

DNA-kaart 2.0

Kaarten van het epigenoom – de regulatie van de genen – komen binnen handbereik dankzij verbeterde sequencingmachines. Europese universiteiten en bedrijven gaan eraan werken binnen een nieuw EU-programma.

MARIANNE HESELMANS

W e zijn nog maar net gewend aan het idee dat ziekenhuizen hele genomen van patiënten in kaart gaan brengen. En nu hebben laboratoria zichzelf alweer een nieuwe uitdaging gesteld: het routinematig vaststellen van epigenomen. Onder de term epigenoom valt alles wat bepaalt of genen in een cel zijn aan- of uitgeschakeld. Bijvoorbeeld methylering en andere DNA-veranderingen, vouwing en andere 3D-structuren, en DNA-eiwitrelaties.

41 Europese groepen van universiteiten, onderzoeksinstituten en bedrijven hebben zich nu als doel gesteld de epigenomen van ten minste honderd soorten bloedcellen in kaart te brengen, van pluripotente stamcellen tot T- en B-cellen. Daar trekken ze zelf 10 miljoen voor uit; 30 miljoen kregen ze van de EU. Nog nooit eerder trok de EU zoveel geld uit voor een medisch onderzoeksprogramma. In oktober ging het zogeheten Blueprintprogramma officieel van start.

3D-KAARTEN

Over 4 jaar hopen de groepen per type bloedcel acht à tien driedimensionale DNA-kaarten te hebben. Die kaarten laten zien waar bepaalde eiwitten of chemische groepen zitten die mede bepalen of een gen actief is. Een eerste kaart voor zo'n cel toont bijvoorbeeld de plaatsen van methylgroepen; in gemethyleerde stukken DNA zijn genen niet actief. Een andere kaart kan de posities van bepaal-

de, gemodificeerde histonvarianten tonen. Histonen, die op ten minste negentig manieren gemodificeerd kunnen zijn, zijn de eiwitten die mede bepalen welke DNA aan de buitenkant van een vouwing zit. Die buitenste genen zijn makkelijker af te lezen dan de binnenste. Een volgende kaart kan bepaalde transcriptiefactoren zichtbaar maken. Of de stukjes DNA die coderen voor regulerend RNA.

“In principe is het bepalen van epigenomen een eindeloze klus”, zegt Blueprintonderzoeksleider Henk Stunnenberg van het Nijmegen Centre for Molecular Life Sciences (Ncmls). Het is veel minder afgebakend dan het in kaart brengen van het genoom, zo legt hij uit. Het aantal basenparen in een humaan genoom is eindig (drie miljard), en de basenpaarvolgorde in levercellen, hersencellen, stamcellen en alle andere typen lichaamscellen is hetzelfde. Maar

‘Het bepalen van epigenomen is een eindeloze klus’

waar die celtypen zich nu juist in onderscheiden, zijn de groepen van genen die aan- of juist uitgeschakeld zijn. En er zijn honderden celtypen in het lichaam, met dus allemaal een ander epigenoom. “Een klein deel staat ook nog onder invloed van de omgeving”, zegt Stunnenberg. “En ook de fase van een celcyclus kan er invloed op hebben.”

Een interessant aspect van epigenetica is de overerving ervan. Bepaalde epigenetische karakteristieken van een cel, zoals de vouwing van het DNA, gaan over van de ene cel op de andere cel, bijvoorbeeld van een levercel naar een levercel, of van de ene tumorcel naar de andere. Epigenetische karakteristieken lijken bovendien overerfbaar van generatie op generatie. Met andere woorden, eigenschappen die ouders ‘verwerven’, kunnen via de genen wel degelijk overgaan op hun kinderen. Deze ‘Lamarckiaanse overerving’ werd tot voor kort onmogelijk geacht. Leidse onderzoekers schreven hierover in *PNAS* in 2008. Kinderen die tijdens de Hongerwinter in 1944 waren verwekt – nu zestigers – hadden minder methylgroepen op het bij groei betrokken IGF2-gen dan hun broers en zussen. “Door zo’n afwijkende epigenetische ‘code’ die is afgesteld op schaarste”, zo speculeerde onderzoeker Eline Slagboom destijds in een persbericht, “hebben nakomelingen mogelijk meer kans op diabetes.”

VARIATIE

Maar valt die gevonden afwijking van één van de vele epigenetische codes – de methylering – op een van de 20.000 humane genen niet binnen de normale variatie? Om te weten wat die epigenetische afwijking betekent, moet je eerst weten hoe groot de normale epigenetische variatie binnen gezonde cellen is, en hoeveel die afwijkende cellen verschillen van diezelfde cellen uit patiënten met bepaalde aandoeningen. Vandaar dat de Blueprintonderzoekers kaarten maken

van bloedcellen uit genetisch identieke muizen, bloedcellen van diabetespatiënten en bloedcellen van gezonde mensen, onder wie eenzelfde tweeling. Van alle donoren is het hele genoom bekend, en vaak ook de medische geschiedenis.

