

DOT1L promotes progenitor proliferation and primes neuronal layer identity in the developing cerebral cortex.

Franz H\*, Villarreal A\*, Heidrich S, Videm P, Kilpert F, Mestres I, Calegari F, Backofen R, Manke T, Vogel T.

Nucleic Acids Research



Februar 2019

Institut für Anatomie und Zellbiologie

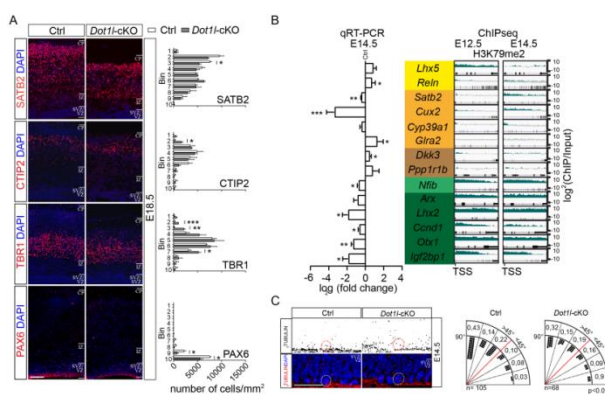
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

## DOT1L fördert die Proliferation der Cortexprogenitoren und legt die Zellidentität der äußeren Cortexneuronen fest.

von Henriette Franz, Tanja Vogel  
 editiert von Markus Kipp (UM Rostock)

Der 6-schichtige zerebrale murine Cortex entsteht zwischen den Embryonalstadien E10.5 und E18.5 der Maus. Nach der Bildung der ersten, äußersten Schicht aus der Progenitorzone (den Cajal-Retzius-Zellen = Schicht 1), werden zunächst die tieferen (Schichten 5, 6 um E12.5) und danach die äußeren Schichten (Schichten 2, 3, 4 um E14.5) der kortikalen Platte gebildet. Die entstehenden glutamatergen Projektionsneurone exprimieren spezielle Markergene. Innen liegende Neuronen der Schichten 5 und 6 exprimieren vermehrt *Tbr1*, *Ctip2* und *Sox5*. Äußere Neuronen der Schichten 2, 3, und 4 exprimieren *Satb2*, *Cux2* und *Pou3f3*. Woher die Progenitoren „wissen“, welche Zellen sie zu welchem Zeitpunkt im zerebralen Cortex bilden sollen, ist noch nicht genau verstanden. Es ist möglich, dass histonmodifizierende Enzyme die Programmierung der Progenitoren durch Markierung bestimmter Genbereiche frühzeitig vornehmen, so dass daraus zu einem späteren Zeitpunkt bestimmte Neuronen differenzieren können. Mit Hilfe von drei verschiedenen Mausmodellen konnten wir zeigen, dass die konditionelle Deletion des Enzyms *Disruptor of telomeric silencing like 1* (*Dot1l*), Vermittler der Methylierung am Histone 3 Lysin 79 (H3K79me), zu Defekten in der Schichtenbildung des murinen Cortex führt. Dabei ist die Anzahl der Neurone der inneren Schicht vermehrt und sowohl die der Progenitorzone als auch die der äußeren Schicht verringert (1A). Interessanterweise, markiert H3K79me die Markergene der äusseren Schichten schon an Tag E12.5, zu einem Zeitpunkt an dem sie noch nicht benötigt werden. Eine *Dot1l*-Deletion führt ausserdem zu einer geringeren Transkriptionsaktivität der Gene (*Satb2*, *Pou3f3*, *Cux2*), welche die Neuronen der äußeren Schichten markieren (1B). Zusätzlich konnten wir beobachten, dass *Dot1l*-Deletion mehr asymmetrische Zellteilung der Progenitoren hervorruft (1C). Dies bedeutet, dass ohne DOT1L mehr Progenitoren aus dem Zellzyklus aussteigen und zu Neuronen differenzieren. Aus unseren Daten kann man schließen, dass DOT1L erstens die Progenitoren an einem verfrühten Ausstieg aus dem Zellzyklus hindert. Zweitens ermöglicht die frühe H3K79me Markierung der Promotoren durch DOT1L die basale

Transkription von Markergenen (z.B. *Satb2*, *Pou3f3*, *Cux2*), die später, zum Zeitpunkt der Differenzierung in voller Stärke exprimiert werden können und neuronale Identität vermitteln. Drittens hat DOT1L einen Einfluss auf die Wanderung und korrekte Positionierung der Neuronen in der kortikalen Platte. Damit konnten wir zeigen, dass DOT1L essentielle Funktionen während der Cortexentwicklung übernimmt.



**Figure 1: DOT1L legt die Zellidentität für äussere Cortexneuronen fest und hemmt asymmetrische Zellteilung. A)** Immunhistochemie von E18.5 Cortex von konditionell *Dot1l*-deletierten Tieren und Kontrollen mit Antikörpern gegen PAX6, TBR1, CTIP2 und SATB2. Quantifizierung der positiven Zellen von 200 µm Cortex. Die Zellkerne wurden mit DAPI angefärbt. VZ Ventrikuläre Zone, SVZ Subventrikuläre Zone, IZ Intermediäre Zone, CP Cortikale Platte. **B)** Quantitative PCR (qRT-PCR) und H3K79me2 Chromatinimmunopräzipitation gefolgt von genomweiter Sequenzierung (ChIPseq) von Markergenen für die Progenitorschicht (dunkelgrün), der Intermediärzone (hellgrün), der inneren Cortexschicht (braun), der äusseren Cortexschicht (orange) und der ersten Cortexschicht (gelb). **C)** Immunhistochemie und Quantifizierung von E14.5 Cortex konditionell *Dot1l*-deletierten Tieren und Kontrollen mit Antikörpern gegen gamma-Tubulin. Die Zellkerne wurden mit DAPI angefärbt. Von jedem Experiment ist der Mittelwert angegeben. Die statistischen Vergleiche wurden mit dem ungepaarten t-Test durchgeführt. p<0.05 \*, p<0.01 \*\*, p<0.001\*\*\*

### Weitere Informationen

Institut Anatomie und Zellbiologie  
 Abteilung Molekulare Embryologie  
 AG Prof. Dr. Tanja Vogel  
 Albertstraße 17, 79104 Freiburg  
[henriette.franz@anat.uni-freiburg.de](mailto:henriette.franz@anat.uni-freiburg.de)  
[tanja.vogel@anat.uni-freiburg.de](mailto:tanja.vogel@anat.uni-freiburg.de)