

Homöobox-Gene: Regulatoren der Entwicklung

Sachinformation

Wie entsteht aus einem Embryo ein voll ausgebildeter Organismus? Diese Frage stellen sich Entwicklungsbiologen schon lange. Doch erst seit etwa 20 Jahren erlaubten neue molekulargenetische Methoden bessere Einblicke in die genetische Regulation von Entwicklungsprozessen. Erforscht wurde und wird die Rolle der Homöobox-Gene, die erstmalig bei der Taufliege *Drosophila*, später u. a. bei Krallenfrosch, Fadenwurm, Maus, Huhn und Mensch identifiziert wurden und die die Anordnung der Organe entlang der Körperachse bestimmen.

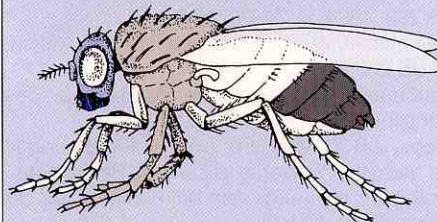
Alle Genprodukte von Homöobox-Genen stellen Transkriptionsfaktoren dar, die sich an die Erkennungssequenzen spezifischer DNA-Abschnitte anlagern und die Transkription der entsprechenden Gene an- oder ausschalten. Sie weisen alle ein ähnliches Sequenzmotiv auf: die Homöodomäne. Sie umfasst rund 60 Aminosäuren, deren Abfolge und räumliche Anordnung sich während der Phylogenese der Tiere nur wenig abgewandelt haben.

Homöobox-Gene kommen in allen bisher untersuchten vielzelligen Tieren vor (Beardsley 1991; De Robertis u. a. 1990; Gehring 2001; McGinnis/Kuziora 1994). Bei Wirbeltieren bezeichnet man sie verkürzt als Hox-Gene, bei Arthropoden als Hom-Gene (vgl. Material 1). Als «Regionalisierungsgene» steuern sie die Entwicklung von Zellen in Abhängigkeit von ihrer Position im Körper. Das heißt: Die Homöobox-Gene legen die regionale (positionelle) Information der Körperzellen fest – bei bilateral organisierten Tieren entlang der Körperlängsachse, bei rotationssymmetrischen Tieren (z. B. Hohltieren) entlang der «Kopf-Fuß»-Achse.

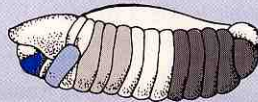
Sowohl die Hox- als auch die Hom-Gene sind auf den Chromosomen in kleinen Gruppen (Clustern) angeordnet. Solche Cluster wurden zuerst bei *Drosophila* entdeckt, wo die Gen-Gruppierung sekundär in zwei Cluster gespalten ist. Wirbeltiere wie Mensch und Maus besitzen dagegen vier Hox-Cluster, die auf vier Chromosomen verteilt, dort aber jeweils ungefähr an der gleichen Stelle zu finden sind. Jeder Cluster enthält bis zu 12 Hox-Gene. Ordnet man die chromosomalen Lagepläne der vier Cluster übereinander, so ähneln sich diejenigen Hox-Gene am stärksten, die senkrecht übereinander stehen (vgl. Material 2). Sie werden als paraloge Gene bezeichnet (Gaunt 2000; Wolpert 1999).

Musterbildung

Die Entwicklung der Körperstrukturen wird bei der Taufliege *Drosophila* und bei der Maus von Homöobox-Genen kontrolliert, die bei beiden Tieren in der gleichen linearen Anordnung auf den Chromosomen zu finden sind. Jedes Kästchen repräsentiert ein Homöobox-Gen. Jedes Regulatorgen befindet sich bei der Taufliege auf einem einzigen Chromosom. Mäuse und andere Säuger besitzen dagegen vier Chromosomen mit einem gleichen oder ähnlichen Satz dieser Gene.



