

# Medicínské aspekty epigenetiky



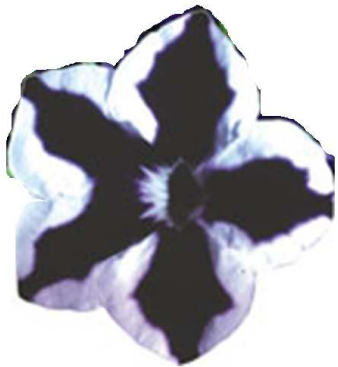
**Boris Vyskot**

**Oddělení vývojové genetiky, Biofyzikální ústav AV ČR v Brně**

**Negeneticky kódovaná informace  
(tj. mimo sekvence nukleotidů) je**

**přenášena mitoticky v průběhu ontogeneze  
a/nebo do (fenotypu) pohlavního potomstva.**

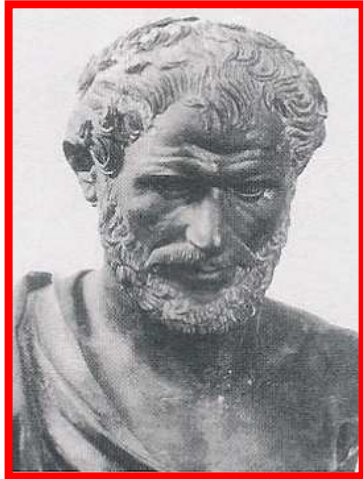
## Negeneticky kódovaná informace (tj. mimo sekvence nukleotidů) je



*s neurčitou pravděpodobností,  
tj. s neúplnou penetrancí  
a/nebo variabilní expresivitou*



**přenášena mitoticky v průběhu ontogeneze  
a/nebo do (fenotypu) pohlavního potomstva.**



**Aristoteles**  
**(384-322 př.Kr.)**

## **EPIGENEZE**

**individuální vývoj organismů spočívá  
v *postupném vzrůstu jejich complexity***

## **EPIGENETIKA**

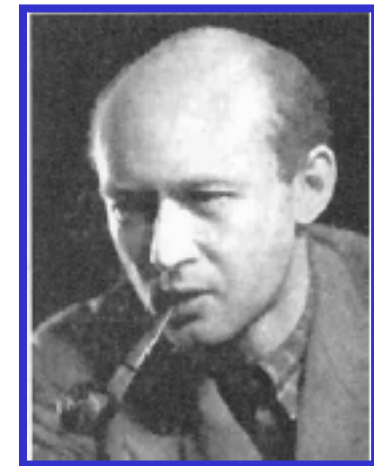
**kombinuje ...**

***preformistickou genetiku***

**(studium dědičného materiálu  
nacházejícího se v zygotě)**

**a *vývojovou biologii***

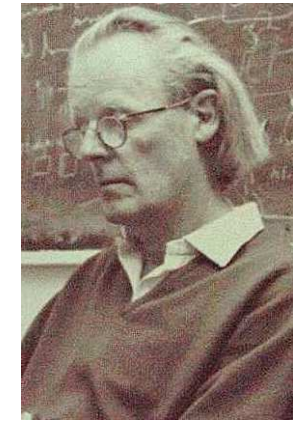
**(studium změn, ke kterým dochází  
v postzygotickém období - epigeneze)**



**Conrad Waddington**  
**(1905-75)**



# EPIGENETICKÉ JEVY PŘEDSTAVUJÍ VÝJIMKY Z MENDELOVÝCH ZÁKONŮ



**Gregor Mendel**  
(1822-1884)

**John Maynard Smith**  
(1920-2004)

Princip NEZÁVISLÉ SEGREGACE ALEL : dvě odlišné alely – paternálního a maternálního původu – v heterozygotu při meiose segregují a v nezměněné podobě se přenášejí do potomstva .....

..... Alely se mohou podrobovat vzájemným interakcím, které mají za následek dědičnou změnu jejich exprese : PARAMUTACE

Pravidlo IDENTITY RECIPROKÝCH KŘÍŽENÍ : pohlaví rodičů nemá vliv na dědičnost (expresi) genu .....

..... Některé genomy, chromosomy či lokusy jsou v průběhu gametogeneze sex-specificky reverzibilně modifikovány, což vede k jejich umlčení ve filiální generaci : PARENTÁLNÍ IMPRINTING



## **Robin Holliday**

***Nová teorie karcinogeneze***

**(Brit J Cancer, 1979)**

***Dědičnost epigenetických defektů***

**... a new definition of epigenetics ...**

**(Science, 1987)**

# Andrew P. Feinberg and Bert Vogelstein (Nature, 1983)



***Hypometylace DNA rozlišují některé nádory člověka od normálních tkání***

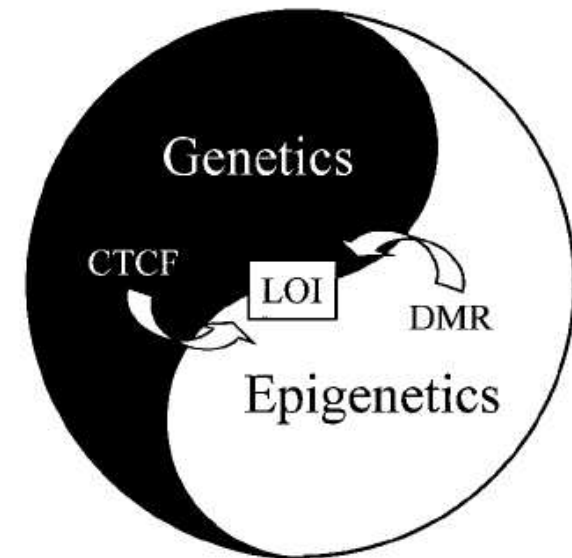
## Cancer epigenetics takes center stage

Andrew P. Feinberg

Institute of Genetic Medicine, Departments of Medicine, Molecular Biology and Genetics, and Oncology, Johns Hopkins University School of Medicine, 1064 Ross, 720 Rutland Avenue, Baltimore, MD 21205

**N**ext year will mark 20 years since I developed a Southern blot showing altered DNA methylation in cancer. This discovery (1) was met with some skepticism, primarily because it was thought that aberrant methylation in cancer was an epiphenomenon, somehow linked to a generalized disruption of gene regulation in cancer cells and arising after the cancer, rather than playing a causal role itself. This essay will address how cancer epigenetics has overcome these objections, and a report in this issue by Nakagawa *et al.* (2) adds significantly to this argument.

methylation of CpG islands (5), CpG-rich sequences in the promoters of housekeeping genes that are generally protected from methylation. This hypermethylation may lead to aberrant silencing of tumor suppressor genes (6). In addition, we and others have discovered loss of imprinting (LOI) in cancer (7, 8). Genomic imprinting, the subject of the report by Nakagawa *et al.* (2), is an epigenetic modification of a specific parental allele of a gene, or the chromosome on which it resides, in the gamete or zygote, leading to differential expression of the two alleles of the gene in





OBJEV ROKU 1984

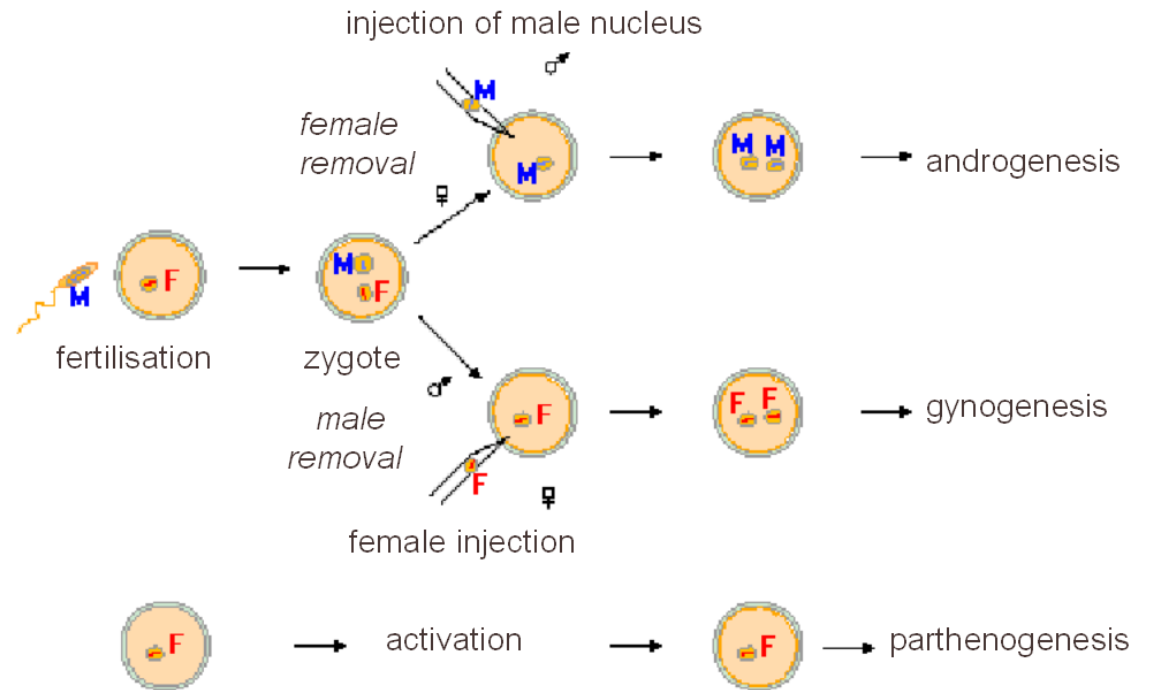
# GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING



**Davor Solter**  
(Philadelphia)



**Azim Surani**  
(Cambridge)







**Richard B. Goldschmidt**

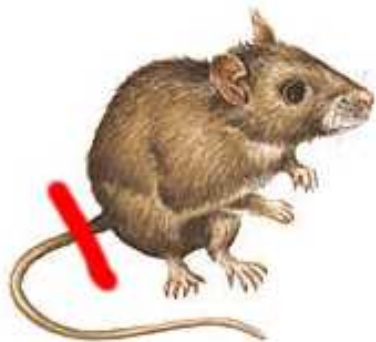
***Evoluce spočívá ve zdědění  
změn individuálního vývoje***



**John Maynard Smith**

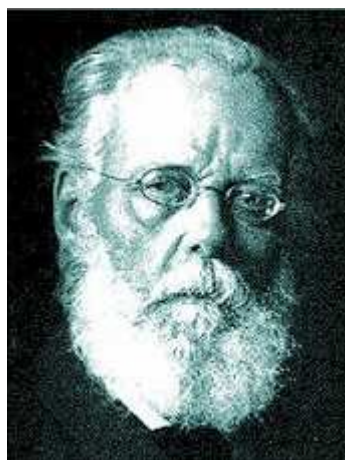
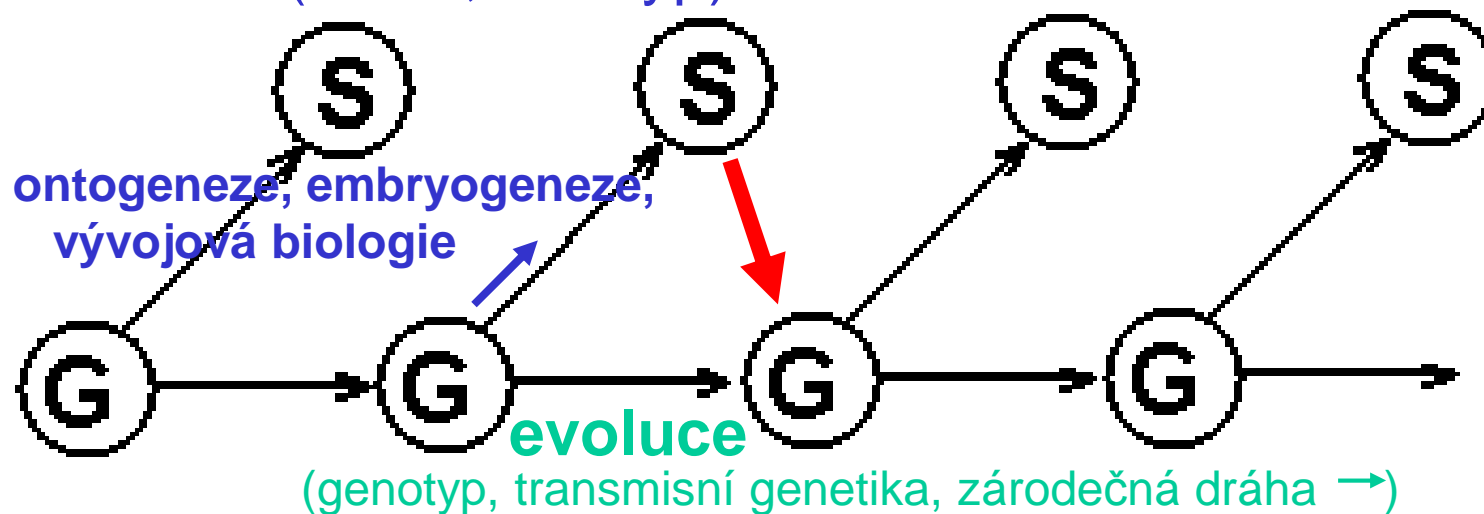
***Modely duálního  
systému dědičnosti***

**... the role of epigenetics in evolution ...**



Po selekci se dědí (přenáší) genotyp,  
selekce se však realizuje na bázi fenotypu ...

(soma, fenotyp)



“Weismannova bariéra” (1889): somatické změny získané v průběhu života neovlivňují reprodukční buňky či potomstvo

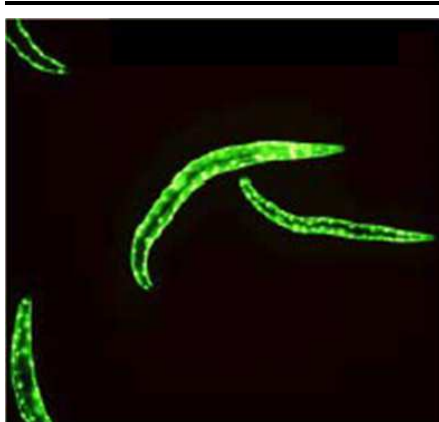
Rostliny a nižší živočichové tuto bariéru nemají !