CAPACITEIT

Epigenetische kaarten zijn alleen te maken met de nieuwe generaties sequencingmachines. Al die eiwit-DNA-interacties, RNA's en andere genproducten die de activiteit van genen reguleren, worden gevonden door basenvolgorde te bepalen. De belangrijkste techniek is *chromatin immunoprecipitation* (ChIP). Eerst zorgt formaldehyde voor covalente bindingen tussen het DNA en de eraan vast zittende eiwitten. Vervolgens vist de ChIP-procedure met behulp van een antilichaam, bijvoorbeeld voor een bepaalde histonvariant, de stukjes DNA op waar die histonvariant aan vastzit. En daarna worden al die DNA-stukjes, van zo'n honderd basen-

DUIZEND CELTYPEN IN BEELD

De eerste twee epigenomen werden gepubliceerd in *Nature* van 14 oktober 2009. Ze kwamen van een stamcel en van een fibroblast uit een foetus en bleken meer van elkaar te verschillen dan verwacht. Onderzoekers van de universiteiten van Californië, Winconsin en West-Australië hadden kaarten gemaakt van de methylering in het DNA, van verschillende histonmodificaties en van plaatsen waar bepaalde transcriptiefactoren aan het DNA zitten. Daarnaast hadden ze regulerende RNA's geanalyseerd.

Deze universiteiten hebben toen, samen met een aantal andere instellingen, het International Human Epigenome Consortium (IHEC) geïnitieerd. Samen willen de instituten op een standaardmanier epigenomen vaststellen van duizend verschillende celtypen. De Europeanen hebben zich hierbij met hun Blueprintprogramma aangesloten. Dankzij EU-subsidie voldeden ze ruimschoots aan de voorwaarde voor deelname. Die was dat ze er minimaal tien miljoen dollar in zouden steken.

paren, gesequenced en op de genomkaart ‘ingetekend’.

Het Nijmeegse Ncmls beschikt over een Illumina Hi-Seq 2000-sequencer die in vier dagen 130 miljard basen kan sequensen, oftewel vier keer een menselijk genoom (meerdere keren is nodig ter controle). “Die gegevens moeten we dan natuurlijk nog wel verwerken en inter-

Verworven eigenschappen kunnen toch overgaan op nakomelingen

preteren”, zegt Stunnenberg. “En er moet voldoende computercapaciteit zijn om al die letters op te slaan.” Voorlopig denken de Blueprintonderzoekers toe te kunnen met de eigen opslagcapaciteit van universiteiten, plus die van het European Bioinformatics Institute in Cambridge en

de supercomputer in Barcelona.

Ook klinische toepassingen zijn in zicht. Het Duitse ‘chemoproteomics’-bedrijf Cellzome, een van de Blueprintpartners, heeft al een molecuul geïdentificeerd dat in cellijnen zogeheten BET-eiwitten kan remmen. Dat is mogelijk nuttig bij een bepaalde agressieve vorm van leukemie. Het bedrijf publiceerde zijn vondst in *Nature* van 2 oktober. BET-eiwitten herkennen acetyl-lysinemodificaties op histonen, waardoor ze betrokken zijn bij chromatinevouwing en daarmee ook bij de aan- en uitschakeling van bepaalde genen. Bij deze leukemiepatiënten is dit proces verstoord vanwege te actieve BET-eiwitten. Een traject van celstudies naar goedgekeurd medicijn kan weliswaar 30 jaar beslaan, maar, aldus David Simmons van Cellzome: “Dit onderzoek laat al wel het potentieel zien voor epigenetische medicijnen die zijn aangepast op het individu.”

Een belangrijker toepassing zijn waarschijnlijk diagnostische tests. Is aan het epigenoom van een vijftiger te zien dat hij diabetes type 2 aan het ontwikkelen is? Nu kost een methyloom (kaart van de plaatsen met gemethyleerd DNA) nog 6000 tot 8000 euro; een epigenoom van zo'n acht kaarten ongeveer 15.000 euro. Maar nu de technologie zo snel verbetert, gaat die prijs zeker zakken, zegt Stunnenberg. De hoogleraar verwacht al over een jaar of vijf de eerste epigenetische tests in de kliniek. “Dat is ook de reden waarom we hebben gekozen voor bloedcellen. De stap naar diagnostische tests is dan veel kleiner dan bij andere cellen.”