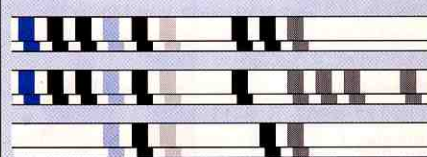
Drosophila-Imago



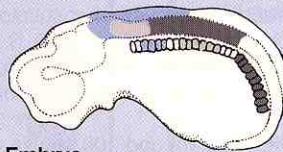
Drosophila-Embryo



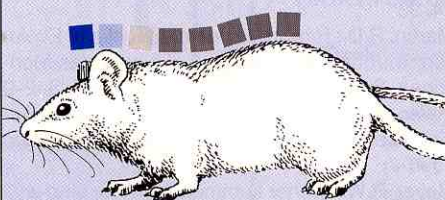
Drosophila-Chromosom



Maus-Chromosomen



Mäuse-Embryo



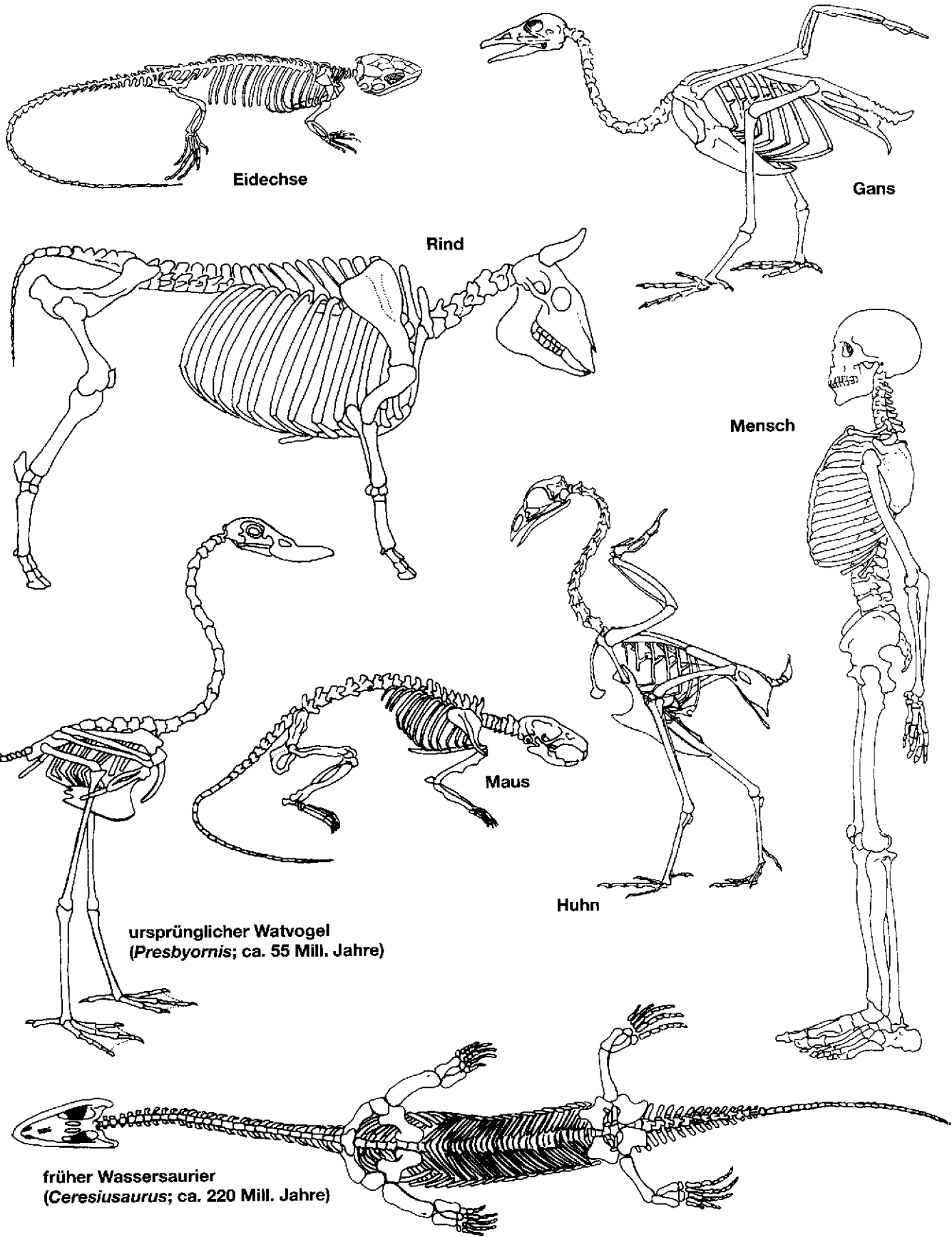
erwachsene Maus

Während der Embryonalentwicklung lässt sich eine Korrelation zwischen der Anordnung der Hox-Gene auf den Chromosomen einer Zelle und dem Expressionsmuster im Körper beobachten: Im Kopfbereich eines sich entwickelnden Wirbeltiers werden in der Regel nur die ersten Gene eines Hox-Clusters exprimiert. In den Zellen am Ende der Wirbelsäule sind zum gleichen Zeitpunkt dagegen praktisch alle vorhandenen Hox-Gene aktiv. Die Expressionsstärke, d. h. die Häufigkeit der Transkriptionen pro Zelle nimmt dabei allerdings mit der Entfernung von der Zellregion der erstmaligen Expression ab (vgl. Abb. 2 auf Material 2). Die überlappende Expression hintereinanderliegender Hox-Gene bestimmt den Hox-Code, der die spezifische Ausbildung z. B. eines Wirbels prägt.

