

Biologische Informationsverarbeitung

Der Zellkern als Vorbild für zukünftige DNA-Computerchips?

LENNART HILBERT

ZOOLOGISCHES INSTITUT & INSTITUT FÜR BIOLOGISCHE UND CHEMISCHE SYSTEME,
KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE (KIT)

Transcription factories are dynamic structures located in the cell nucleus, which bring multiple genes and genomic control elements into proximity. Our research group explores these factories as inspiration for the design of high-performance DNA-based computer hardware. Potential applications range from innovative cell-based cancer therapy to advanced metabolic monitoring systems.

DOI: 10.1007/s12268-024-2090-4
© Der Autor 2024

■ Die Genomsequenz als Code des Lebens ist vielen ein vertrauter Begriff. Wie das Genom allerdings im dreidimensionalen Raum des Zellkerns verstaut und bei Bedarf gelesen wird, ist weit weniger bekannt. Das Konzept von Transkriptionsfabriken, in den 1990er-Jahren entwickelt (**Abb. 1A**), beschreibt einen spannenden Aspekt dieser bedarfsgerechten 3D-Verpackung des Genoms [1, 2]. Diese Fabriken unterscheiden sich von der herkömmlichen Vorstellung, in der Moleküle direkt an Zielgene binden. Stattdessen bewegen sich Gene zu lokalen Ansammlungen dieser Moleküle. Dort werden diese Gene aktiviert und auf den Auslesevorgang, Transkription genannt, vorbereitet [3]. Obwohl das Konzept anfangs faszinierte, stieß es schnell auf Kritik, da sich die Transkriptionsfabriken nicht klar aus Zellen extrahieren und direkt identifizieren ließen. In den letzten Jahren wird dem Konzept der Transkriptionsfabriken allerdings wieder Aufmerksamkeit geschenkt, begünstigt durch neue Perspektive, wie Zellen hochdynamische, flüssigkeitsähnliche Strukturen bilden können [4]. Diese „biomolekularen Kondensate“ entstehen ähnlich der Phasentrennung von Wasser und Öl. Das Abscheiden spezifischer Moleküle in höher konzentrierte flüssige Tröpfchen geschieht innerhalb von Sekunden und Minuten. Das Auflösen solcher Tröpfchen vollzieht sich ähnlich schnell. Die Detektion mit molekularbiologischen Methoden, die auf dauerhafter Bin-

