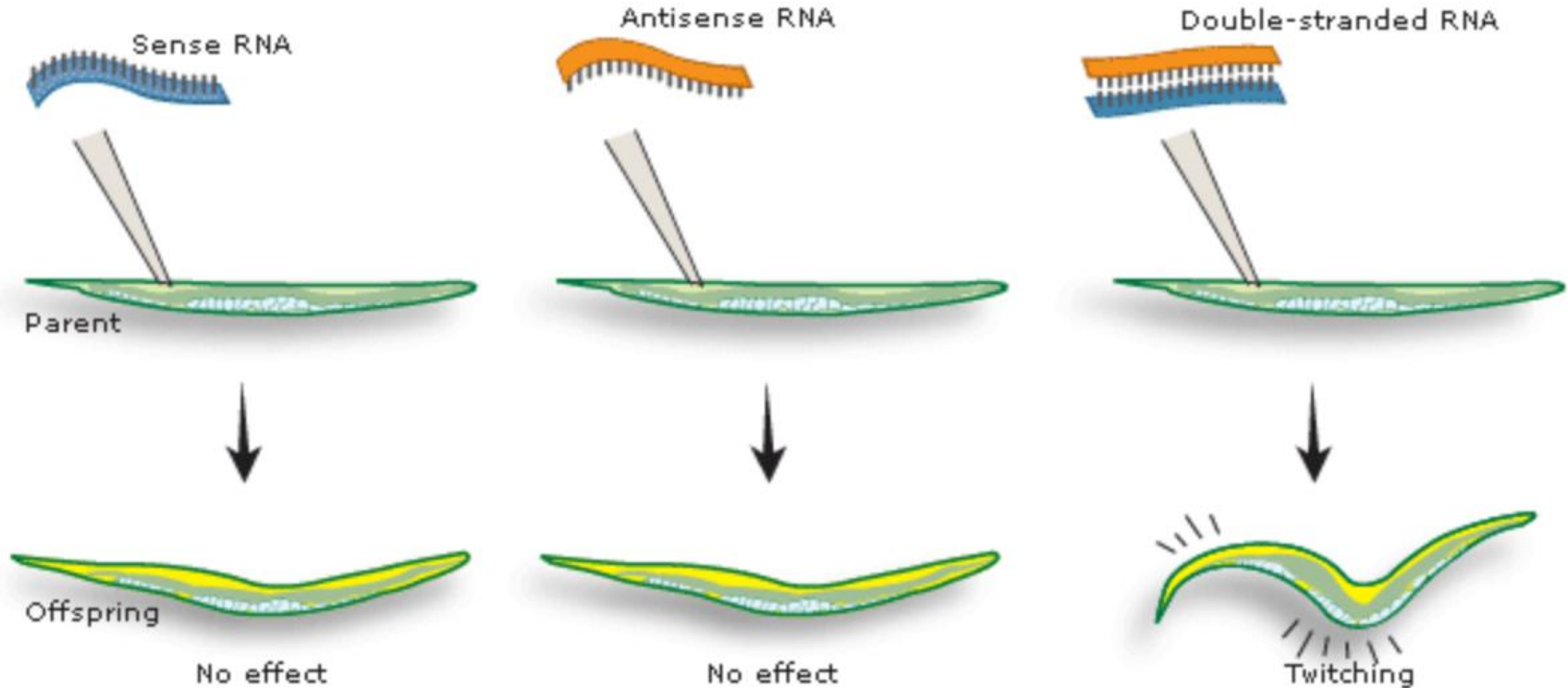


Key experiments

Gene silencing

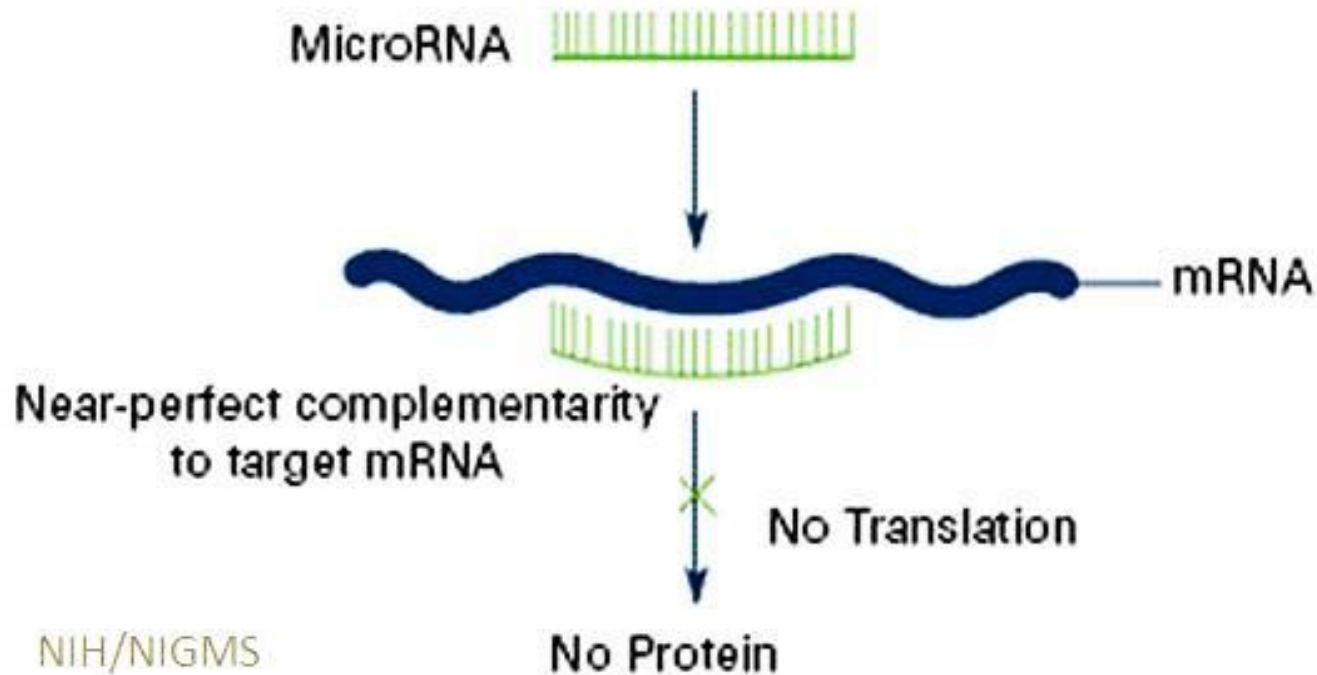
Fire and Mello injected RNA corresponding to a gene important for muscle function in the worm *C. elegans*.

Single-stranded RNA (sense or antisense) had no effect. But double-stranded RNA caused the worm to twitch in a similar way to worms that lack a functional gene for the muscle protein.



RNA Interferenz

- Mikro-RNA (< 200 bp)
- siRNA (21-30 bp)



RNA-Interferenz (RNAi)



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006

"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"



Photo: L. Cicero

Andrew Z. Fire

🏆 1/2 of the prize

USA

Stanford University



Photo: J. Mottern

Craig C. Mello

🏆 1/2 of the prize

USA

University of

Definition:

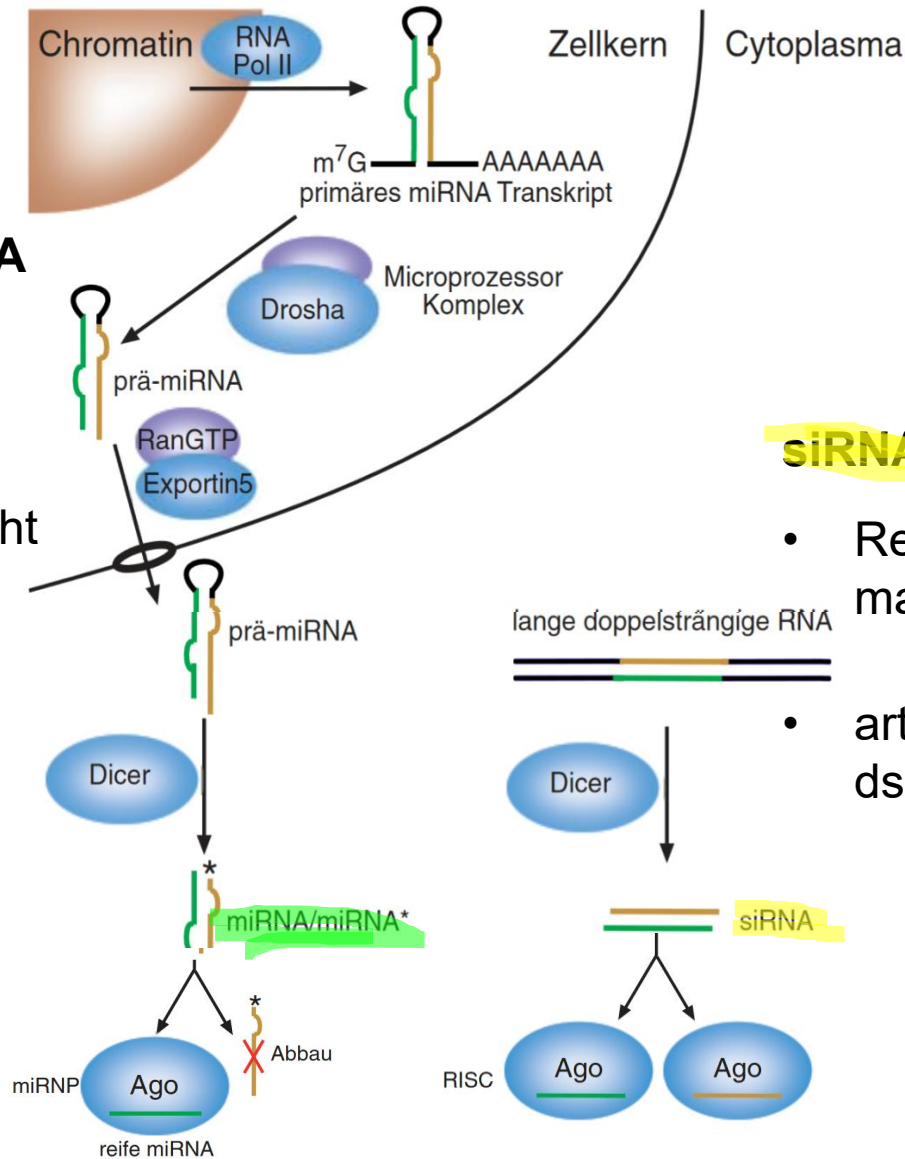
Der Begriff RNA-Interferenz bezeichnet einen zellulären Vorgang, bei dem der **Abbau einer mRNA durch kurze, homologe, doppelstränge RNA (dsRNA) induziert wird.**

=> Spezialfall des Gen-Stillegends (***knock-down***)

Entstehung von kurzen dsRNA-Molekülen (Duplex)

miRNA:

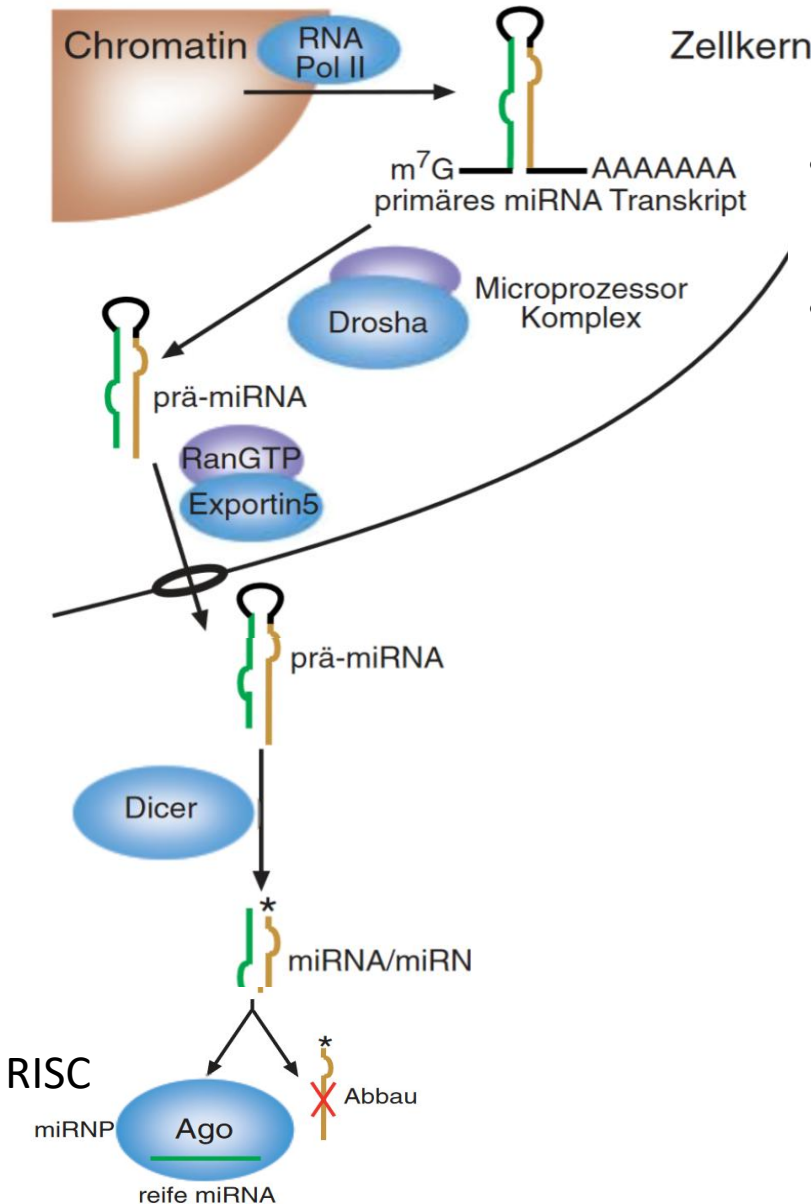
- Vorläufer der **miRNA** sind im Genom vorhanden
- nach der Transkription entsteht eine **Pri-** und **Prä-miRNA**, die zur **miRNA** prozessiert wird.



siRNA:

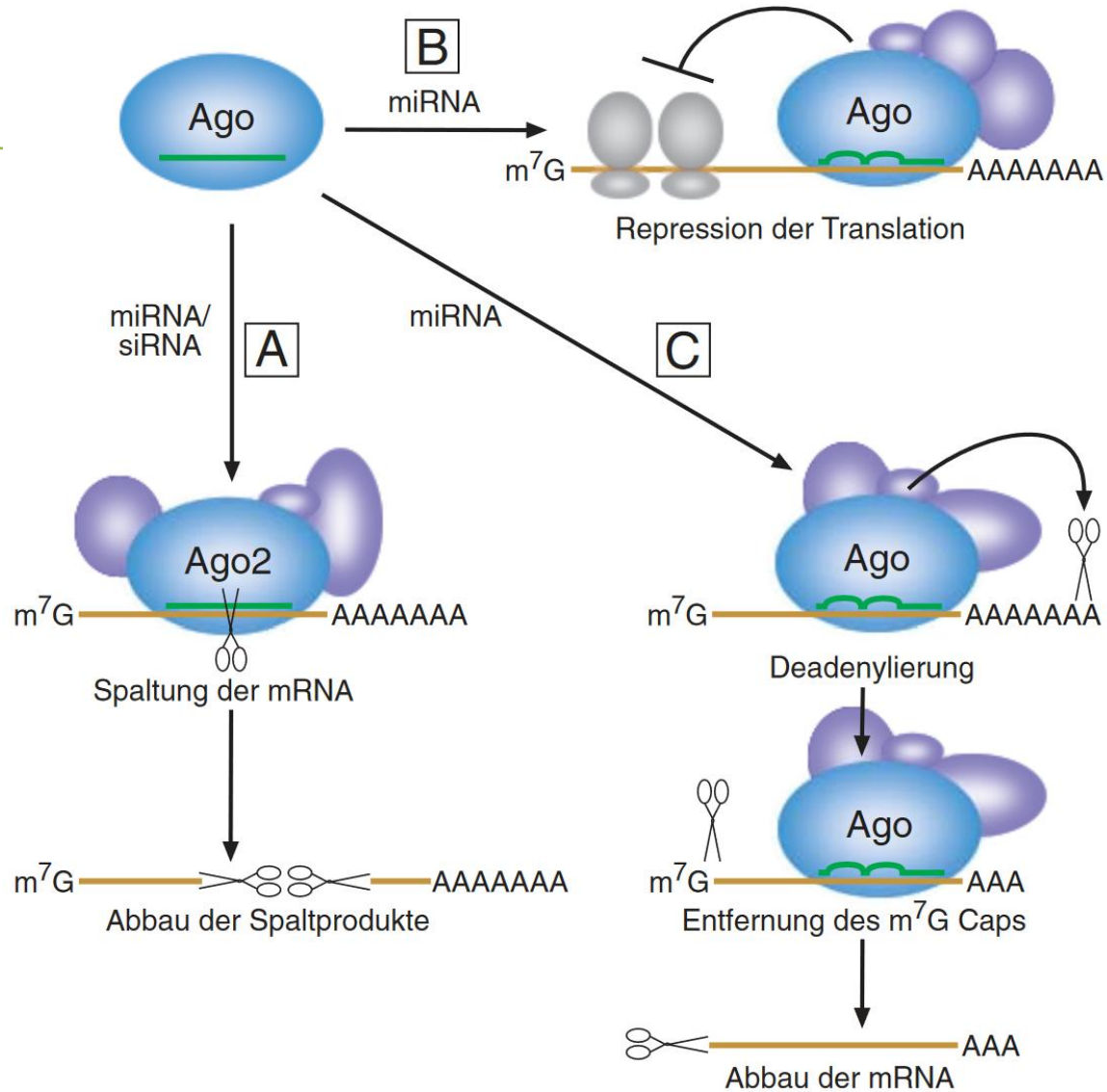
- Replikations-Intermediate mancher Viren oder
- artifiziell eingebrachte dsRNA (Labor)

Entstehung von kurzen dsRNA-Molekülen (Duplex)