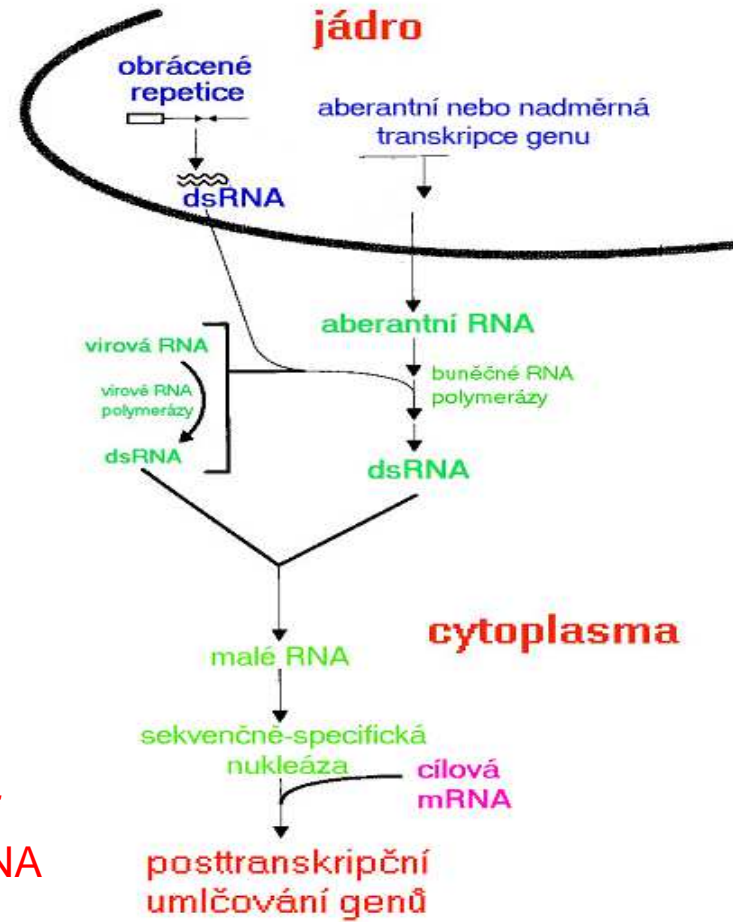
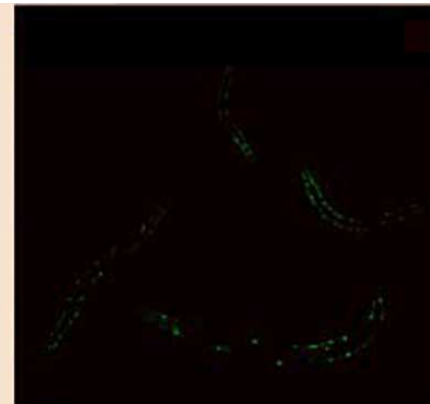
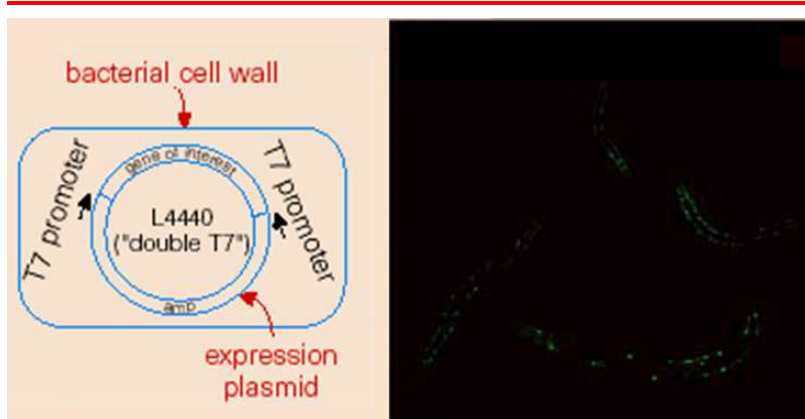
Craig Mello,  
Andrew Fire

# 2006: NOBELOVA CENA SELEKTIVNÍ UMLČOVÁNÍ GENŮ PROSTŘEDNICTVÍM dsRNA INTERFERENCE

červi *Caenorhabditis* tvořící  
fluoreskující protein



*Escherichia coli*  
produkující dsRNA



## *Prolog*

**Genetika je podstatně složitější než jsme si mysleli.**

**Současný pokrok v epigenetice oživuje  
filozofii zatracovaného Lamarcka.**

**Bude rehabilitováno kacírství ?**

**GENETIKA**  
nauka o dědičnosti  
znaků či vloh,  
*přenos informace*

**klasická genetika na  
bázi „naivních“ genů  
/DNA (Mendel, Weismann,  
Watson, Crick)**

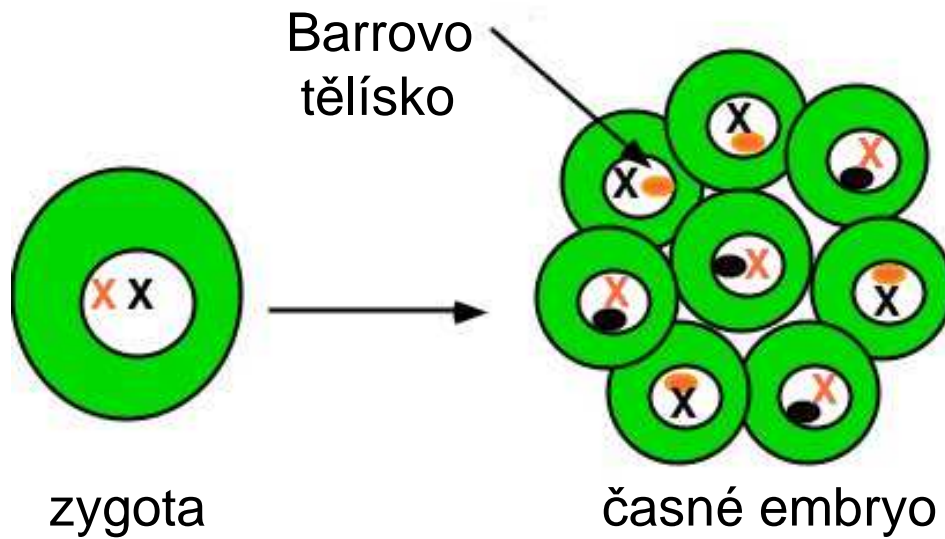
**epigenetika  
na bázi „jiné“ informace  
(dědičnost stavů regulace exprese  
genů: Waddington, Holliday)**



Murray Barr  
(1949)

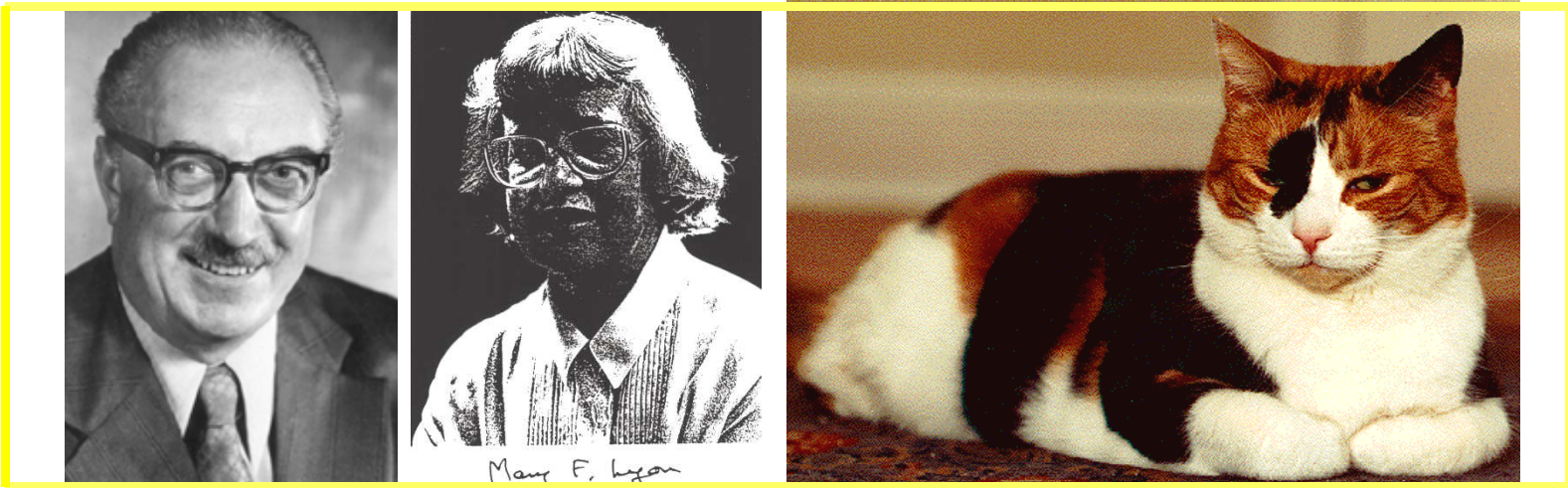
Mary Lyon  
(1961)

X-vázaný gen pro pigment



**(Ne)náhodná heterochromatinisace jednoho chromosomu X  
u samic savců**

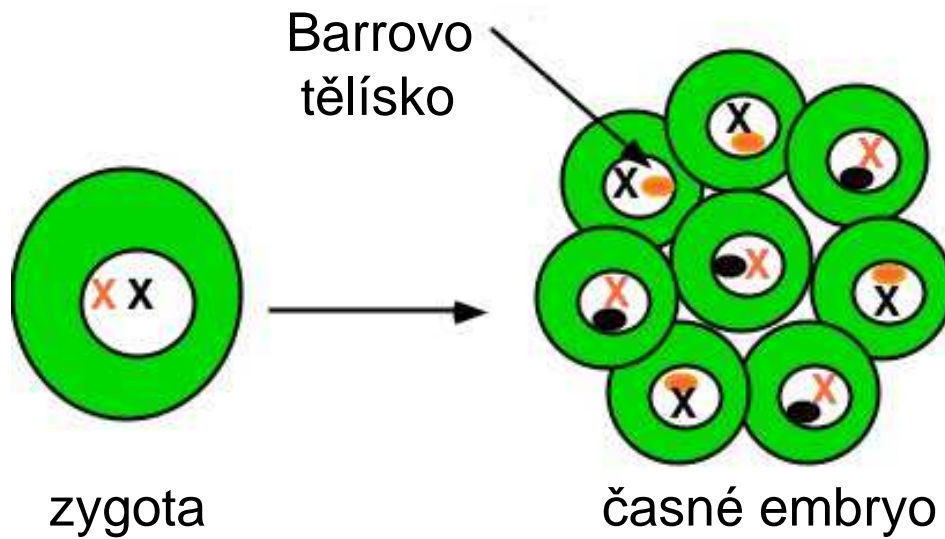




Murray Barr  
(1949)

Mary Lyon  
(1961)

X-vázaný gen pro pigment



**(Ne)náhodná heterochromatinisace jednoho chromosomu X u samic savců**





Jak se jmenovala první klonovaná kočka získaná přenosem jádra do vaječné buňky ?

- Zita
- Žofie
- Marie-Terezie
- Sisi

# Proč se klonované kočky říkalo SiSi?

- „cc“ (cloned cat)
- „cc“ (anglický výraz pro „čiči“)
- „cc“ (carbon copy)
- pocta manželce císaře Františka-Josefa

matka



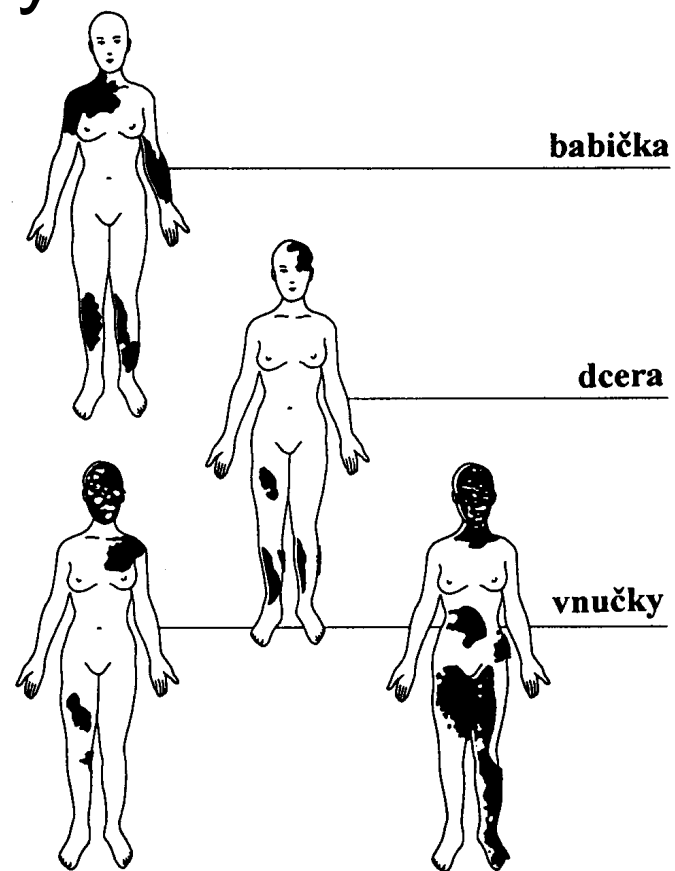
dcera SiSi

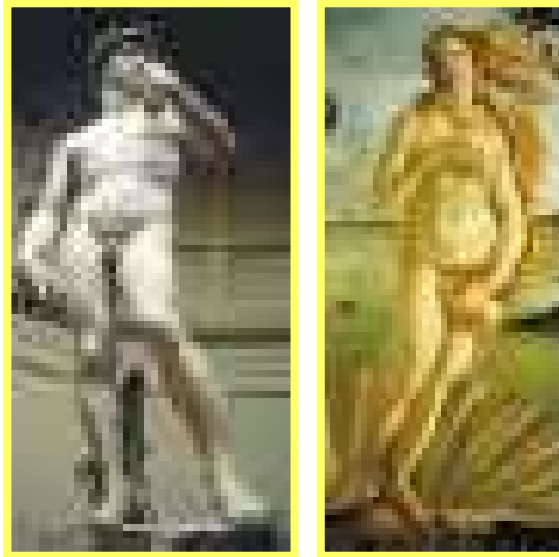


náhradní matka



- Náhodná inaktivace jednoho chromozomu X (maternálního resp. paternálního) v somatických buňkách samic savců (lyonizace, Barrovo tělísko)