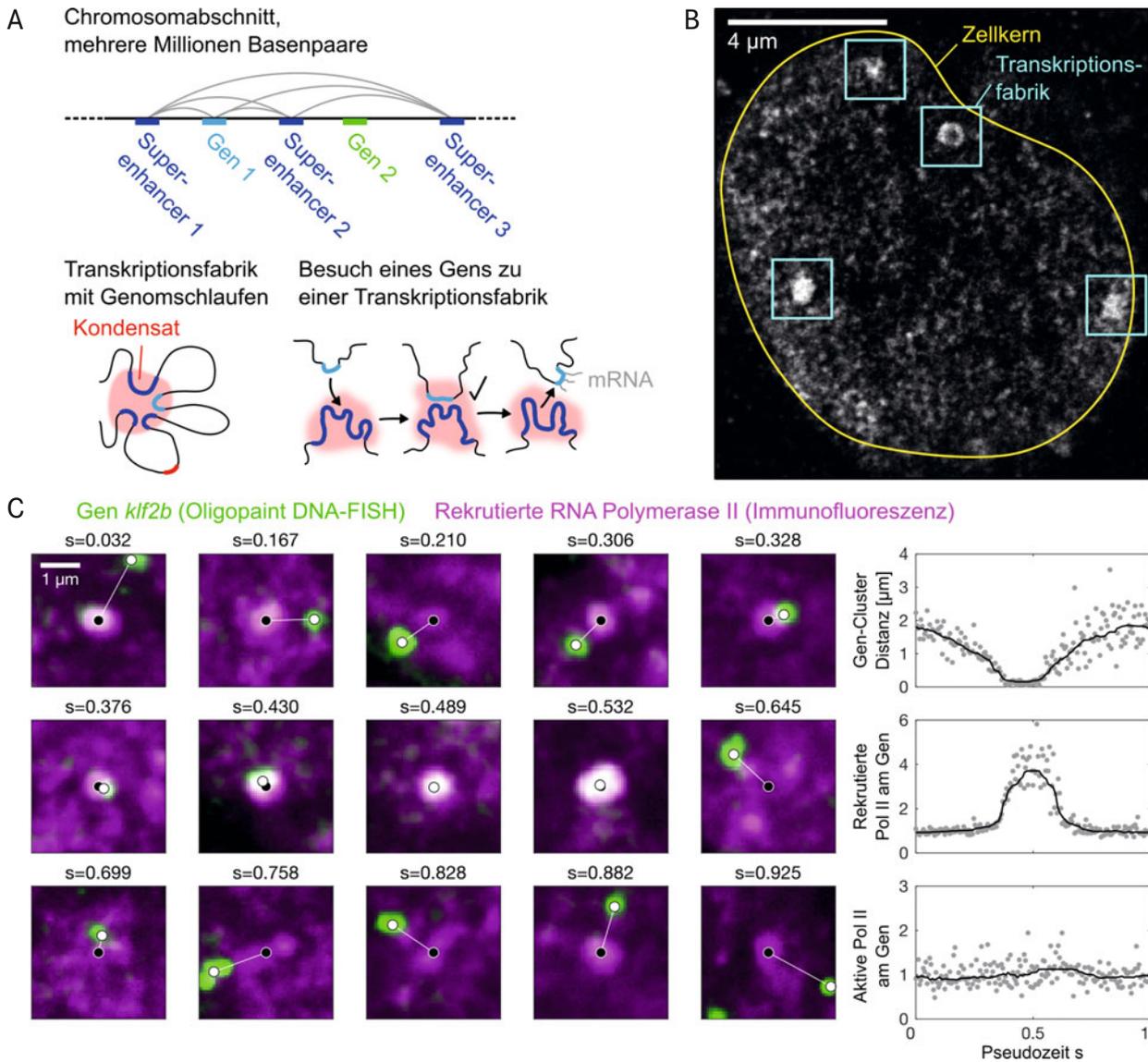
dung zwischen molekularen Spezies beruhen, gestaltet sich entsprechend schwierig. Es ist also gut vorstellbar, dass sich Transkriptionsfabriken ähnlich diesen Tropfen flexibel bei Bedarf ausbilden und mit klassischen molekularbiologischen Methoden nur schwer zu extrahieren sind.

Die Betrachtung von Transkriptionsfabriken als intrazelluläre, flüssigkeitsähnliche Kondensate hat in der Tat unser Verständnis ihrer Bildung und Funktionsweise maßgeblich erneuert. Viele molekulare Spezies, die an der Kontrolle des Gen-Auslesens beteiligt sind, neigen zur Bildung flüssigkeitsähnlicher Tropfen [5, 6]. RNA-Polymerase II – das Enzym, welches beinahe alle Gene in tierischen und pflanzlichen Zellen ausliest und in RNA transkribiert – durchläuft einen der Tröpfchenbildung ähnlichen Prozess, bevor sie den eigentlichen Auslesevorgang beginnt [7]. Auch für Transkriptionsfaktoren, die die Aktivierung und Deaktivierung bestimmter Gene steuern, wurde eine deutliche Tendenz zur Tröpfchenbildung festgestellt [8]. Diese Tendenz wurde auch in lebenden Zellen beobachtet, insbesondere in Stammzellen, wo RNA-Polymerase II und Transkriptionsfaktoren gemeinsam in ausgeprägten Kondensaten vorkommen (**Abb. 1B**, [5, 9]). So erlebt das ursprüngliche Konzept der Transkriptionsfabriken eine Renaissance, ermöglicht durch das neue Verständnis tropfenähnlicher Objekte in lebenden Zellen. Die Wichtigkeit dieses neuen Verständnisses