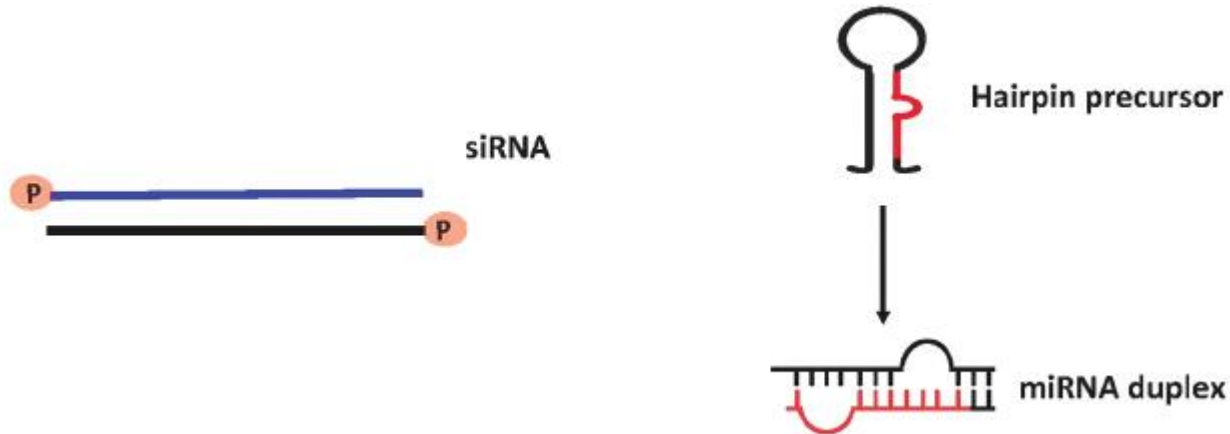
- Vorläufer der **miRNA** sind im Genom vorhanden
- nach der Transkription entsteht eine **Pri- und Prä-miRNA**, die im Cytosol von **Dicer (RNase III)** in ds-Fragmente ($\approx 21\text{bp}$) prozessiert wird.
- **Argonautenproteine** und weitere Proteine binden kurze dsRNA
Leitstrang der miRNA bleibt,
Folgestrang (*passenger RNA*) wird abgebaut
=> **RISC-Komplex** (RNA induced silencing complex)
- RISC bindet komplementäre mRNA-Sequenz
=> **Abbau der mRNA**
=> **Hemmung der Translation**

Ago2 = Silencer



▲ **Abb. 2:** Schematische Darstellung der Funktion von miRNAs. miRNAs können sowohl die Stabilität ihrer Ziel-mRNAs (A, C) als auch deren Translation (B) beeinflussen. m⁷G, 7-Methyl-Guanin; AAAA, Poly-A-Schwanz.

Vergleich: siRNA und miRNA



	siRNA	miRNA
structure	Double-stranded	Single-stranded with hair pin
precursor	Exogenous long dsRNA	Endogenous transcribed RNA
Targeting	Perfect base pairing Specific one mRNA Coding region	Imperfect or perfect basepairing Multiple mRNAs Coding or 3'-UTR region
effect	mRNA cleavage	Translational repression or cleavage
Significance	Viral defense and genome stability	Endogenous gene expression regulation

Zusammenfassung: Nicht-codierende RNAs wie Micro-RNA (miRNA) & small interfering RNA (siRNA)

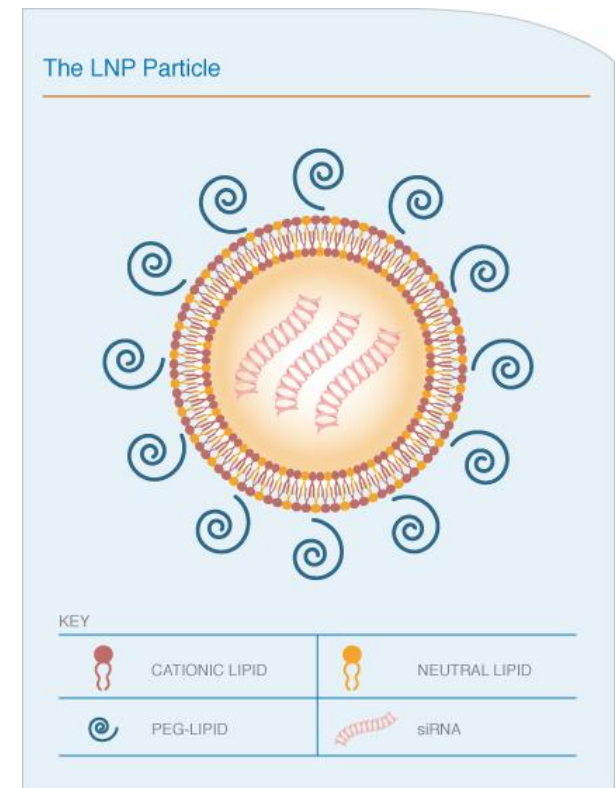
- miRNAs werden im Genom aller eukaryotischen Lebewesen codiert; siRNA sind exogenen Ursprung (beides sind entwicklungsgeschichtlich alte Mechanismen)
- **Funktion:** Regulation der Genexpression und Abwehr gegen Fremd-RNA (z.B. Virus)
- **Prinzip:** miRNA und siRNA binden an komplementäre Sequenzen von mRNAs oder Virus-RNA (Exon, Intron, UTR am 3´ oder 5´-Ende)
- **Folgen für die Genexpression: RNA Interferenz (RNAi)**
 1. Abbau der mRNA des Zielgens (post-transkriptional)
 2. Hemmung der Translation der mRNA des Zielgens (post-transkriptional)
 3. Induktion einer Modifizierung des Chromatins im Bereich des Zielgens (transkriptional)
- als kleine RNA-Moleküle unterliegen sie einer Halbwertszeit