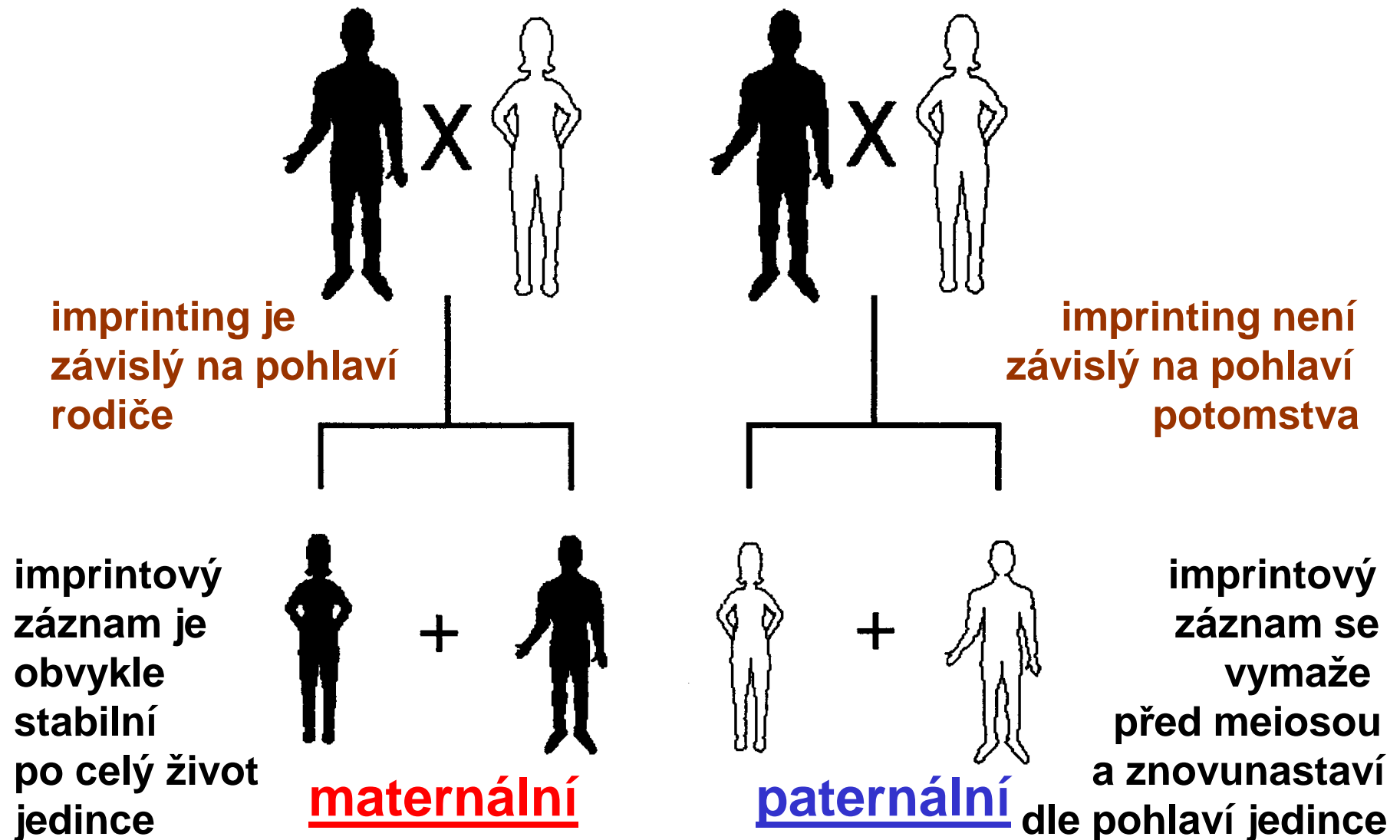


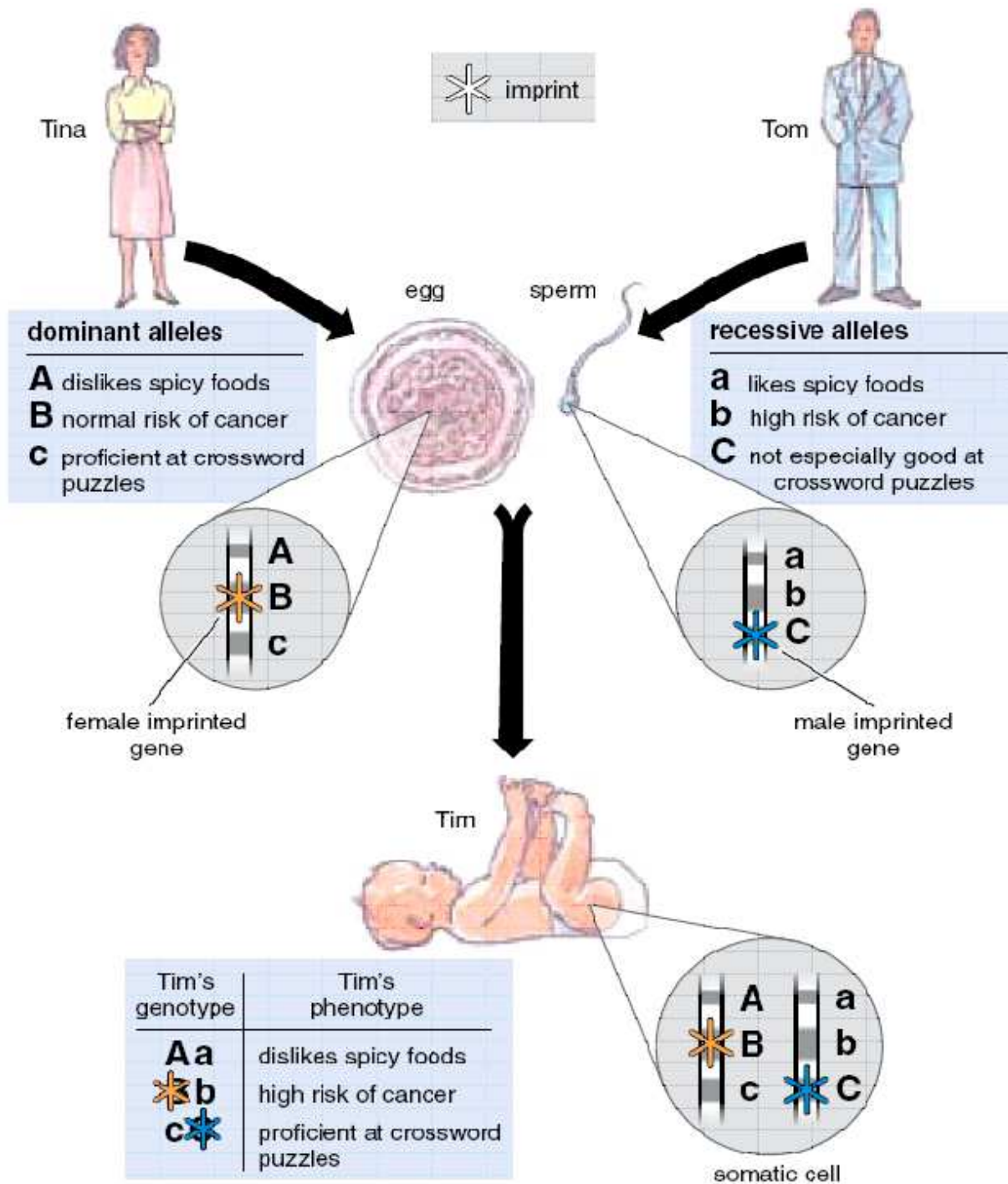


## **GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING**

- ⇒ **pohlavně specifická modifikace genů v parentální generaci vede k funkčním rozdílům mezi paternálním a maternálním genomem (alelami) v potomstvu**

# Parentální imprinting je reversibilní umlčování genů ve filiální generaci způsobené modifikací chromatinu





# Dědičnost řídí epigenetika i mendelismus

... některé geny se dědí mendelisticky (A/a, dominance versus recesivita)

... jiné jsou imprintovány (dědičnost závisí na pohlaví rodiče z kterého je alela přenášena  
 – b paternálně,  
 - c maternálně)



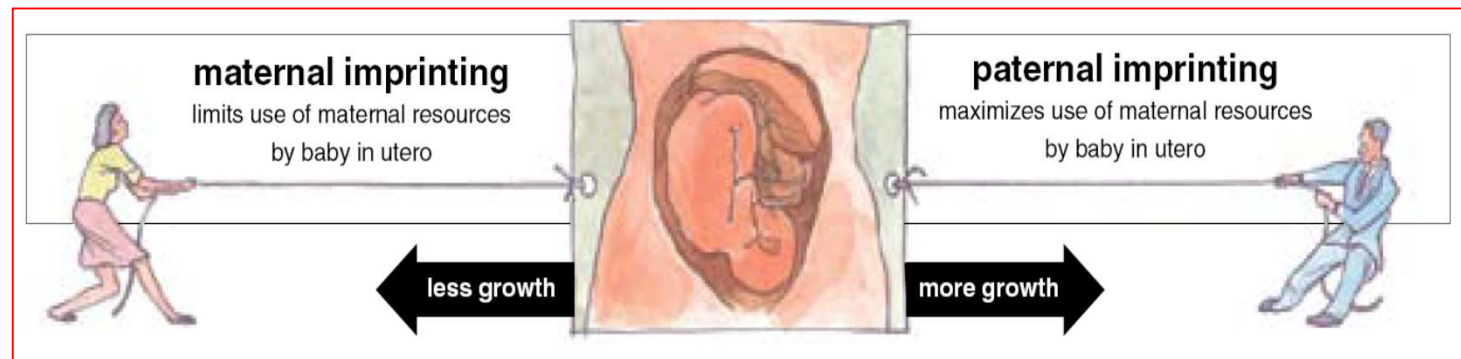
# Teorie parentálního konfliktu

*souboj mezi matkou a potomstvem in utero*

**paternálně exprimované geny** podporují prenatální růst  
**maternálně exprimované geny** jsou růstovými supresory



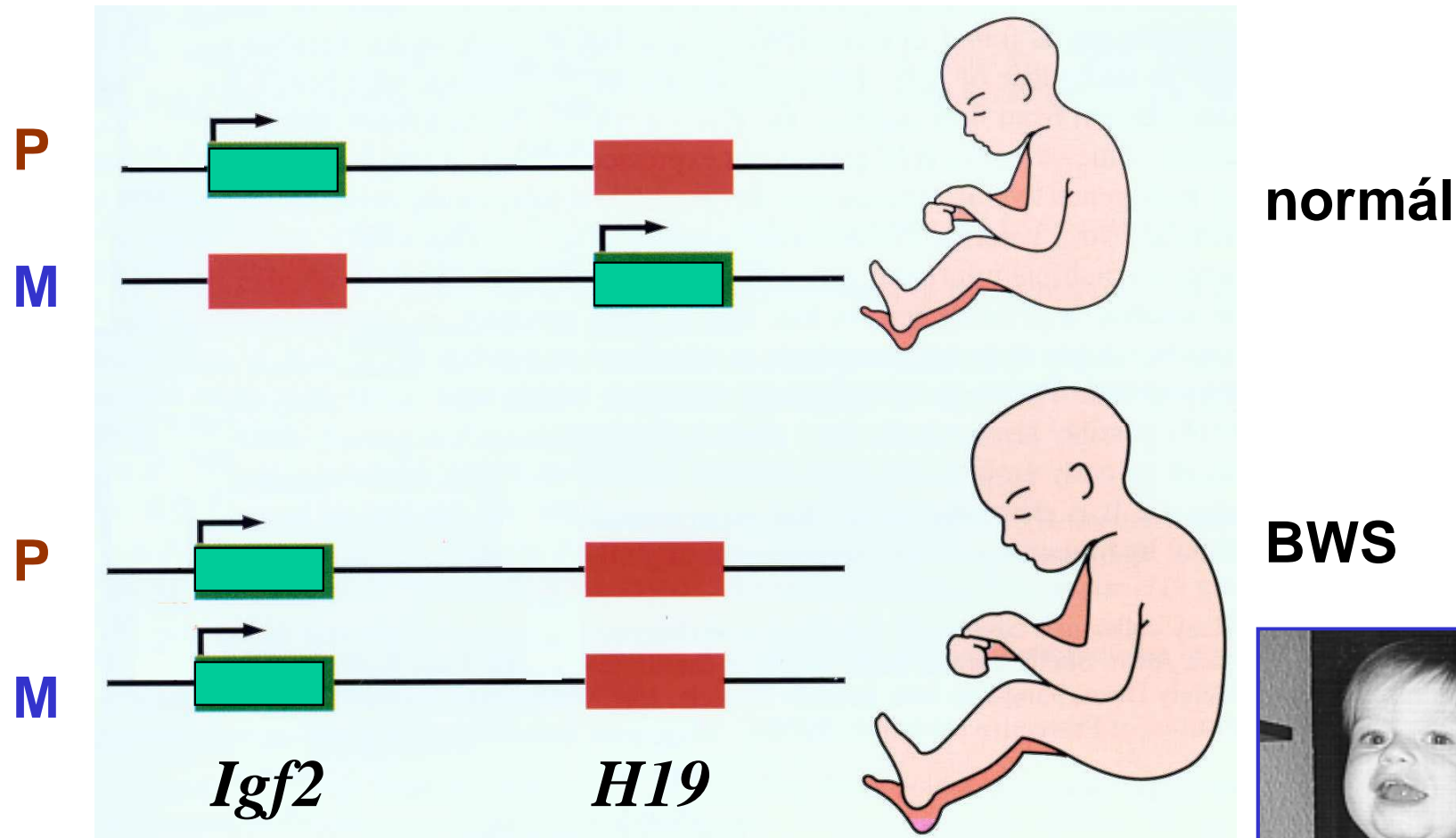
David Haig  
(Harvard 1991)



**vítězná MATKA :**  
***pohádka o Palečkovi***

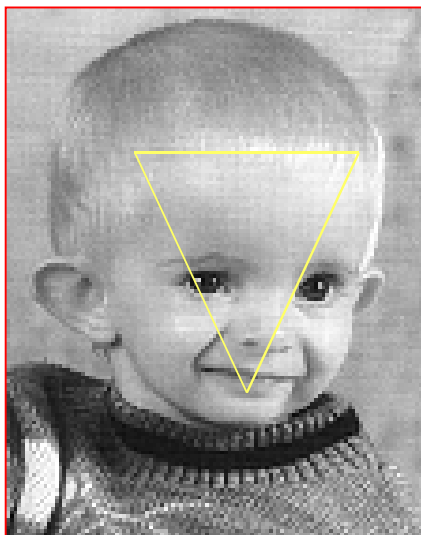
**vítězný OTEC :**  
***pohádka o Otesánkovi***

**Chybný imprint P-alely (insulinový růstový faktor) či M-alely (růst suprimující H19-RNA) vede k Beckwith-Wiedemannově syndromu (aneb příběh Otesánka)**



## Russell-Silverův syndrom : maternální disomie chromosomu 7

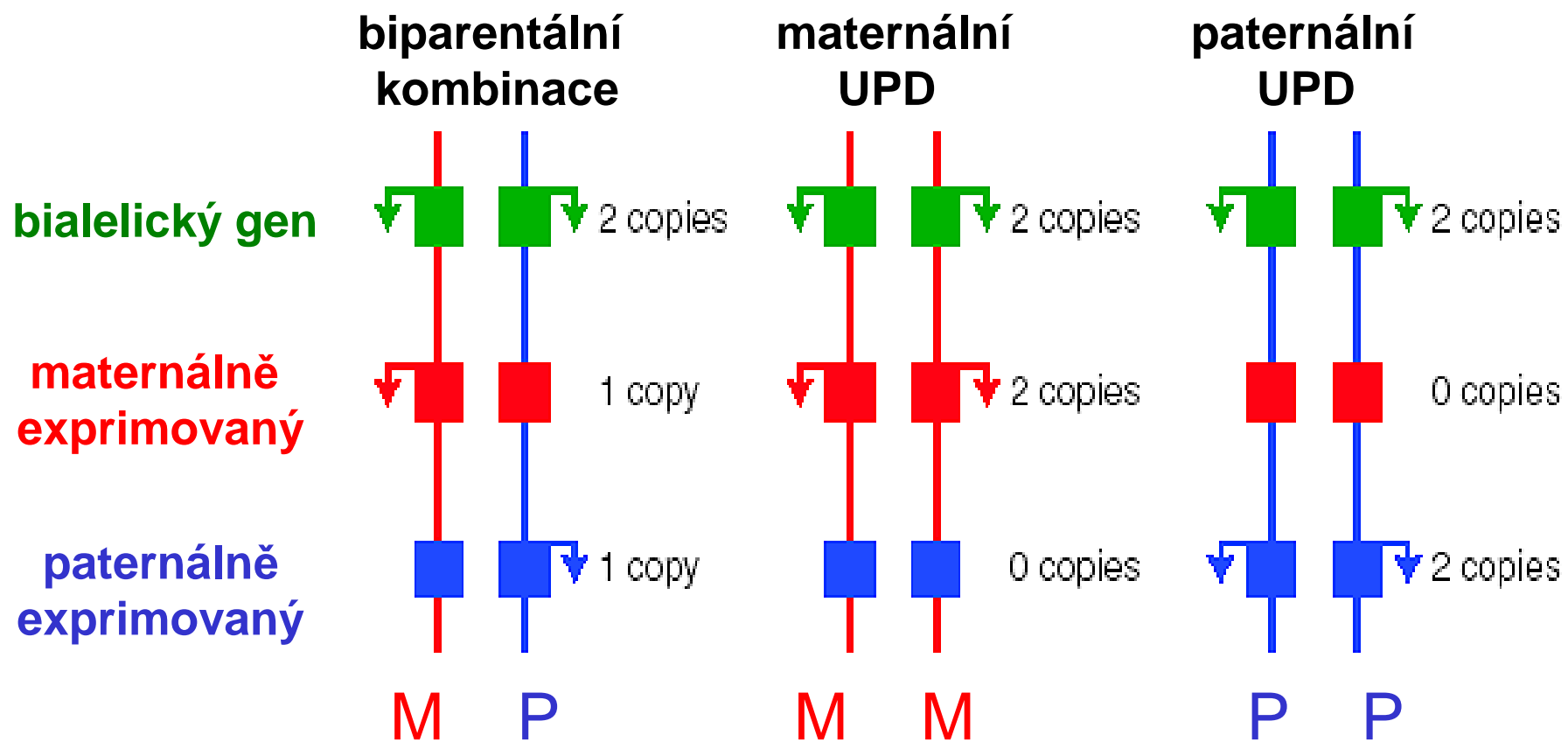
- růstová retardace *in utero*
- postnatální růstová deficience
- asymetrický dwarfismus



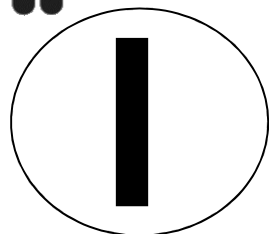
**POTLAČUJE MATKA  
VÝVIN SVÝCH DĚTÍ ?**