der Transkriptionsfabriken wird deutlich, wenn man es im Kontext der embryonalen Entwicklung und der nah verwandten Stammzellen betrachtet. In Stammzellen bilden sich im dreidimensionalen Raum Genschlaufen, die genetische Sequenzen zusammenführen, welche auf einem Chromosom weit voneinander entfernt liegen (**Abb. 1A**, [10]). Häufig verbinden diese Schlaufen Steuerungselemente (Enhancer) mit den von ihnen kontrollierten Zielgenen. Hier bilden mehrere Steuerungselemente die Grundlage für den Aufbau einer langlebigen Transkriptionsfabrik [11]. Diese langlebige Ansammlung von Steuerungselementen in einer Fabrik kann dann von verschiedenen Genen besucht werden (**Abb. 1C**, [12]). Diese Fabrik hält lokal hohe Konzentrationen von Transkriptionsfaktoren vor, um die Aktivierung von Genen zu steuern [5]. Nachdem Gene die Aktivierung durchlaufen haben, verlassen sie im aktiven Zustand die Fabrik, um das Auslesen der DNA-Sequenz außerhalb der Fabrik abzuschließen (**Abb. 1C**, [12–15]). Transkriptionsfabriken organisieren also die gezielte Aktivierung von Genen, indem sie die verschiedenen Steuerungselemente an einem Ort konzentrieren. Der Zugriff auf die DNA-Sequenzinformation unterschiedlicher Zielgene wird dann durch ein Hereinziehen in die Fabrik ausgeführt. In verschiedenen Zelltypen, z. B. in sich entwickelnden Embryonen, können so verschiedene Gene in diese Fabriken hineingezogen und deren Aktivierung effizient, aber präzise kontrolliert werden [16, 17].

Die Rekrutierung von Genen in Fabriken als Vorlage für DNA-basierten Arbeitsspeicher?

Hoch effizientes Lesen und Schreiben von Code ist auch in einem ganz anderen Fall bekannt – dem zentralen Prozessor eines Computers, oft auch CPU genannt. Die CPU stellt an nur einer Stelle eines elektronischen Computers hoch optimierte Lese- und Schreibhardware zur Verfügung. Diese Hardware kann dann in Hochgeschwindigkeit auf Anforderung mit jeder gewünschten Adresse



▲ **Abb. 1:** Transkriptionsfabriken als Knotenpunkte der Gensteuerung. **A,** Transkriptionsfabriken führen entfernte Steuerelemente (Super-Enhancer) und Zielgene zur Aktivierung zusammen. **B,** Mikroskopische Aufnahme von RNA-Polymerase II im Zellkern eines Zebrafischembryos, STED-Superauflösungsmikroskopie [9]. **C,** Die algorithmusbasierte Sortierung von Mikroskopiebildern in Pseudozeitreihen rekonstruiert den Besuch von Genen zu Clustern. Beispielbilder (links) zur Illustration und Auswertung eines gesamten Datensatzes (rechts) [12].

im Arbeitsspeicher (RAM) verbunden werden (**Abb. 2A**). Durch diese Architektur kann ein Speicher mit großer Kapazität flexibel mittels einer einzigen CPU genutzt werden und ein stringent kontrollierter Betrieb des Computers mit einem klar definierten Zustand ist gewährleistet.

DNA nicht nur als Informationsspeicher der Zelle, sondern auch als einen digitalen Code zu betrachten, ist seit der Entdeckung des genetischen Codes weit verbreitet. Man kann allerdings noch weiter gehen und Probleme, die in der Informatik als außergewöhnlich „teuer“ zu lösen gelten, in den genetischen Code übertragen. Die dramatische Beschleunigung der Lösung des berühmten „Traveling Salesman“-Problems bewies experimentell, dass bestimmte Klassen von Problemen durch Übertragung in

DNA-Sequenzen nicht nur prinzipiell lösbar sind, sondern auch deutlich schneller gelöst werden können [18]. Aus diesen frühen Arbeiten etablierte sich das Feld des DNA-Computing.