=> **Effekt ist transient**

Therapeutischer Einsatz von siRNAs

- **Problem:**
 - RNAs passieren Zellmembran schlecht (negativ geladen)
 - Stabilität (RNase sensitiv)
 - miRNA (Immunantwort)
- **Lösung:**
 - modifizierte Nukleotide
 - Verpackung in Liposomen (LNP, lipid nanoparticle)
 - Beladung auf Nanopartikel
- **Beispiel: Transthyretin-Amyloidose**

Transthyretin (TTR) wird von der Leber exprimiert und transportiert Vitamin A und Thyroxin. Mutiertes TTR lagert sich im Herzen und Nervengewebe ab
=> geringe Lebenserwartung
(FDA zugelassen: 2018)



Exkurs: Therapeutisch eingesetzte RNA Moleküle

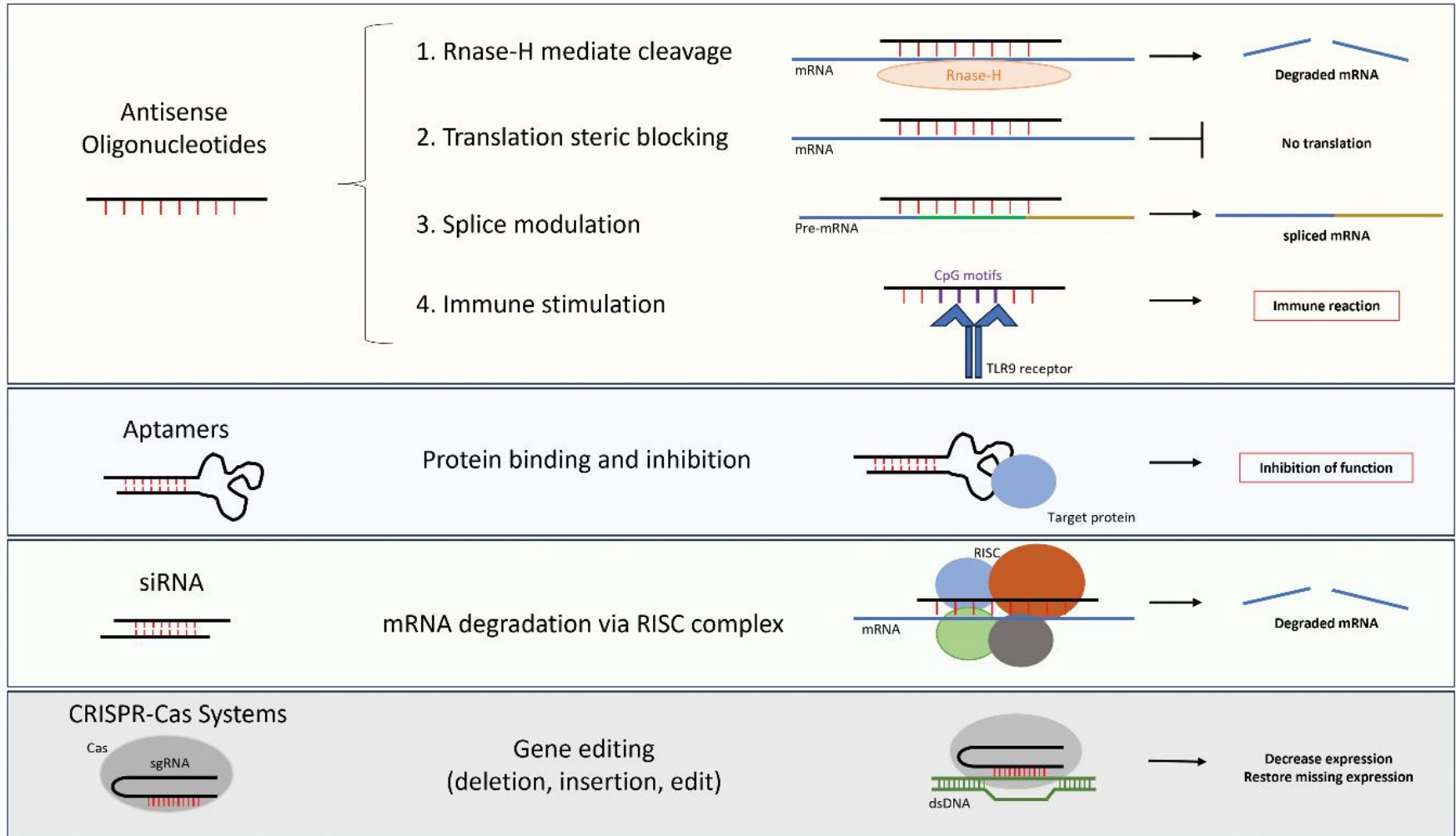


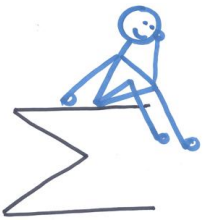
FIG. 1. Mechanisms of currently approved nucleic acid therapeutic modalities. Color images are available online.

Klinische Erfolge von nicht-codierender RNA vergleichbar mit Proteinen?

- Werkzeuge/Therapeutika
- Biomarker – Diagnostik
- Zielstrukturen (*drug targets*)

Problem:

- normale spezifische Funktion der miRNA in der Zelle ist kompliziert
- unterschiedliche Funktionen in verschiedenen Zelltypen
- spielen viele Zielmoleküle / Targets an
(eine miRNA kann die Expression von über hundert mRNA regulieren,