Wie wird nun das Expressionsmuster, d. h. die Aktivität der Hox-Gene gesteuert? Hierzu wurde eine Modellvorstellung entwickelt (Gaunt 2000), die sich an die Erkenntnisse zur Embryonalentwicklung von *Drosophila* anlehnt (vgl. UB 229, S. 27ff):

1. In den frühen Stadien eines Embryos werden noch keine Hox-Gene transkribiert. Die DNA ist in diesem Bereich noch stark komprimiert, das Chromosom noch «geschlossen». Später beginnen Zellen am hinteren Ende des Embryos, Signalmoleküle zu sezernieren. Als ein solches Molekül mit Signalcharakter gilt z. B. die Retinsäure, ein Derivat des Vitamin A.
2. Erreicht die Konzentration an Signalmolekülen in einer Zelle ein bestimmtes Niveau, wird das erste Hox-Gen eines Clusters transkribiert: Das Chromosom ist nun für das erste Hox-Gen «geöffnet».
3. Die Signalmoleküle diffundieren zum Kopfende des Embryos. Dort wird nach Erreichen einer kritischen Konzentration in den Zellen ebenfalls zunächst das erste Hox-Gen eines Clusters transkribiert.
4. Ist das jeweils erste Hox-Gen transkribiert, «öffnet» sich das Chromosom nach und nach auch für die Transkription der folgenden Hox-Gene eines Clusters. So werden z. B. im Anschluss an das Hox-Gen a1 die Hox-Gene a2 und a3 transkribiert. Als Folge der langsamen Diffusion der Signalstoffe werden in den Zellen zum Kopf des Embryos hin nur die ersten Hox-Gene, zum Schwanz hin dagegen nahezu alle exprimiert. Es ergibt sich ein treppenförmiges Expressionsmuster (vgl. Material 2), das mit der linearen Anordnung der Hox-Gene auf dem Chromosom korreliert. Je nach Menge und Kombination der Pro-

Ähnlich oder verschieden?



Aufgaben

1. Vergleichen Sie die abgebildeten Wirbeltier-Skelette: Welche Gemeinsamkeiten ergeben sich bei der Betrachtung der Baupläne? Welche Unterschiede?
2. Betrachten Sie nun die Wirbelsäulen der Tiere näher: Wie viele Wirbel lassen sich jeweils dem Hals, der Brust und der Lende bzw. dem Schwanz zuordnen?

Gene, die die Entwicklung steuern

1. Hox- und Hom-Gene besitzen eine Homöobox

Bei der Suche nach den genetischen Grundlagen für die Steuerung der Embryonalentwicklung stießen Wissenschaftler auf eine Gruppe von Genen, die alle dieselbe evolutiv konservierte Basensequenz für eine immer gleiche Abfolge von 60 Aminosäuren enthalten. Nach dieser als Homöobox bezeichneten Sequenz bekamen sie den Namen «Homöobox-Gene».

Entdeckt wurden die Homöobox-Gene bei Forschungsarbeiten an der Tauffliege *Drosophila*, später dann auch bei vielen weiteren Organismen, u. a. bei Krallenfrosch, Fadenwurm, Maus, Huhn und Mensch. Verkürzt wird bei Wirbeltieren von den Hox-Genen bzw. Hox-Proteinen, bei *Drosophila* von Hom-Genen bzw. Hom-Proteinen gesprochen.

Die Genprodukte der Hox- und Hom-Gene stellen wichtige Regulatoren der Embryonalentwicklung dar. Es handelt sich um Proteine, die als Transkriptionsfaktoren wirken. Die Proteine lagern sich an die Erkennungssequenzen spezifischer

DNA-Abschnitte an und beeinflussen dabei, ob Gene an- oder ausgeschaltet, d. h. ob sie transkribiert werden oder nicht. Bei der Homöobox handelt es sich um den Bereich der Gene bzw. der von ihnen codierten Proteine, der für die Bindung an die DNA zuständig ist. Da die DNA-Bindung die wichtigste Voraussetzung für die Wirkung als Transkriptionsfaktor ist, bestand im Laufe der Evolution ein hoher Selektionsdruck zur Konservierung dieser Struktur. Hier haben sich kaum Mutationen durchsetzen können, weshalb die Homöobox bis heute bei fast allen Wirbeltierarten weitgehend identisch ist.