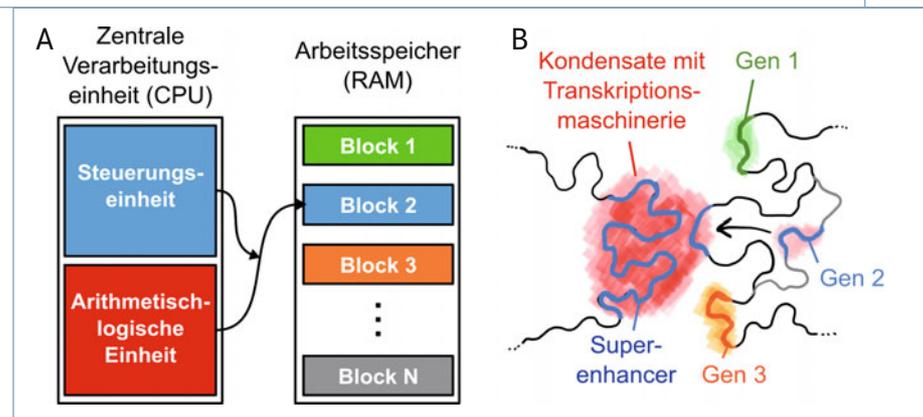
Die Fortschritte im DNA-Computing sind beeindruckend, allerdings stellen sich auch fundamentale Herausforderungen. Verlässliche und schnelle Berechnungen in konventionellen Computern beruhen auf dem Übertrag elektrischer Ladung durch metallische Verbindungen. Im starken Kontrast dazu ist zugängliche DNA in wässriger Lösung. Rechengvorgänge beruhen auf Biomolekülen, die in geringer Zahl in der Zufallsbewegung der Diffusion durch die wässrige Lösung „irren“, wodurch Berechnungen inhärent langsam und unzuverlässig werden. Diese physikalischen Rahmenbedingungen sind fundamentale Hindernisse

für die Konstruktion voll funktionsfähiger DNA-Computerhardware. Demgegenüber steht allerdings das hochgradig effiziente und verlässliche Auslesen von genetischem Code in Embryonen und Stammzellen, welches allem Anschein nach diese Hindernisse im Laufe der Evolution überwunden hat. Hier ist es also naheliegend, bei der Konstruktion eines gewünschten technischen Systems – des DNA-Computerchips – bei einem schon existierenden lebenden System – dem Zellkern – nach Inspiration zu suchen. Dieser Ansatz, von lebenden Systemen zu lernen, ist ein zentraler Teil des u. a. am Institut für Biologische und Chemische Systeme des Karlsruher Institut für Technologie (KIT) verankerten Förderprogramms *Natural, Artificial and Cognitive Information Processing* der Helmholtz-Gemeinschaft.

In der Tat weisen die oben beschriebenen Transkriptionsfabriken viele Eigenschaften auf, welche für die Interaktion einer CPU mit einem adressbasierten Arbeitsspeicher nötig sind (**Abb. 2A**). So sind in den Transkriptionsfabriken zentral alle entscheidenden Funktionen zur Kontrolle der Aktivierung von Genen vorgehalten (**Abb. 2B**). Bestimmte Gene können gezielt zu diesen Fabriken transportiert werden, während andere Gene nicht herangezogen werden (**Abb. 2B**). Eine logische Weiterentwicklung unserer Forschung an der Organisation und Funktionsweise der zellulären Transkriptionsfabriken ist also deren Übertragung in programmierbare, künstliche DNA-Systeme, welche der gleichen Architektur folgen.

DNA-Nanostrukturen als programmierbares Baumaterial

Die Implementierung von DNA-basierter Computerhardware bietet vielfältige Optionen und Anwendungsfälle. Besonders klinisch relevant sind Rechen- und Speichermodulare, die direkt in Zellen lebender Organismen integriert sind. Ein beeindruckendes Beispiel ist die Detektion und Weiterverarbeitung von Markern verschiedener Krebszelltypen im Rahmen eines DNA-basierten logischen Schaltkreises [19]. Ein weiteres Beispiel ist die Aufzeichnung zeitlicher Verläufe der Konzentrationen von Metaboliten oder Botenstoffen in künstliche Speicherbereiche des zellulären Genoms [20]. Im Kontrast hierzu stehen zellfreie Systeme, basie-