**aneb příběh Palečka**

# Genomový imprinting a uniparentální disomie

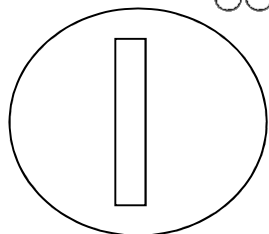
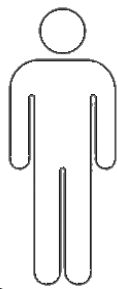


(a)

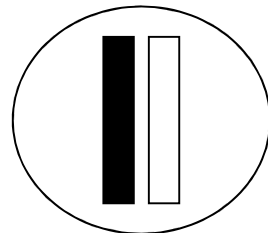


oocyt

+

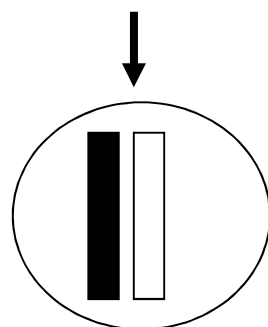


spermie



diploidní

zygota



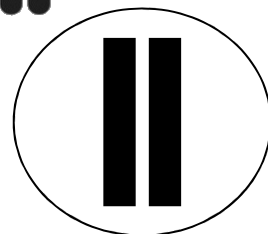
embryogeneze

standardní



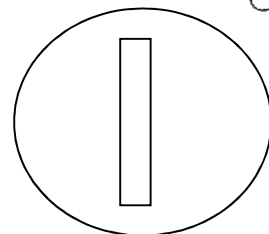
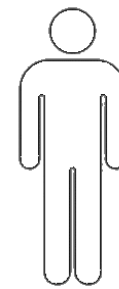
vzrůst

(b)

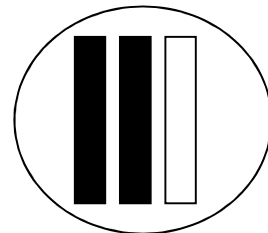


oocyt

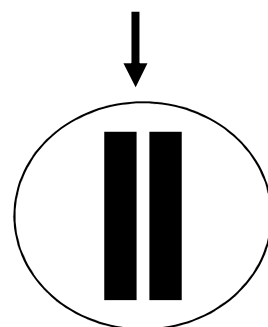
+



spermie



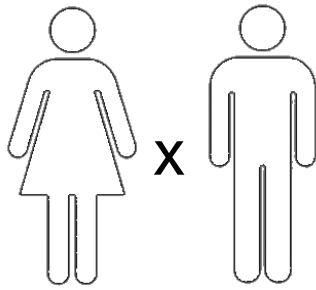
trizomická



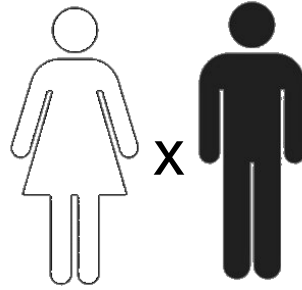
maternální  
dizomie



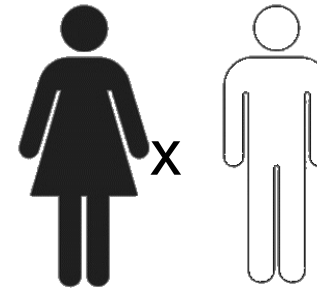
trpasličí



oba rodiče zdraví

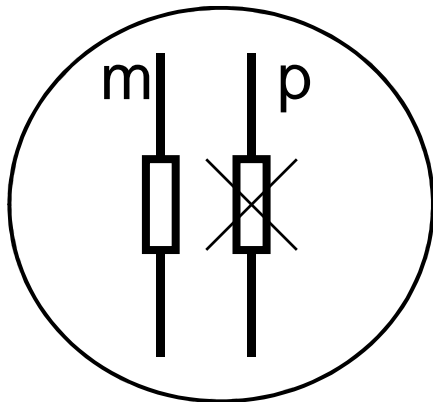


mutantní otec

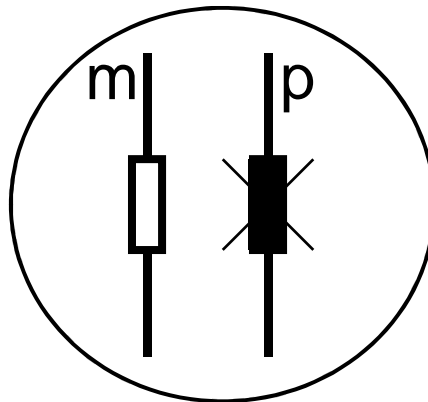


mutantní matka

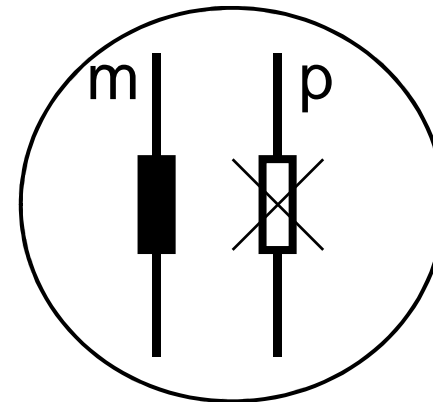
paternální imprinting lokusu ve filiální generaci



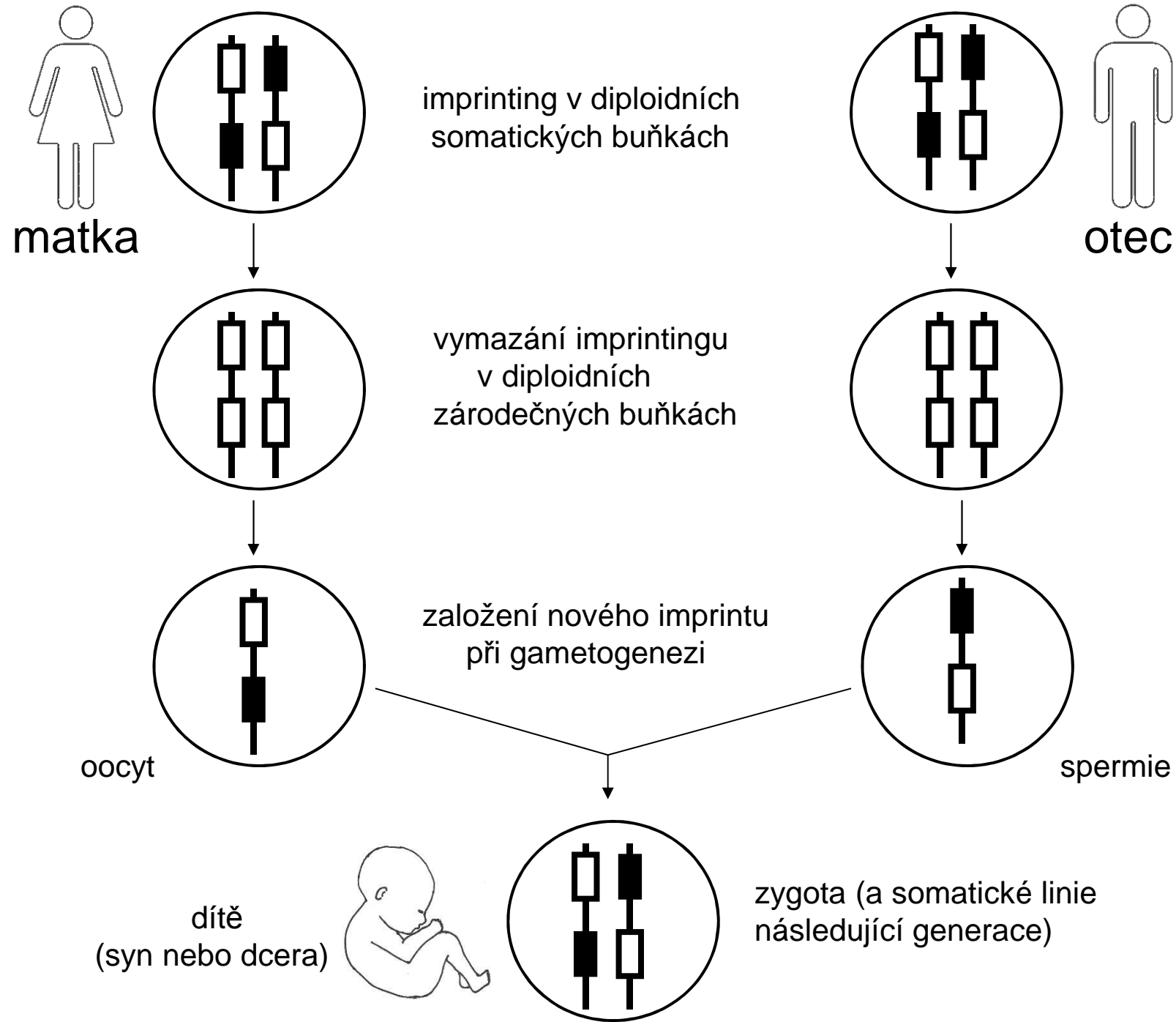
zdravé dítě



dítě – přenašeč



postižené dítě

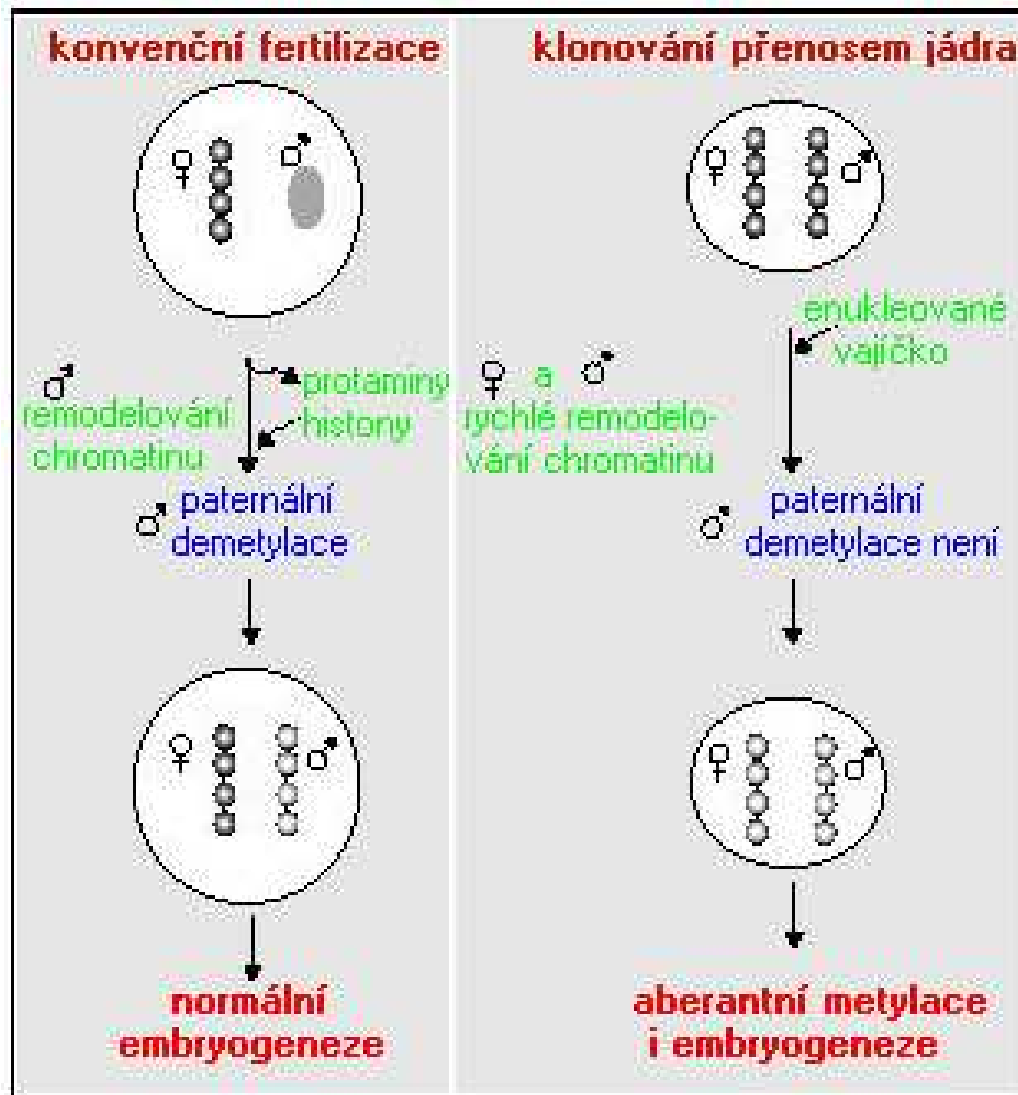






**„Maternální“ Kaguya (Nature 428: 860, 2004):  
vyřazení imprintovaných genů může vést k vývinu  
plodné myši partenogenetického původu**

# Klonování savců vede k poruchám imprintingu



Rudolf Jaenisch  
... imprinting



Severino Antinori  
... klonování

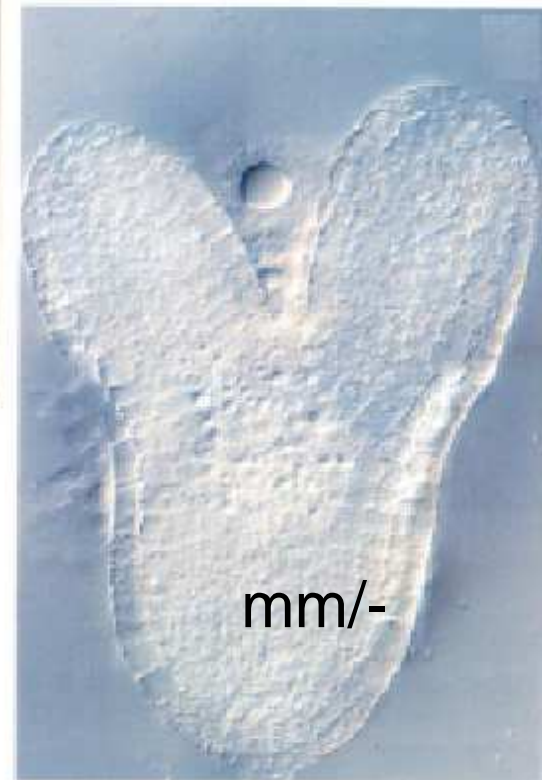
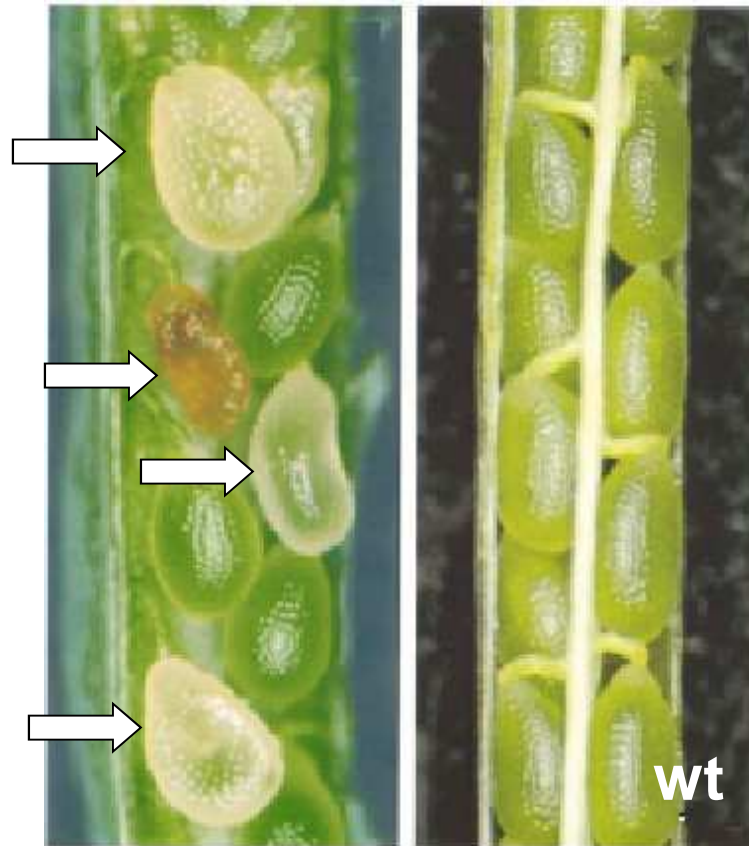
# Parentální imprinting u rostlin : maternální efekt genu