Aufgaben

1. Rekapitulieren Sie den Ablauf der Transkription der DNA. Schlagen Sie ggf. im Schul- oder Lehrbuch nach.
2. Welche Funktion haben Transkriptionsfaktoren?
3. Entwickeln Sie eine Hypothese, wie die für Transkriptionsfaktoren codierenden Hox- bzw. Hom-Gene zur Steuerung der Entwicklung von Embryonen beitragen.

2. Chromosomale Organisation und Expressionsmuster

Auf den Chromosomen sind die Hox- bzw. Hom-Gene in Gruppen, so genannten Clustern angeordnet. Beim Huhn und bei der Maus gibt es z. B. vier Cluster auf vier verschiedenen Chromosomen. Ein Cluster enthält bis zu 12 Hox-Gene. Ordnet man die Lagepläne der 4 Cluster übereinander, so sind sich diejenigen Hox-Gene am ähnlichsten, die senkrecht übereinander stehen. Insgesamt ergeben sich 13 so genannte paraloge Untergruppen (vgl. Abb. 1). Hox- bzw. Hom-Gene werden in erster Linie während der Embryonalentwicklung eines Individuums exprimiert. Abb. 2 zeigt das Expressionsmuster der Hox-Gene entlang der Körperlängsachse bei einem etwa 10 Tage alten Mäuse-Embryo mit bereits ausgebildetem Neuralrohr: Die regionale Expressionsstärke der Hox-Gene nimmt zum Schwanz hin generell ab, zum Kopf hin ist sie am höchsten. Dadurch ergibt sich ein treppenförmiges Muster.

Da in den Zellen der Schwanzregion praktisch alle Hox-Gene angeschaltet sind, zum Kopf hin jedoch stufenweise weniger, ist in fast jeder Körperzelle entlang der Körperachse jeweils ein unterschiedliches Genprogramm aktiviert. Auf diese Weise erhält jede Körperzelle eine positionelle Identität als Voraussetzung dafür, nach welchem Programm sich die Zelle weiter differenziert.