▲ **Abb. 2:** Die Architekturen elektronischer Computer sowie der Transkriptionsfabriken ermöglichen gezielten Zugriff auf verschiedene Speicheradressen. **A,** Von-Neumann-Rechnerarchitektur, in der eine CPU mit verschiedenen Blöcken in einem Arbeitsspeicher verbunden wird. **B,** Eine Transkriptionsfabrik hält zentral die molekulare Transkriptionsmaschinerie vor und kann selektiv Gene heranziehen.

rend auf kommerziell verfügbaren DNA-Bausteinen [21]. Durch Verzicht auf den zellulären Kontext ermöglichen diese Systeme Machbarkeitsstudien bestimmter Architekturen innerhalb mehrerer Wochen anstatt mehrerer Jahre. Auf diesem vereinfachten Ansatz aufbauend konnte unsere Arbeitsgruppe in den letzten zwei Jahren mehrere Aspekte der Architektur von Transkriptionsfabriken rekonstruieren.

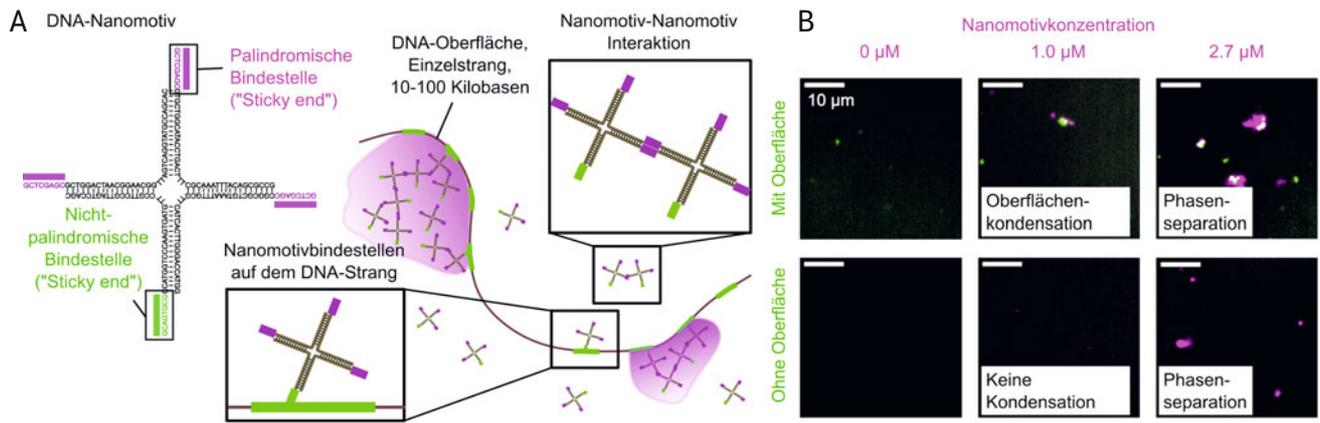
Der erste entscheidende Schritt zur Konstruktion einer Transkriptionsfabrik besteht in der Bildung einer molekularen Flüssigphase. Kürzlich entwickelte DNA-Nanostrukturen können durch Phasenseparation Tröpfchen erzeugen, die sich mithilfe programmierbarer DNA-Sequenzen gezielt mischen oder auftrennen lassen (**Abb. 3A**, [21, 22]). In unserer Forschung haben wir erfolgreich ein

auffälliges Verhalten von Transkriptionsfabriken nachgebildet. Fabriken, in denen viele Gene mit hoher Geschwindigkeit aktiviert und ausgestoßen werden, entfalten sich zunehmend [23]. Durch den Einsatz hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie, automatisierter Bildanalyse und Simulationen der DNA-Nanomotive konnten wir zeigen, dass Transkriptionsfabriken in pluripotenten Zebrafisch-Embryonen und künstliche DNA-Tröpfchen dieselben grundlegenden Verformungsprozesse durchlaufen. Dies liefert einen Prinzipienbeweis für das gezielte Nachbauen von Architekturen, die in den Zellkernen des Embryos beobachtet werden können.