## **MEDEA**

... příběh  
Otesánka



Ueli Grossniklaus  
(Zurich 1998)



wt-alela: kontrola (redukce)  
embryonální proliferace

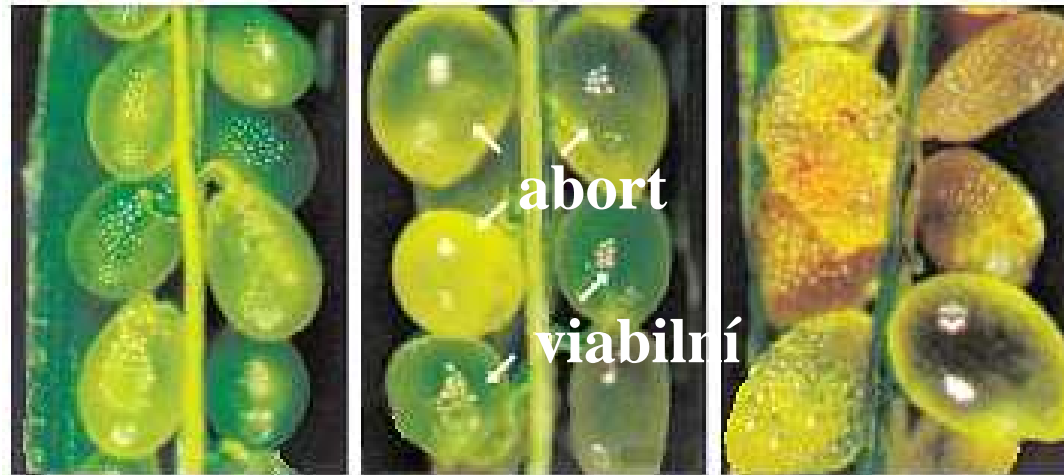


## *DEMETER* řídí maternální expresi genu *MEDEA* (DNA glykosyláza)

*DME / DME*

*dme / DME*

*dme / dme*

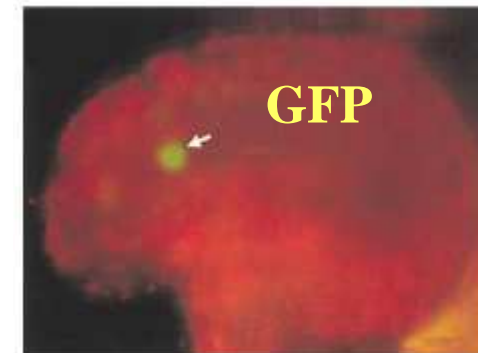


Steve Jacobsen  
(UCLA 2002)



GUS

exprese  
v centrální  
buňce  
samičího  
gametofytu



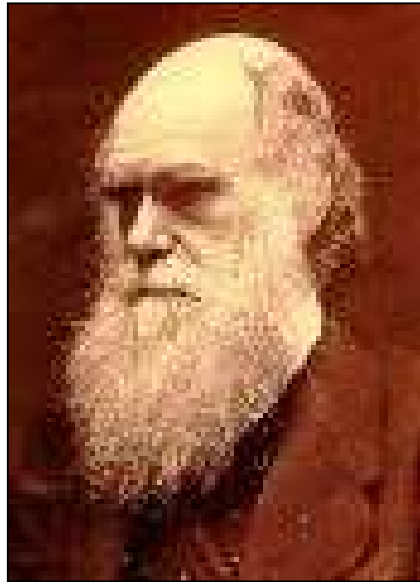
GFP



# Vznik a dědičnost rostlinných monster (epimutace)



**Carl Linnaeus**  
(1744)



**Charles Darwin**  
(1868)

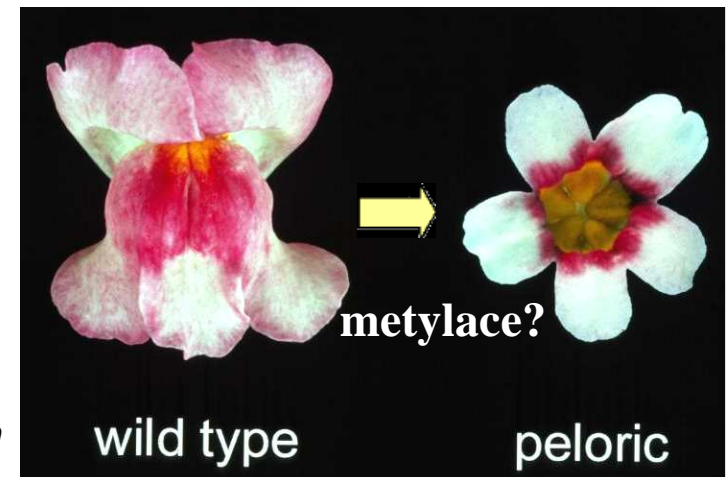


**Enrico Coen**  
(1999)

**Linnaeus** ... pelorie u Inice, historicky první doložená mutace?

**Darwin** ... křížení normálních a pelorických forem v F2 127:37 (*Variation of Animals and Plants under Domestication*)

**Coen** ... hypermetylace homologu genu *Cycloidea*



## Beckwith-Wiedeman

Parentální imprinting  
růstových faktorů:

převaha otce (chr11)



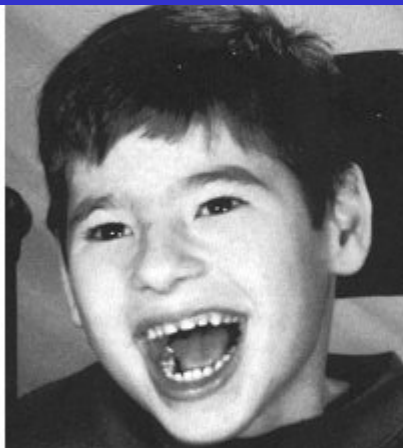
## Russel-Silver

převaha matky (chr7)

## Prader-Willi

Parentální imprinting  
genového shluku (ch15):

paternální delece



## Angelman

maternální delece

## Martin-Bell

X-chromosom vázané  
mentální retardace:

metylace CGG



## Rett

mC-vazebný protein

## ***Příklad maternálního imprintingu***

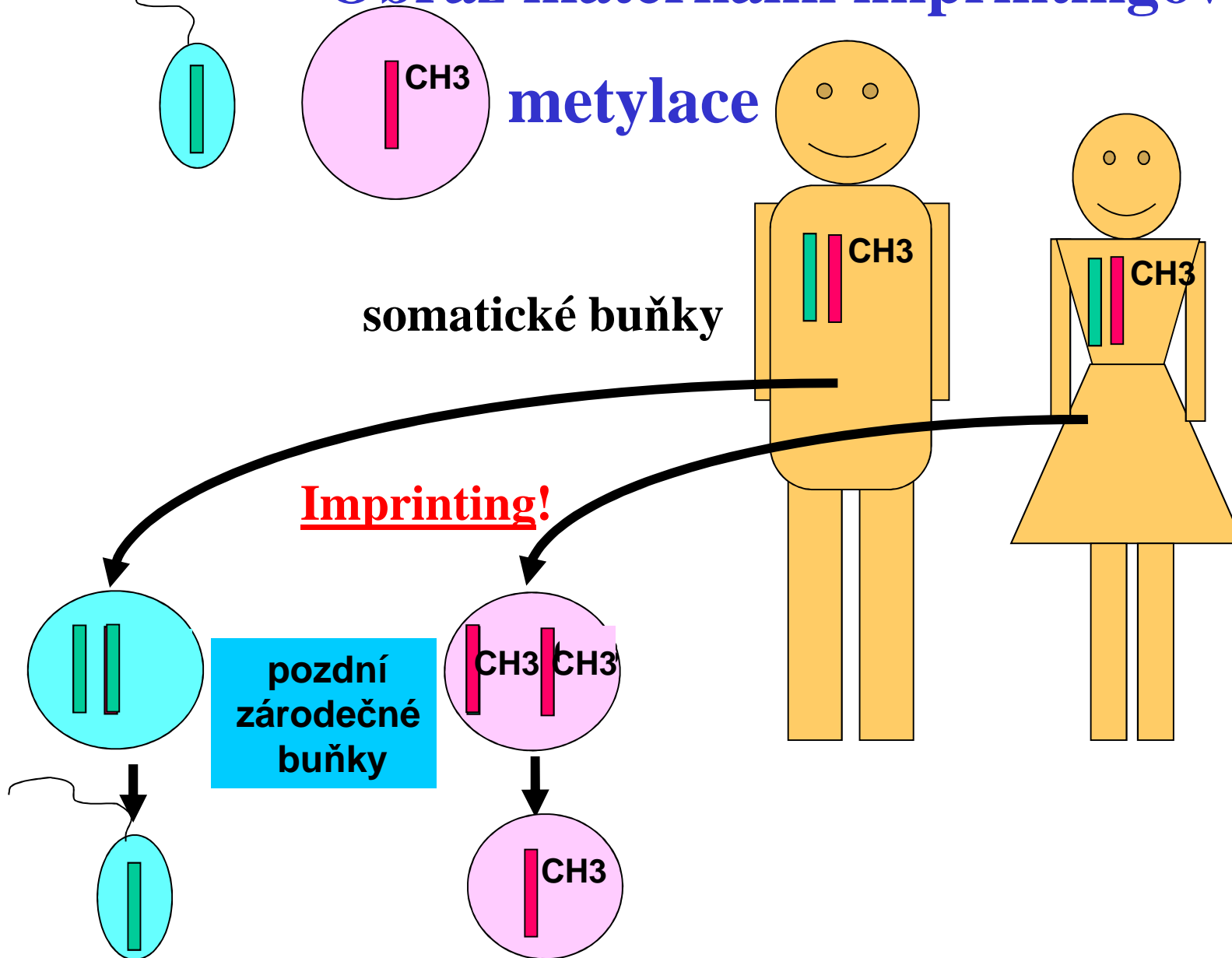
### ***Prader-Willi:***

V prezentovaném příkladu je metylována (a umlčována = imprintována) maternálně zděděná alela. Paternální alela metylována není a je standardně exprimována.

V jiných lokusech tomu může být obráceně: maternálně zděděná alela metylována není, zatímco paternální alela je metylována a umlčována.

rodiče

# Obraz maternální imprintingové







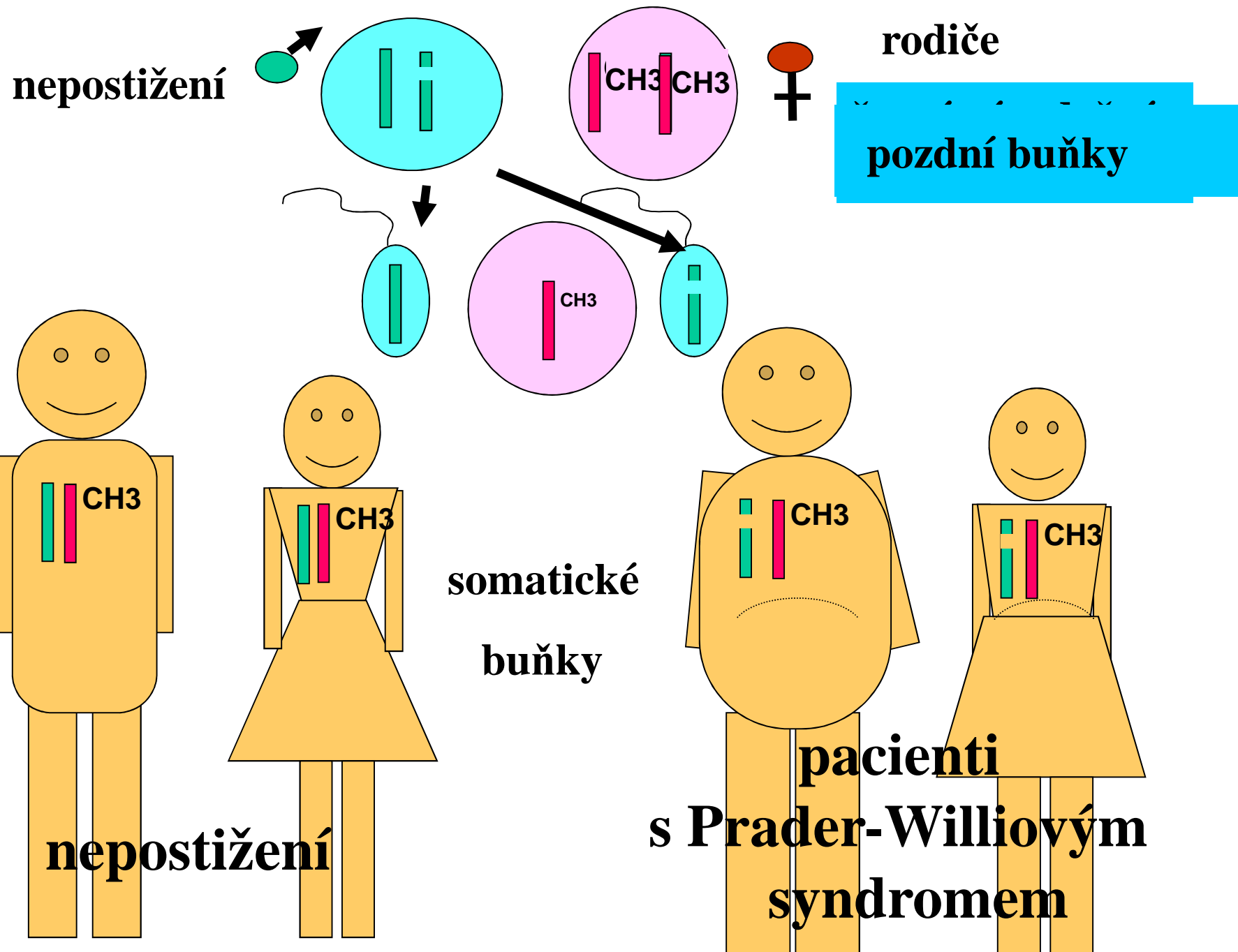
## Prader-Williův syndrom

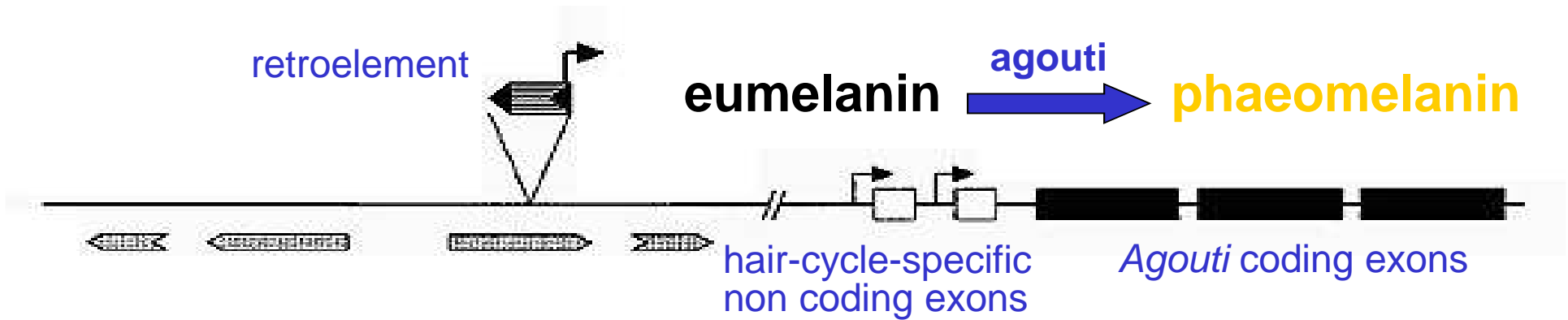
V tomto případě je exprimována vždy pouze paternálně zděděná alela.