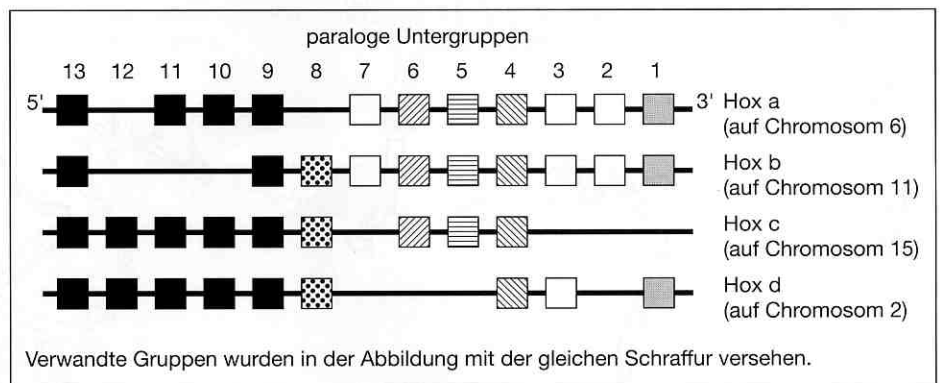


Abb. 1: Anordnung der 4 Hox-Cluster einer Maus auf den jeweiligen Chromosomen

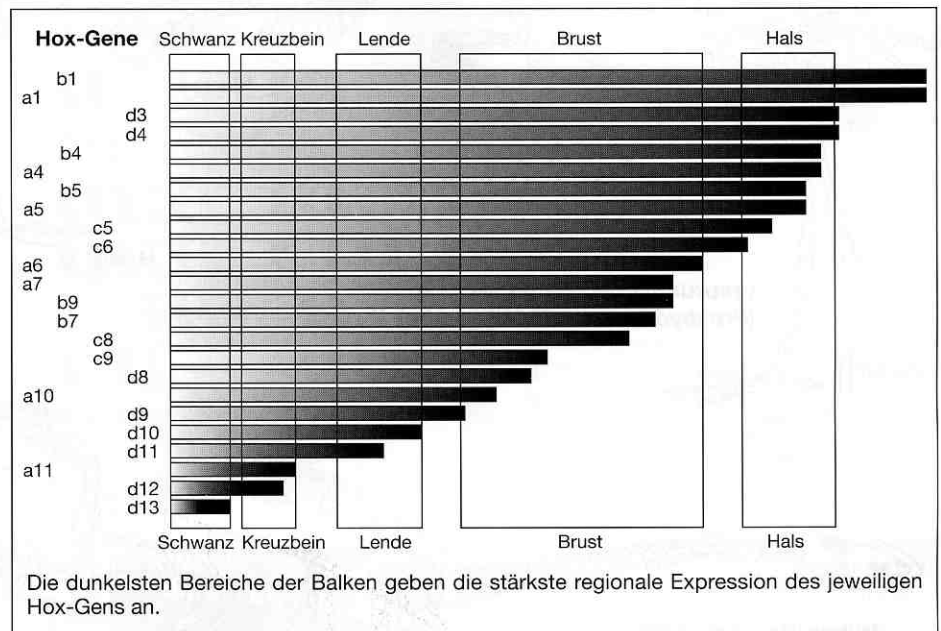


Abb. 2: Expressionsmuster der Hox-Gene während der Embryonalentwicklung

Aufgaben

1. Welche Hox-Gene werden in der in Abb. 2 gezeigten Entwicklungsphase am stärksten in der Halsregion, in der Brustregion und im Schwanzbereich exprimiert?
2. Vergleichen Sie die vordersten Expressionsgrenzen der Hox-Gene mit ihrer Position auf dem jeweiligen Chromosom (vgl. Abb. 1). Was fällt auf?
3. Stellen Sie erneut eine Hypothese auf zu der Frage, wie die Hox-Gene die Entwicklung eines Organismus steuern.

Hox-Expressionsmuster und Halslänge

In Abb. 1 wurde das treppenförmige Expressionsmuster der Hox-Gene während der Embryonalentwicklung der Maus (vgl. Material 2) in eine neue Darstellungsform umgesetzt: Abgebildet sind nun nur die vordersten Expressionsgrenzen der jeweiligen Gene, d. h. die Körperregionen mit der stärksten Expression. In der rechten Hälfte der Abbildung ist der gleiche Sachverhalt für die Embryonalentwicklung eines Huhns dargestellt.