Ein weiterer entscheidender Aspekt der Transkriptionsfabriken ist die selektive Einbringung von bestimmten Bereichen des Genoms. Ebenfalls in Zebrafisch-Embryonen

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ Abb. 3: Nachbau der Architektur von Transkriptionsfabriken mittels synthetischer DNA-Sequenzen. **A,** Das kondensierte Material einer Transkriptionsfarbik wird mittels Nanomotiven aus kurzen, künstlich hergestellten DNA-Strängen (DNA-Oligomere) nachgebaut. Diese Nanomotive haben programmierbaren Bindestellen für andere Nanomotive (magenta) und Zielbereiche von DNA-Strängen (grün). Diese Zielbereiche ermöglichen lokal die Bildung von Oberflächenkondensaten und bauen somit die Kondensatbildung an genomischen Steuerelementen nach. **B,** Bei geringen Konzentrationen bilden die Nanomotive nur dann Kondensate, wenn DNA-Stränge als Oberflächen gegenwärtig sind. In Abwesenheit solcher Oberflächen treten Kondensate nur bei höheren Konzentrationen auf. Bachelorarbeit Xenia Tschurikow [24] und Masterpraktikum Barbara Becker.

konnten wir zeigen, dass Transkriptionsfabriken durch gezielte Kondensation an entsprechend markierten Steuerelementen (Super-Enhancer) des Genoms entstehen (Abb. 1A, [9]). Diese Bereiche des Genoms weisen molekulare Markierungen auf, die zu einer Oberflächenkondensation führen, ähnlich dem Beschlagen einer kühlen Brille in einem warmen Raum. Dasselbe Prinzip der Oberflächenkondensation konnten wir nun auch für künstlich erzeugte DNA-Stränge anwenden (Abb. 3B). Hier besteht die Möglichkeit, mithilfe gezielt entworfener DNA-Zielsequenzen verschiedene Tröpfchenspezies an verschiedene DNA-Stränge zu binden. Dieser Vorgang ähnelt der Verbindung einer CPU mit bestimmten Speicherbereichen. Unsere Ergebnisse sind zwar erst kleine, aber doch klare Schritte zum Aufbau einer Architektur DNA-basierter Prozessoren oder Arbeitsspeicher. So zeigt sich, dass der Zellkern als ein von der Evolution „konstruiertes“ System in der Tat ein großes Potenzial als Vorlage für die Architektur zukünftiger DNA-basierter Computerhardware bietet.

Danksagung

Abstract wurde im Dialog mit ChatGPT 3.5 erzeugt und erste Autorenhfassung des Texts wurde mittels ChatGPT 3.5 gekürzt. Dank an Michael Hamsch für Kommentare. ■

Literatur

- [1] Iborra FJ, Pombo A, Jackson DA, Cook PR (1996) Active RNA polymerases are localized within discrete transcription “factories” in human nuclei. *J Cell Sci* 109:1427–1436
- [2] Eskiw CH, Rapp A, Carter DRF, Cook PR (2008) RNA polymerase II activity is located on the surface of protein-rich transcription factories. *J Cell Sci* 121: 1999–2007
- [3] Cook PR (1999) The Organization of Replication and Transcription. *Science* 284: 1790–1795