während gleichzeitig jede mRNA von verschiedenen miRNAs beeinflusst
wird
(off-target-Effekte)



Zusammenfassung

- **RNA-Editing** erfolgt nach der Transkription und führt zu Veränderungen der Nukleotid- und damit auch Aminosäuresequenz.
- **DNA- und Histonmodifikationen** stellen reversible kovalente Modifikationen dar, die die Genexpression positiv oder negativ beeinflussen.
- Es handelt sich um **epigenetische Veränderungen**, die bei der Mitose weitererbt werden und ein erworbenes zelluläres Gedächtnis darstellen.
- **Genomic Imprinting** bestimmt, ob das väterliche oder mütterliche Allel abgelesen wird. Für das jeweilige Allel liegt eine Hemizygotie vor. Die genomisch geprägten Gene sind oft im Genom geclustert und an Entwicklungs- und Stoffwechselprozessen beteiligt. Veränderungen sind mit Krankheiten wie Prader-Willi-Syndrom oder Angelmann-Syndrom gekoppelt, zeigen aber auch Assoziationen mit Tumoren, Alzheimer, Diabetes, Autismus, u.a..
- Bei **RNA-Interferenz** wird der mRNA-Abbau durch kurze, komplementäre dsRNA induziert und damit die Translation blockiert. RNAi-Technik wird auch im Labor zum *gene silencing* genutzt.