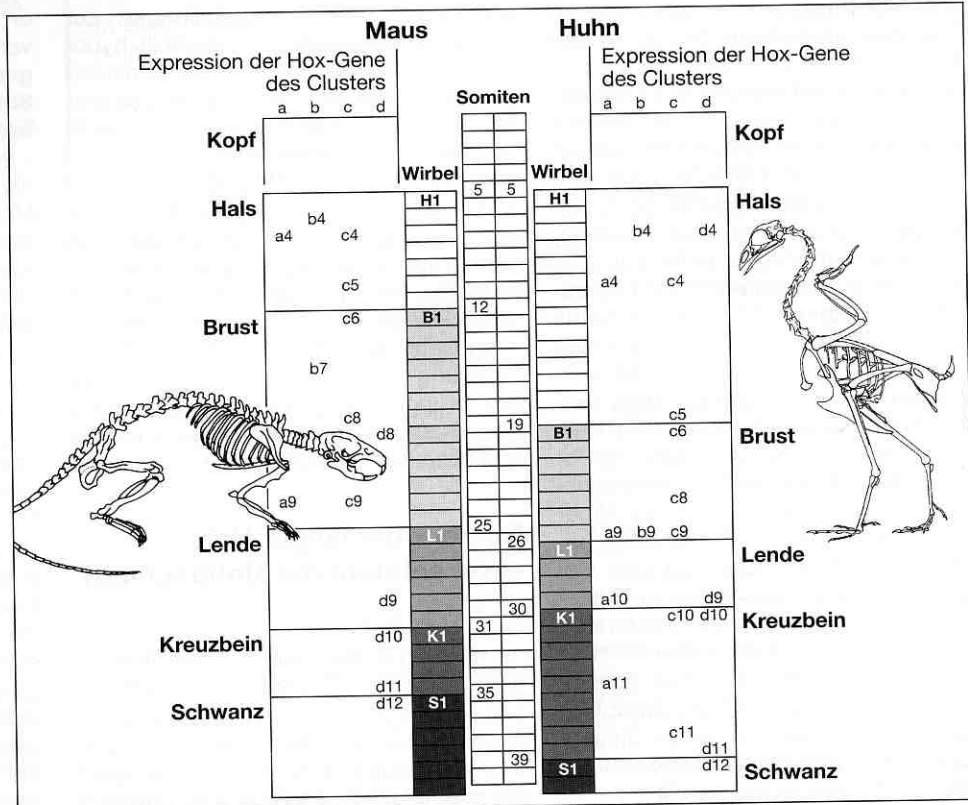


Abb.: Expressionsmuster der Hox-Gene von Mäusen und Hühnern

Aufgaben

1. Welche Hox-Gene sind im Übergangsbereich zwischen Hals und Brustbereich angeschaltet?
2. Vergleichen Sie die Expressionsmuster von Maus und Huhn mit dem Körperbau der Tiere. Erklären Sie anhand Ihres Wissens über die Regulationsfunktion der Hox-Gene die unterschiedliche Anzahl der Halswirbel.
3. Übertragen Sie Ihre Überlegungen auf andere Körperbereiche.

Entwicklung der chromosomalen Organisation der Hox-Cluster

Die weitgehende Konstanz der Homöobox, des gleichbleibenden Sequenzmotivs aller Homöobox-Gene, legt nahe, dass sich die Entwicklungskontrollgene alle von einem Vorläufer ableiten lassen. Selbst bei *Drosophila* und Maus sind die Homöoboxen zu 98 % identisch. Wissenschaftler gehen davon aus, dass sich das Ur-Homöobox-Gen vermutlich schon vor der phylogenetischen Aufspaltung von Pflanzen und Tieren entwickelt hat. Schließlich hat man auch bei Pflanzen einzelne Homöobox-Gene gefunden. Cluster aus mehreren Homöobox-Genen haben sich allerdings nur im Tierreich gebildet.

Aufgaben

1. Stellen Sie eine Hypothese auf, wie die Hox-Cluster entstanden sein könnten.
 2. Warum ist der Bereich der Homöobox so hoch konserviert?
- Nach heutiger Annahme vermutlich durch Genduplikationen zunächst auf nur einem Chromosom. Zusätzliche Mutationsereignisse in den einzelnen Homöobox-Genen führten dann zu einer gewissen Divergenz hinsichtlich der Aminosäureabfolge ihrer Produkte.
- Der DNA-Abschnitt der Homöobox ist verantwortlich für die Interaktion der entstehenden regulatorischen Homöobox-Proteine mit der DNA der von ihnen regulierten Gene. Da die Proteine ohne die Fähigkeit zur DNA-Bindung funktionslos sind, wirkte auf die Konservierung der Homöobox ein besonders hoher Selektionsdruck. Diese Region wurde bei der Entstehung neuer Arten am wenigsten abgewandelt.

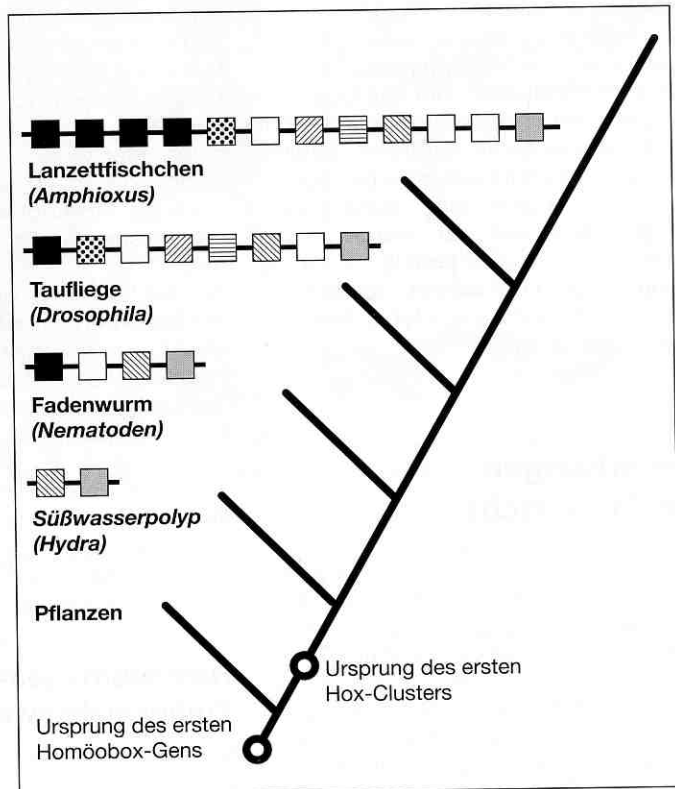


Abb.: Stammbaum ausgewählter Tiergruppen und Darstellung je eines Hox-Clusters

dukte bestimmter Hox-Gene ist für jede Region entlang der Körperachse eine positionelle Identität gegeben.