Je proto lhostejné, jestliže je přítomna mutace, která eliminuje expresi maternálně děděné alely.

Mutace eliminující expresi paternálně děděné alely má však důsledek v projevu choroby.

U normálního individua má metylace za následek blokádu exprese.





## Agouti Viable Yellow - epigenetický mozaicismus :

metylace retroelementu vede k umlčení ektopické exprese



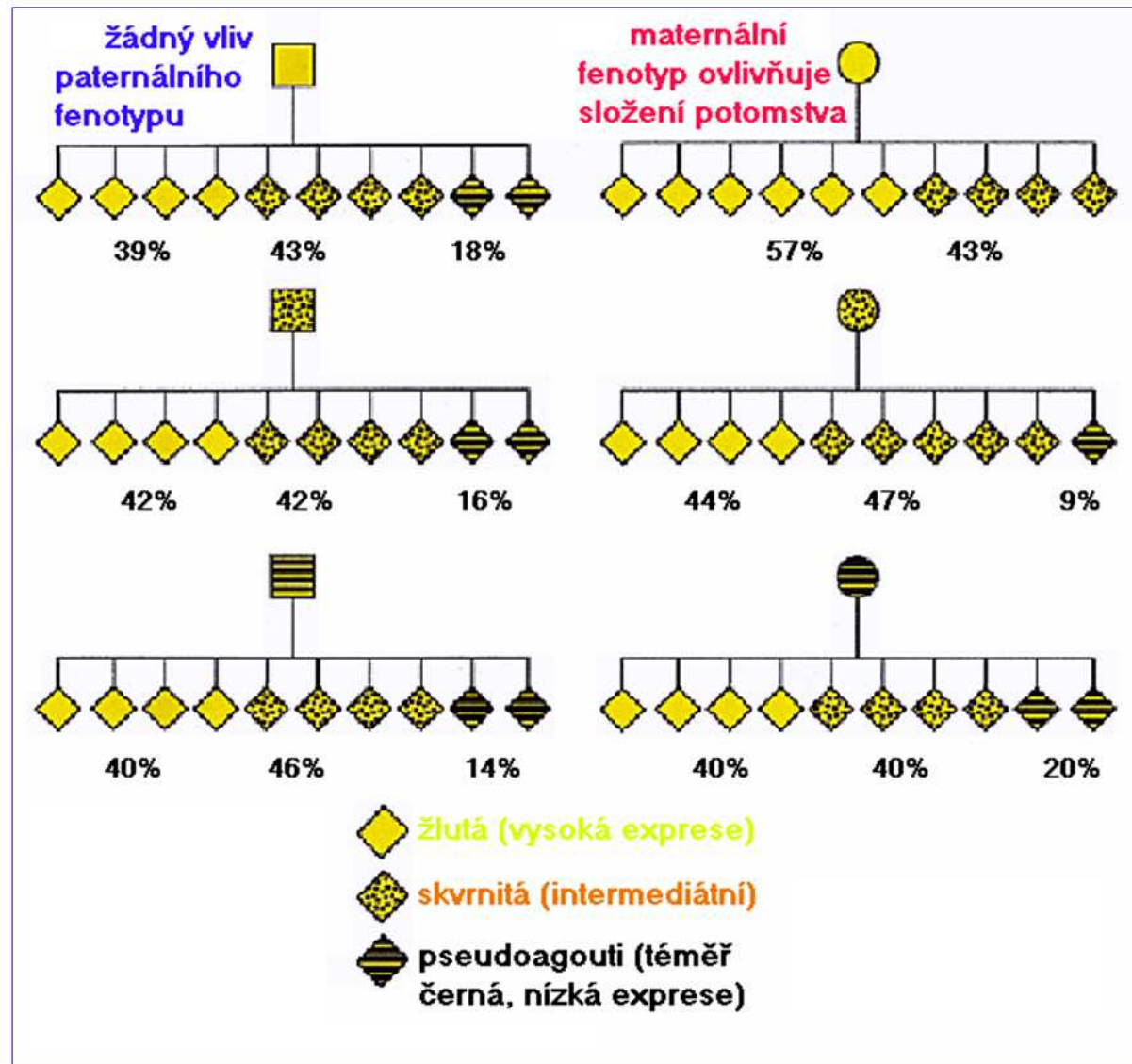
# Fenotypová (maternální) dědičnost *Viable Yellow*

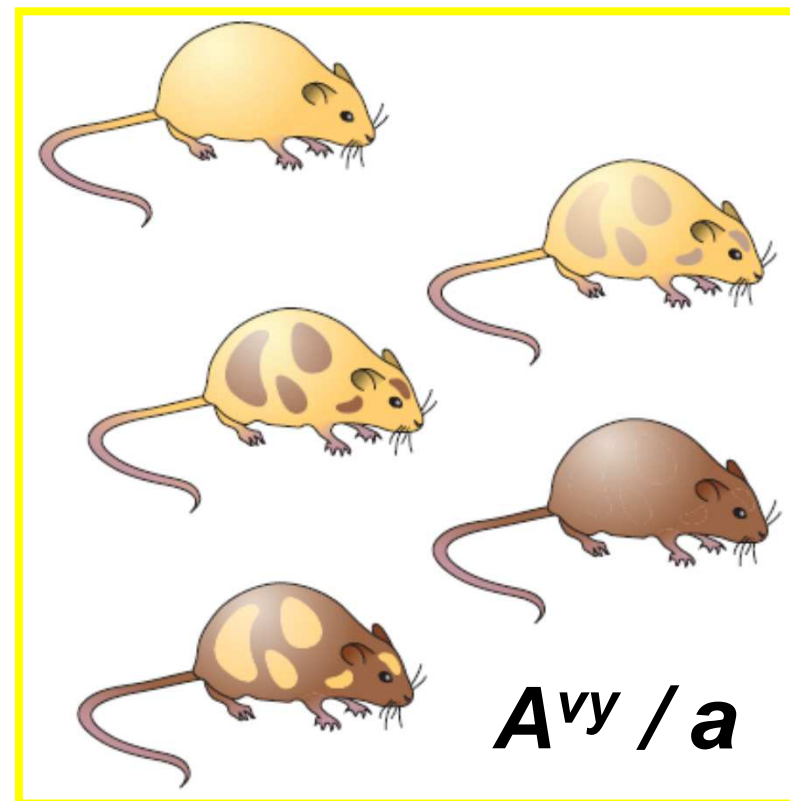
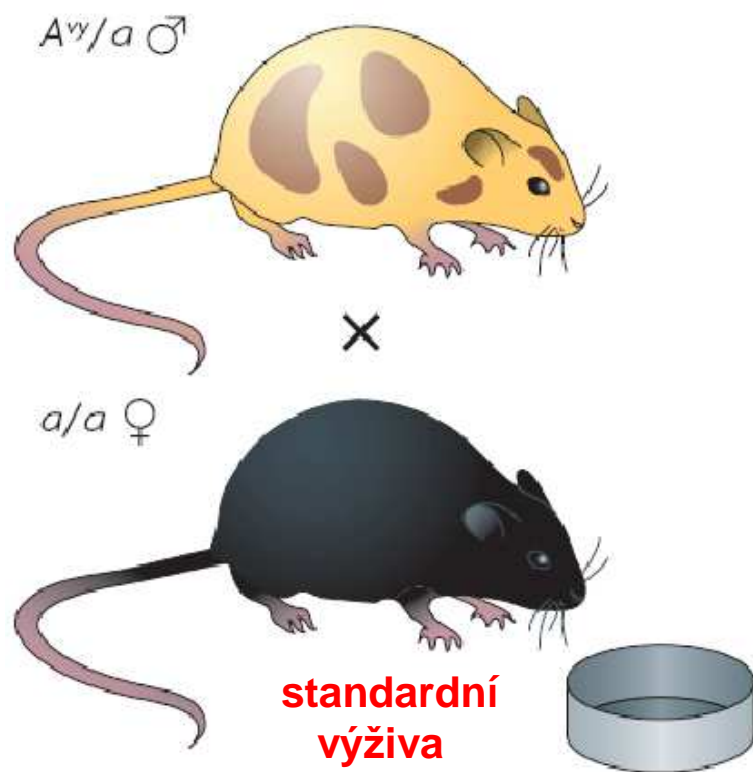
$A^{vy}/a$  x  $a/a$

výsledky  
reciprokých křížení  
s recesivním  
mutantem



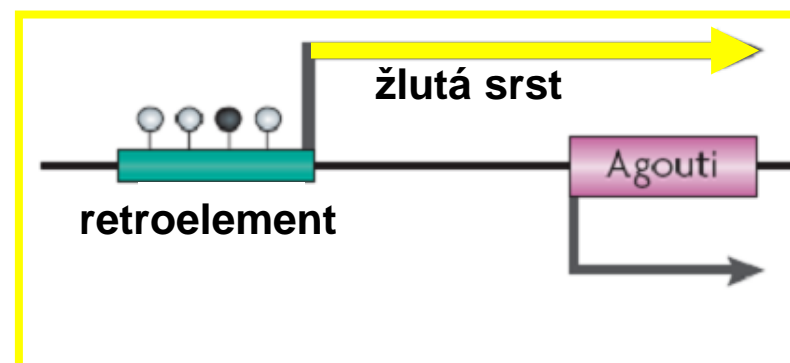
Emma Whitelaw  
(Sydney 1999)

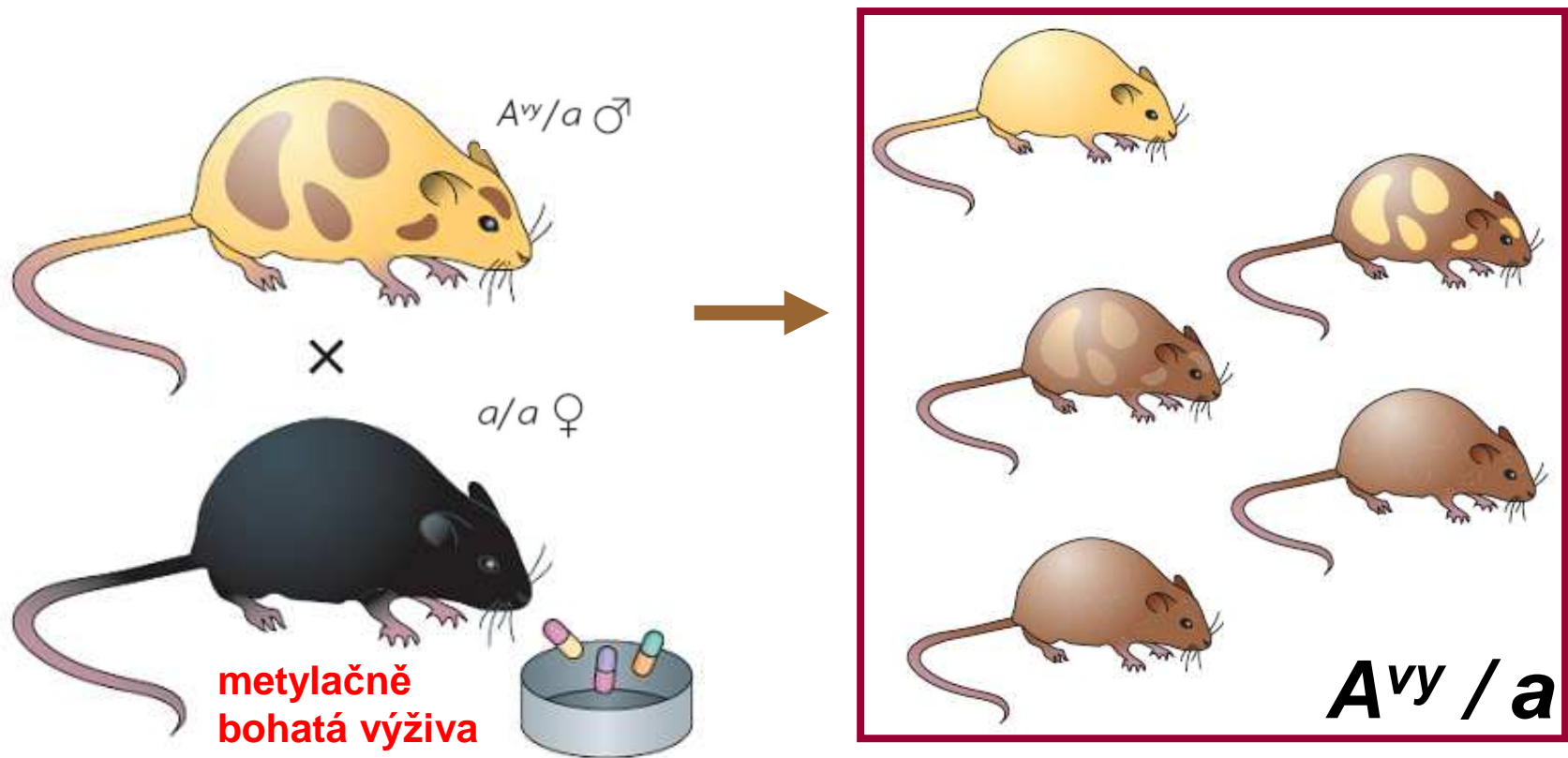




Nedostatečný  $\text{CH}_3$ -metabolismus gravidní samičky nezajistí metylaci paternálního transposonu

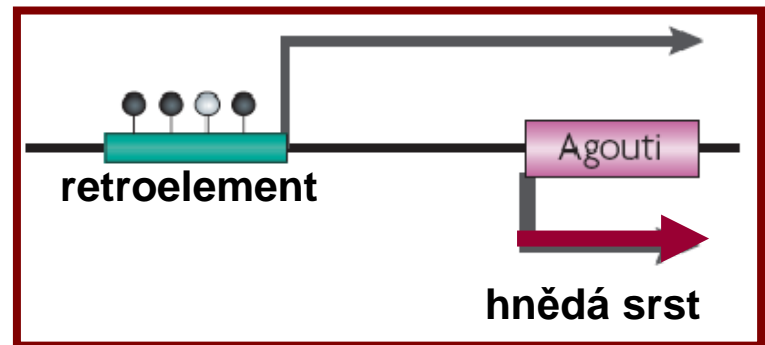
... ektopická exprese *Agouti*



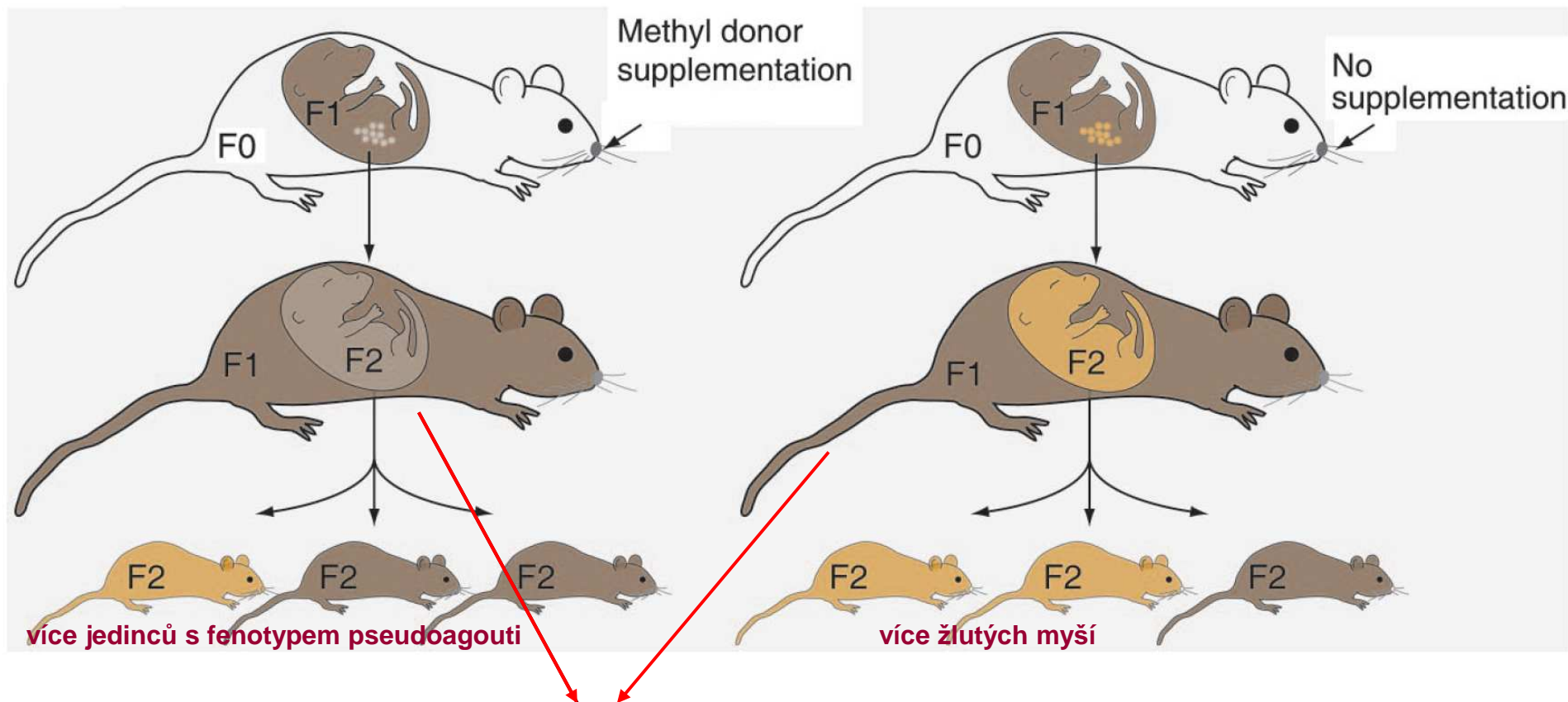


Maternální  $CH_3$  metabolismus-podporující dieta zvyšuje metylaci paternálního genomu v potomstvu