- [4] Shin Y, Brangwynne CP (2017) Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science* 357: eaaf4382
- [5] Cho WK, Spille JH, Hecht M et al. (2018) Mediator and RNA polymerase II clusters associate in transcription-dependent condensates. *Science* 361: 412–415
- [6] Lu H, Yu D, Hansen AS et al. (2018) Phase-separation mechanism for C-terminal hyperphosphorylation of RNA polymerase II. *Nature* 558: 318–323
- [7] Cho W K, Jayanth N, English BP et al. (2016) RNA Polymerase II cluster dynamics predict mRNA output in living cells. *Elife* 5: e13617
- [8] Morin JA, Wittmann S, Choubey S et al. (2022) Sequence-dependent surface condensation of a pioneer transcription factor on DNA. *Nat Phys* 18: 271–276
- [9] Pancholi A, Klingberg T, Zhang W et al. (2021) RNA polymerase II clusters form in line with surface condensation on regulatory chromatin. *Mol Syst Biol* 17: e10272
- [10] Kempfer R, Pombo A (2020) Methods for mapping 3D chromosome architecture. *Nat Rev Genet* 21: 207–226
- [11] Espinola SM, Götz M, Bellec M et al. (2021) Cis-regulatory chromatin loops arise before TADs and gene activation, and are independent of cell fate during early *Drosophila* development. *Nat Genet* 53: 477–486
- [12] Hajjibadi H, Mamontova I, Prizak R et al. (2022) Deep-learning microscopy image reconstruction with quality control reveals second-scale rearrangements in RNA polymerase II clusters. *PNAS Nexus* 1: pgac065
- [13] Guo YE, Manteiga JC, Henninger JE et al. (2019) Pol II phosphorylation regulates a switch between transcriptional and splicing condensates. *Nature* 572: 543–548
- [14] Li J, Hsu A, Hua Y et al. (2020) Single-gene imaging links genome topology, promoter–enhancer communication and transcription control. *Nat Struct Mol Biol* 27: 1032–1040
- [15] Henninger JE, Oksuz O, Shrinivas K et al. (2021) RNA-Mediated Feedback Control of Transcriptional Condensates. *Cell* 184: 207–225.e24
- [16] Ghavi-Helm Y, Klein FA, Pakozdi T et al. (2014) Enhancer loops appear stable during development and are associated with paused polymerases. *Nature* 512: 96–100
- [17] Winick-Ng W, Kukalev A, Harabula I et al. (2021) Cell-type specialization in the brain is encoded by specific long-range chromatin topologies. *Nature* 599: 684–691
- [18] Liu Q, Wang L, Frutos AG et al. (2000) DNA computing on surfaces. *Nature* 403: 175–179

- [19] Tang W, Liu DR (2018) Rewritable multi-event analog recording in bacterial and mammalian cells. *Science* 8992: eaap8992
- [20] Yang Q, Yang F, Dai W et al. (2021) DNA Logic Circuits for Multiple Tumor Cells Identification Using Intracellular MicroRNA Molecular Bispecific Recognition. *Adv Healthc Mater* 10: 1–8
- [21] Sato Y, Sakamoto T, Takinoue M (2020) Sequence-based engineering of dynamic functions of micrometer-sized DNA droplets. *Sci Adv* 6: eaba3471
- [22] Tran MP, Chatterjee R, Dreher Y et al. (2023) A DNA Segregation Module for Synthetic Cells. *Small* 19: e2202711
- [23] Tschurikow X, Gadzekpo A, Tran MP et al. (2023) Amphiphiles formed from synthetic DNA-nanomotifs mimic the dispersal of transcriptional clusters in the cell nucleus. *Nano Lett* 23: 7815–7824
- [24] Tschurikow X (2022) Mimicking subcellular cluster formation via surface condensation with synthetic DNA nanomotifs and surface structures. Bachelorarbeit, Karlsruher Institut für Technologie.

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Junior-Prof. Dr. Lennart Hilbert
 Karlsruher Institut für Technologie
 Zoologisches Institut & Institut für Biologische und Chemische Systeme
 Kaiserstraße 12
 D-76131 Karlsruhe
 lennart.hilbert@kit.edu

AUTOR



Lennart Hilbert

2005–2014 Physikstudium, wissenschaftliche Arbeit und Promotion. 2005–2014 Physikstudium an der Universität Bremen, wissenschaftliche Arbeit und Promotion in der Physiologie, McGill University, Montreal, Kanada. 2014–2018 PostDoc am Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik und am Max-Planck-Institut für Physik komplexer Systeme. Seit 2018 Tenure-Track-Professor für Systembiologie/Bioinformatik, Zoologisches Institut & Institut für Biologische und Chemische Systeme, Karlsruher Institut für Technologie (KIT).