5. Da es sich bei allen Hox-Genprodukten um Transkriptionsfaktoren handelt, bildet die Expression der Hox-Gene die Voraussetzung für die Aktivierung von Entwicklungsgenen, deren Genprodukte weitere Entwicklungsschritte induzieren. Gemäß der positionellen Identität einer Zelle wird ein Differenzierungsprogramm gestartet, das wiederum einem komplexen Netzwerk von Regulationsprozessen unterliegt.

Vergleicht man exemplarisch die Expression der Hox-Gene c5 und c6 bei Maus und Huhn (vgl. Material 3), so stellt man fest, dass beide Gene jeweils in denjenigen Zellen des Embryos exprimiert werden, die den Übergang zwischen Hals und Schultergürtel bilden. Allerdings ist bei der Maus die vorderste Expressionsgrenze des Hox-Gens c6 etwas näher zum Kopf hin verlagert. Als Resultat besteht der Hals beim Huhn aus sehr viel mehr Wirbeln als bei der Maus (vgl. Material 3). Das Verschieben der vordersten Expressionsgrenze eines einzelnen Hox-Gens entlang der Körperachse scheint also entscheidenden Einfluss darauf zu haben, welche Proportionen (in diesem Beispiel durch den Ansatz des Schultergürtels) ein Körperbauplan erhält.

Der «Cocktail» der Hox-Gen-Produkte eines Individuums steuert also die Entwicklung einer Zelle und somit eines Gewebes oder eines Organs in Abhängigkeit von der Körperregion. Homöobox-Gene sind Entwicklungskontrollgene. Vermutlich lassen sich auch die exzessiv anmutenden Halslängen mancher Saurier durch verschobene Expressionsmuster erklären (vgl. Material 1). Ausschlaggebend für große Variationen im Körperbauplan sind vermutlich Mutationen, die das Expressionsmuster der entwicklungskontrollierenden Homöobox-Gene verändern. Bildlich gesprochen scheint die Entwicklung der Organismen durch ein «Softwareprogramm» gesteuert zu werden, das während der Evolution jeweils nur leichte Abwandlungen erfahren hat, die aber dennoch zu sichtbaren phänotypischen Veränderungen führten.

Bemerkungen zum Unterricht

Wie wird die als lineare Anordnung von Nucleotidsequenzen codierte Information für die Entwicklung eines Individuums in die dreidimensionale Gestalt eines Tieres übersetzt? Diese Frage ergibt sich fast zwangsläufig bei der Beschäftigung mit der Embryonalentwicklung von Tieren bzw. bei der Erörterung von Struktur und Funktion der DNA. Der vorliegende Unterrichtsvorschlag liefert erste Ansätze für eine Antwort. Die Forschung über die Bedeutung der entwicklungsregulierenden

Homöobox- bzw. Hox-Gene steckt allerdings noch in den Kinderschuhen. Dementsprechend haben die auf den Materialien beschriebenen Vorstellungen zur Entwicklungsregulation größtenteils hypothetischen Charakter. Auf diesen Umstand sollten die SchülerInnen im Sinne von wissenschaftspropädeutischem Unterricht durchaus hingewiesen werden.

Wird die genetische Regulation der Entwicklung im Rahmen der Entwicklungsbiologie behandelt, sollten die SchülerInnen bereits über Grundlagenwissen in der Molekulargenetik verfügen. Umgekehrt wird entwicklungsbiologisches Vorwissen vorausgesetzt. Am besten lässt sich die Behandlung der Homöobox-Gene an die Erörterung der Embryonalentwicklung und Gestaltbildung bei *Drosophila* anschließen (vgl. UB 229, S. 31).

Kurzer oder langer Hals – wie entsteht der Unterschied?

1. Unterrichtsabschnitt

Als Einstieg in den Unterricht vergleichen die SchülerInnen Skelettabbildungen verschiedener Wirbeltiere (vgl. Material 1). Als wesentlicher Unterschied im Körperbau von Vögeln, Reptilien und Säugern soll exemplarisch die Anzahl der Halswirbel herausgestellt werden: Während Säugtiere 7 Halswirbel besitzen, lassen sich für Vögel je nach Art 13 bis 15 Halswirbel auszählen. Bei Reptilien kann der Hals aus weniger als 10, aber auch aus einigen zig Wirbeln bestehen.

Trotz der Unterschiede sind sich die abgebildeten Baupläne zumindest oberflächlich relativ ähnlich. Schließlich teilen alle Organismen einen hohen Prozentsatz aller Gene und damit auch die meisten Proteine. Die Proteine von Mensch und *Drosophila* z. B. sind zu ca. 63 % homolog, die eines Menschen und einer Hefezelle immer noch zu 49 %. Wie kommt es dennoch zu Abwandlungen wie der unterschiedlichen Größe und Anzahl der Halswirbel?

Auf der Suche nach einer Antwort lernen die SchülerInnen zunächst die Existenz der Homöobox- bzw. Hox-Gene und die Funktionsweise ihrer Genprodukte, der Transkriptionsfaktoren kennen (vgl. Material 2, oberer Teil). Dabei ist es hilfreich, den Ablauf der Transkription der DNA kurz zu rekapitulieren. Evtl. können die SchülerInnen schon in dieser Phase erste Vermutungen äußern, auf welche Weise die Regulationsgene wohl zur Steuerung der Embryonalentwicklung beitragen.

Homöobox-Gene steuern die Embryonalentwicklung

2. Unterrichtsabschnitt

Der zweite Teil von Material 2 führt in die genomische Organisation der Hox-Gene ein. Die SchülerInnen vergleichen das Expressionsmuster der Hox-Gene einer

Maus mit der Anordnung der Gene auf den zugehörigen Chromosomen. Daraus ergibt sich folgende Erkenntnis: Die Anordnung der Gene auf dem Chromosom verhält sich kollinear zu den Expressionsgrenzen entlang der Körperachse. In der Schwanzregion des Embryos werden – wenn auch mit unterschiedlicher Intensität – mehr Hox-Gene exprimiert als zum Kopf hin.

Material 3 führt diese Betrachtung noch etwas weiter: Beim Vergleich der Expressionsmuster der Hox-Gene von Maus und Huhn ist bei beiden Wirbeltiergruppen die selbe Kollinearität zwischen genomischer Organisation und Expressionsmuster zu erkennen. Allerdings sind die Expressionsgrenzen etwas verschoben. Exemplarisch wird nun die Expression der Hox-Gene c5 und c6 am Übergang zwischen Hals- und Brustwirbeln betrachtet: Bei der Maus liegt die vorderste Expressionsgrenze des Hox-Gens c6 etwas näher zum Kopf hin als beim Huhn. Diese Veränderung scheint zu einer geringeren Anzahl von Halswirbeln zu führen. Allein das Verschieben der vordersten Expressionsgrenze eines einzelnen Hox-Gens scheint also entscheidenden Einfluss auf die Proportionen des Körperbauplans auszuüben.

Anhand von Material 4 wird abschließend der Ursprung der Hox-Gene behandelt. Bei der Betrachtung des vereinfachten Kladogramms fällt auf, dass es sich um ein sehr altes Gen handelt. Schon beim Süßwasserpolyphen Hydra, dessen Stammlinie sich vor nahezu einer Milliarde Jahren von der der anderen Tiere abgetrennt hat, ist ein Cluster von zwei Hox-Genen nachzuweisen.

Literatur

- Beardsley, T.: Intelligente Gene. In: Spektrum 10, 1991, S. 64–74
Campbell, N.: Biologie, Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg 1997, S. 1077
De Robertis, E. M./Oliver, G./Wright, C. V. E.: Homöobox-Gene und der Wirbeltier-Bauplan. In: Spektrum 7, 1990, S. 84–91
Frank, A.: Nobelpreiswürdig: Kettenreaktion im Embryo. In: UB 229, 1997, S. 27–35
Gaunt, S.: Hox Genes: Regulators of Animal Design. 2000. <http://www.bi.bbsrc.ac.uk/WORLD/Sci4All/Gaunt/Gaunt2.html>
Gehring, W. J.: Wie Gene die Entwicklung steuern. Birkhäuser, Basel 2001
Hofer, I.: Nobelpreis für Medizin Choreographen der Embryonalentwicklung. In: Spektrum 12, 1995, S. 16–18
McGinnis, W./Kuziora, M.: Kontrollgene für den Körperbauplan. In: Spektrum 4, 1994, S. 38–45
Nüsslein-Vollhard, C.: Gradienten als Organisatoren der Embryonalentwicklung. In: Spektrum 10, 1996, S. 38–46
Wolpert, L.: Entwicklungsbiologie.: Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg 1999

Reimer Hinrichs, geb. 1963: Studium der Fächer Biologie und Chemie in Freiburg; 1997 Promotion; 2. Staatsexamen 1999; seitdem Lehrer an der Schule in Dahlem-Marienu.