... přirozená exprese genů







Tyto dvě myši mají stejný genotyp ( $A^{vy}/a$ ) i fenotyp (pseudoagouti) ... ale odlišné potomstvo



# Germ cells carry the epigenetic benefits of grandmother's diet

Craig A. Cooney\*

Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR 72205



# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

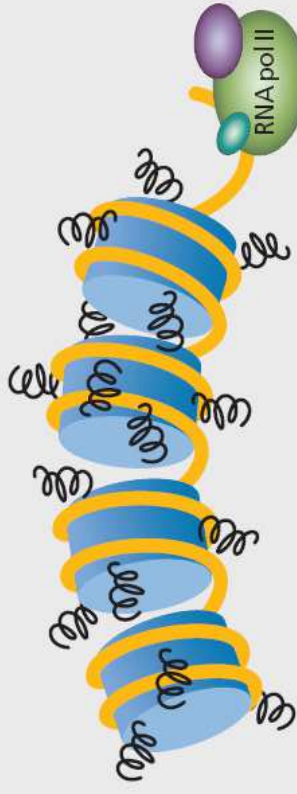
## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

- obligatorní, stochastické

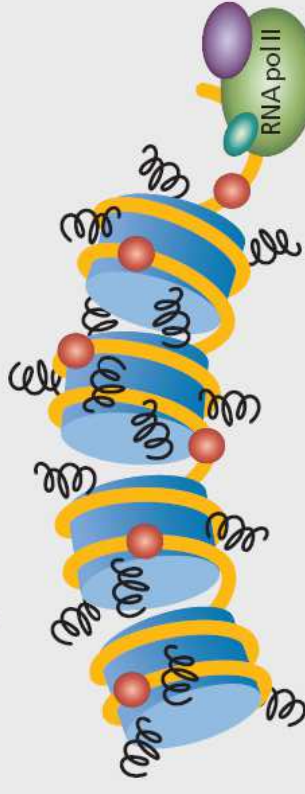
## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

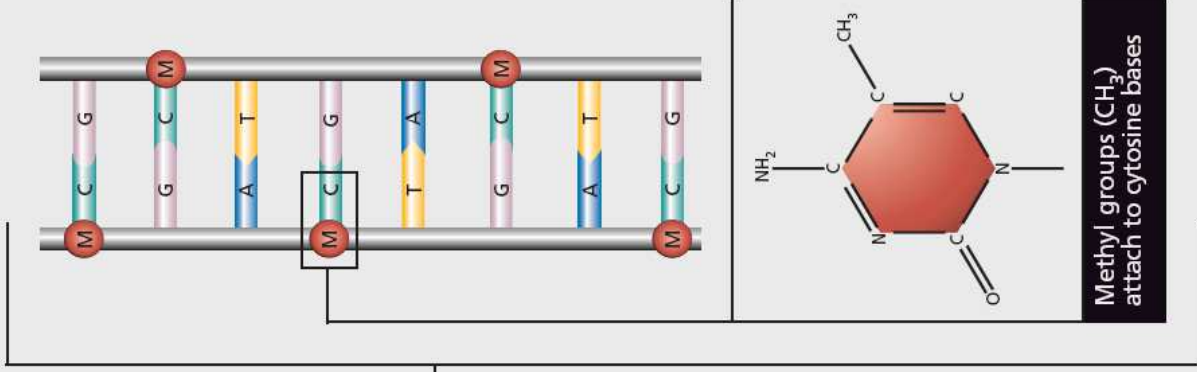
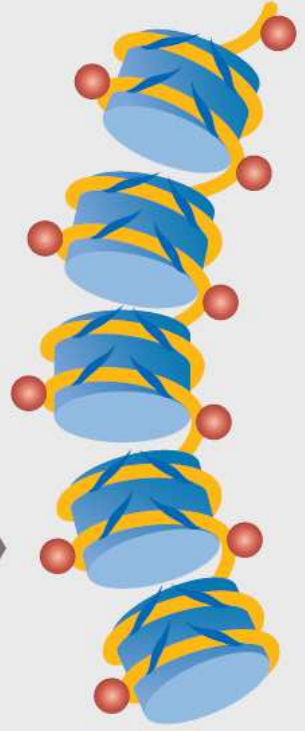
# One Epigenetic Mechanism for Repressing Transcription



Methyltransferases attach methyl groups to DNA

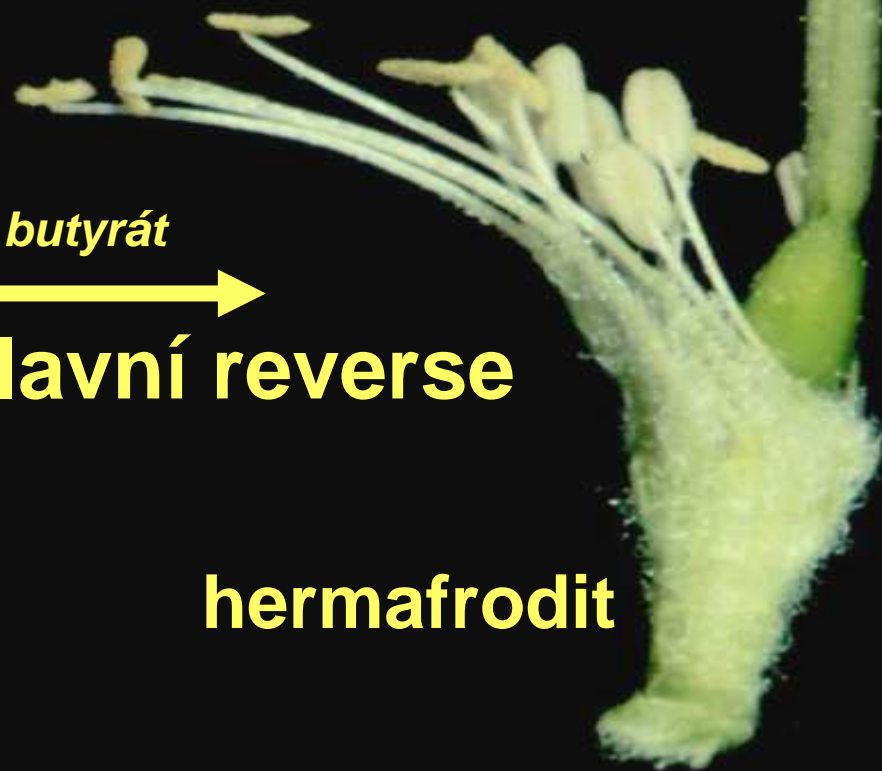
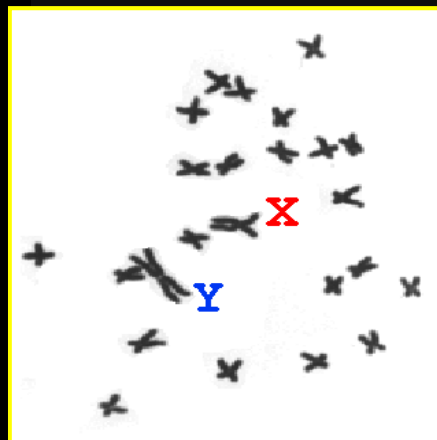


Protein complexes, recruited to methylated DNA, remove acetyl groups and repress transcription





**sameček**



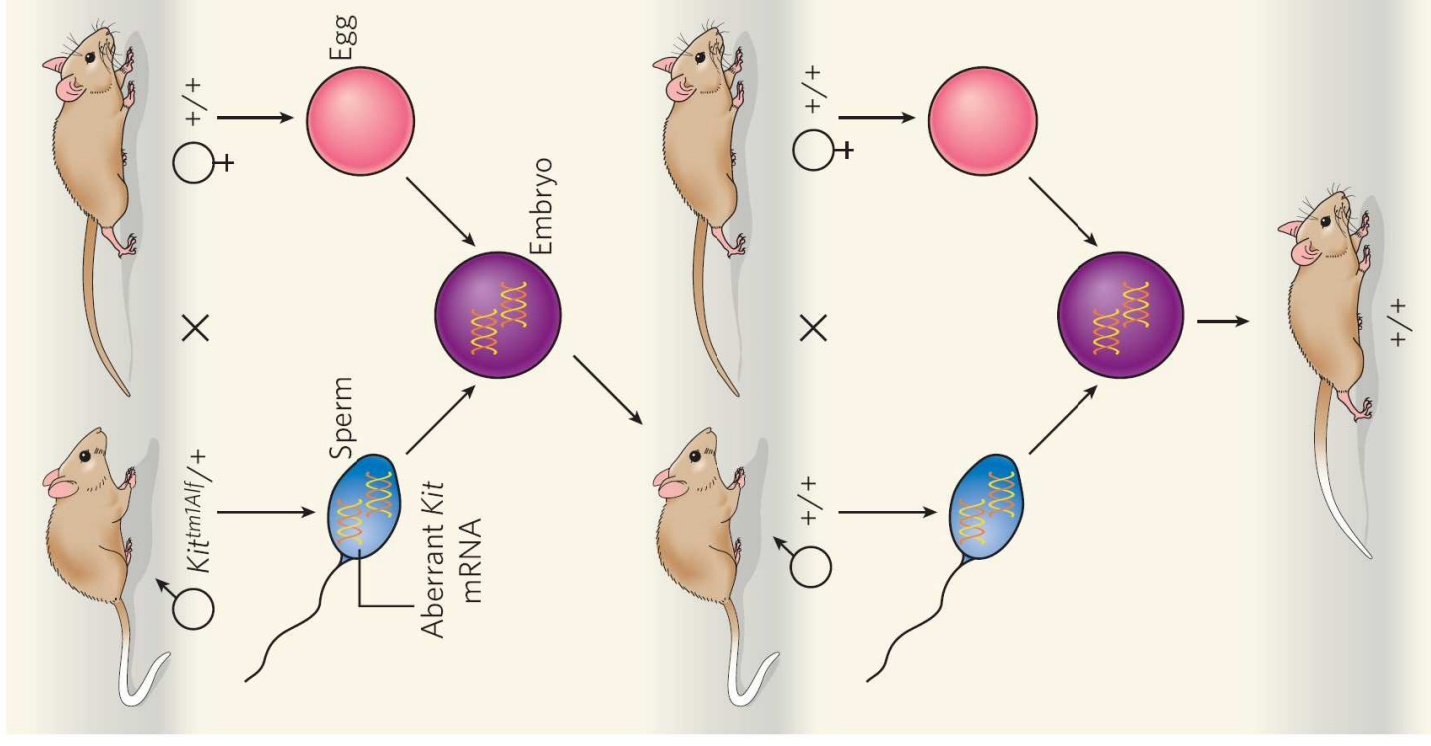
**hermafrodit**

*5-azacytidin, butyrát*



**dědičná pohlavní reverse**

# Paramutable possibilities



Vol. 441 | 25 May 2006 | doi:10.1038/nature04674

nature

## RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse

Minoo Rassoulzadegan<sup>1,2</sup>, Valérie Grandjean<sup>1,2</sup>, Pierre Gounon<sup>3</sup>, Stéphane Vincent<sup>1,2,4</sup>, Isabelle Gillo<sup>1,2</sup> & François Cuzin<sup>1,2</sup>

Paramutation is a heritable epigenetic modification induced in plants by cross-talk between allelic loci. Here we report a similar modification of the mouse *Kit* gene in the progeny of heterozygotes with the null mutant *Kit<sup>tm1Alf</sup>* (a *lacZ* insertion). In spite of a homozygous wild-type genotype, their offspring maintain, to a variable extent, the white spots characteristic of *Kit* mutant animals. Efficiently inherited from either male or female parents, the modified phenotype results from a decrease in *Kit* messenger RNA levels with the accumulation of non-polyadenylated RNA molecules of abnormal sizes. Sustained transcriptional activity at the postmeiotic stages—at which time the gene is normally silent—leads to the accumulation of RNA in spermatozoa. Microinjection into fertilized eggs either of total RNA from *Kit<sup>tm1Alf/+</sup>* heterozygotes or of *Kit*-specific microRNAs induced a heritable white tail phenotype. Our results identify an unexpected mode of epigenetic inheritance associated with the zygotic transfer of RNA molecules.

# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

- variabilní penetrance a expresivita

## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise



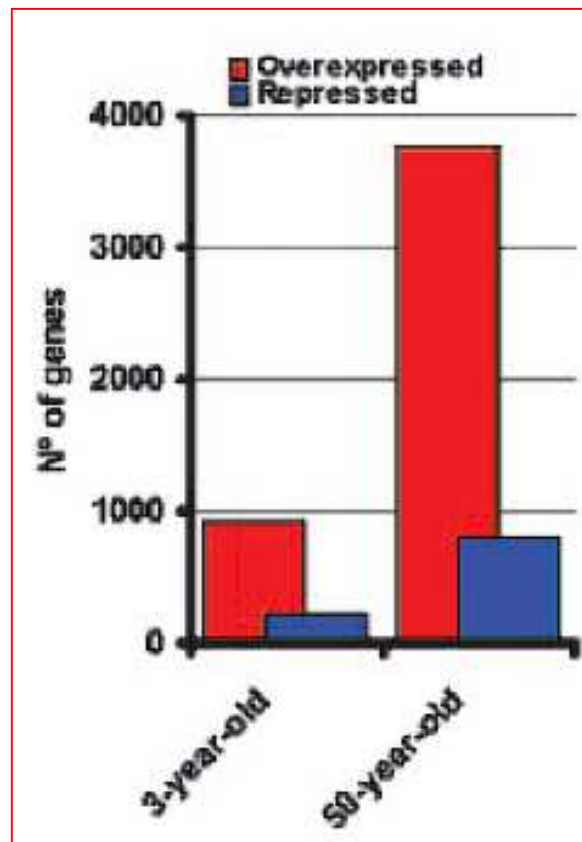


**Neúplná penetrance a variabilní expresivita  
epi-lokusu vedou i k mozaikovému fenotypu**



# Stochastická epigenetická variabilita

*Příklad: divergence epigenotypu v průběhu stárnutí v somatických liniích buněk člověka*





# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

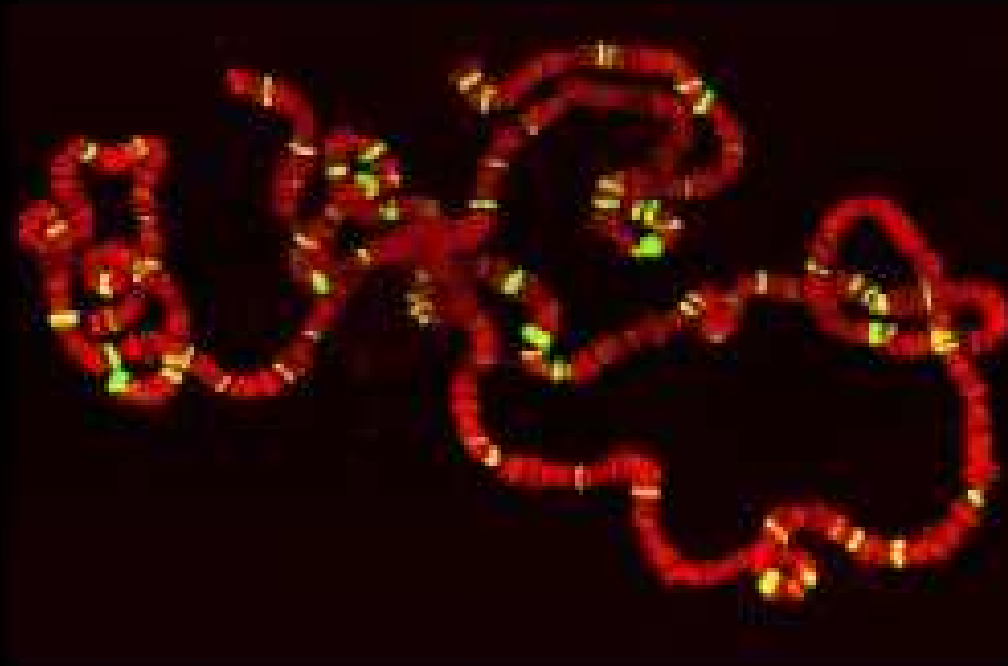
- variabilní penetrance a expresivita

## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

# Buněčná paměť – Gene bookmarking

je epigenetický proces, kterým mitoticky se dělící buňky přenášejí specifické stavy svých genových aktivit



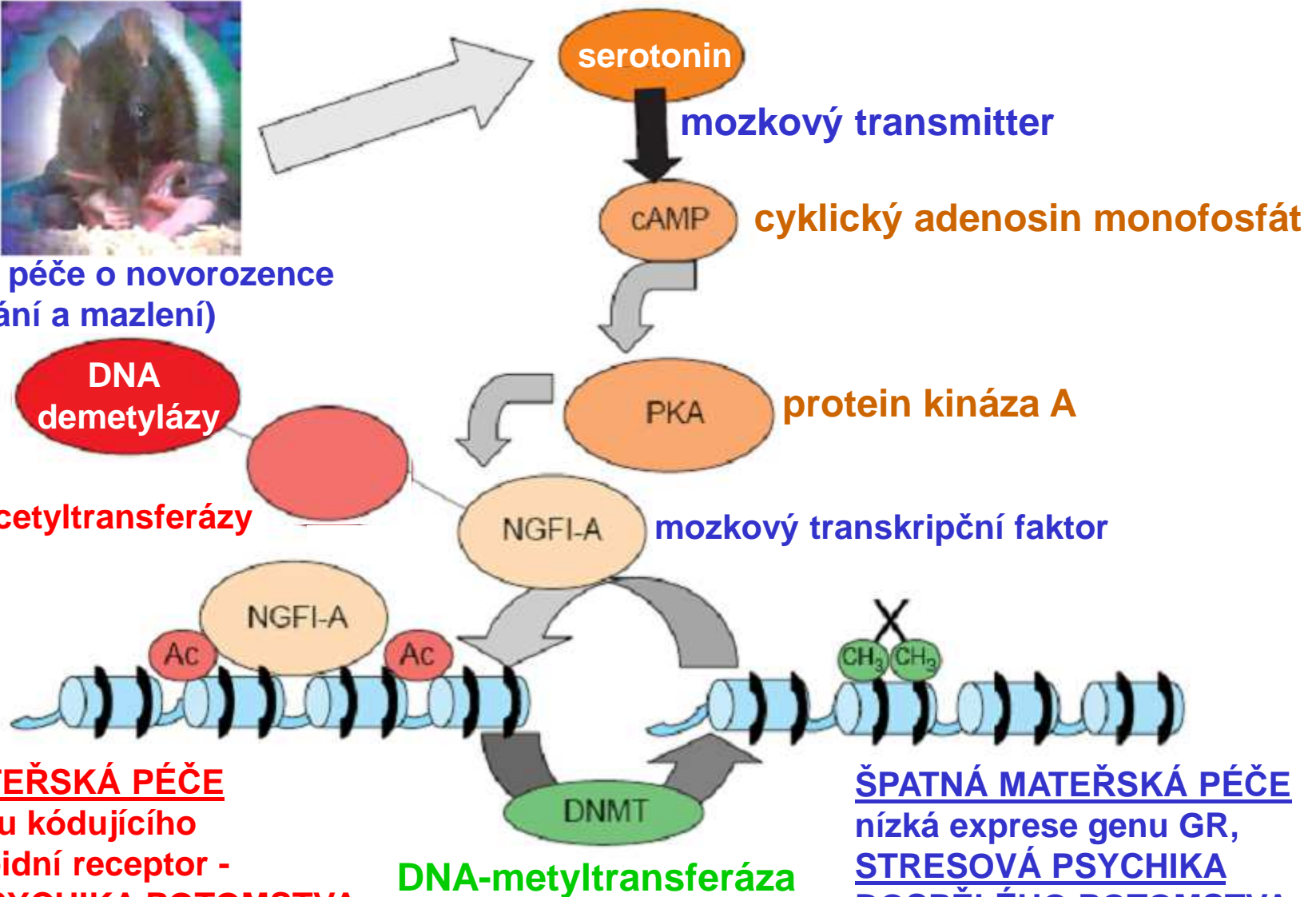
Localization of Polycomb protein on *Drosophila* polytene chromosomes

# Maternální programování epigenetických stavů

*Maternální péče jako model „experience-dependent chromatin plasticity“*



mateřská péče o novorozence  
(lízání a mazlení)



**DOBŘÁ MATEŘSKÁ PÉČE**  
exprese genu kódujícího  
glukokortikoidní receptor -  
**STABILNÍ PSYCHIKA POTOMSTVA**

**ŠPATNÁ MATEŘSKÁ PÉČE**  
nízká exprese genu GR,  
**STRESOVÁ PSYCHIKA**  
**DOSPĚLÉHO POTOMSTVA**

# EPIGENETIKA A LIDSKÉ CHOROBY

## [1] PORUCHY IMPRINTINGU

Beckwith-Wiedemannův syndrom

Russell-Silverův syndrom

Angelmanův syndrom

Prader-Williův syndrom

Pseudohypoparatyreóza

## [2] PORUCHY METYLACE DNA

Imunodeficiencie ICF syndrom

Metyléntetrahydrofolát reduktáza

Rettův syndrom

## [3] PORUCHY STRUKTURY CHROMATINU

Schimkeho imunoskeletální dysplázie

Rubinstein-Taybiho syndrom

Facioscapulohumerální svalová dystrofie

## [4] X-VÁZANÉ EPIGENETICKÉ PORUCHY

Martin-Bellův syndrom

Mentální retardace vázaná na  $\alpha$ -thalasemii

Cofflin-Lowryho syndrom

## [5] NÁDOROVÉ BUJENÍ

Wilmsův renální tumor

# FRAGILNÍ HROMOSOM X (Martin-Bellův syndrom)

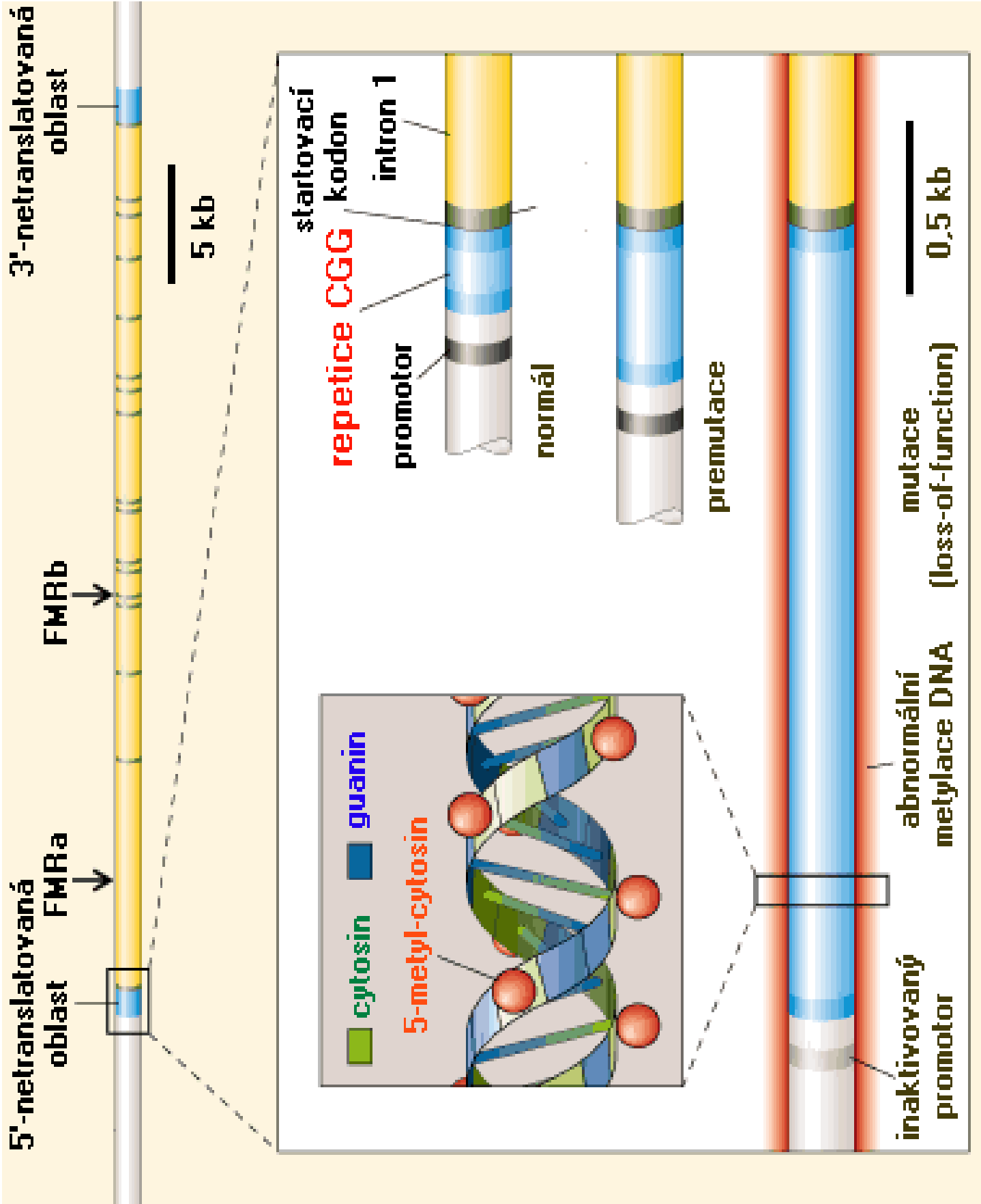


p

q

q27.3





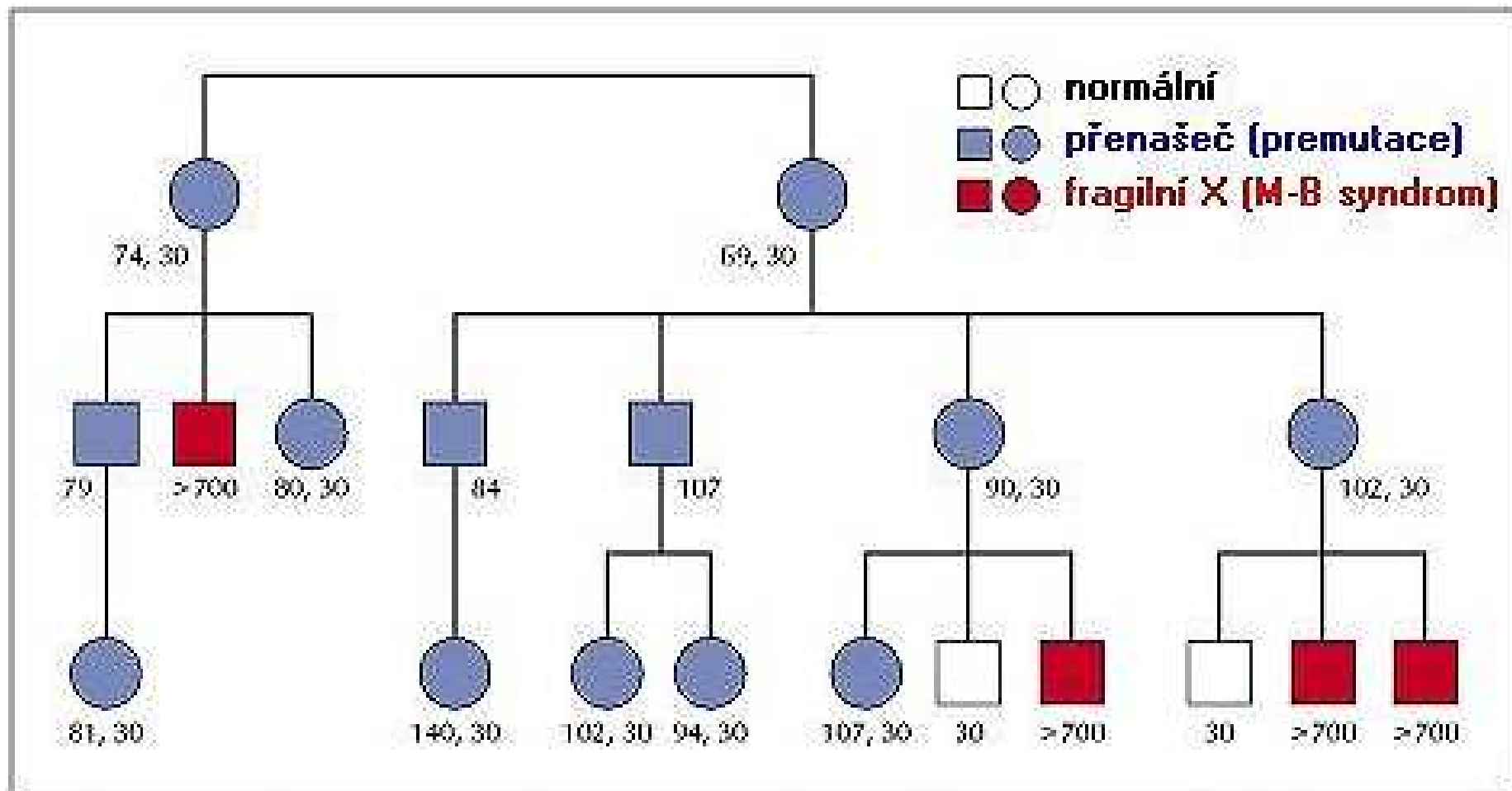


⇒ normální X má 6-60 tripletů CGG v 5'UTR genu FMR1 :

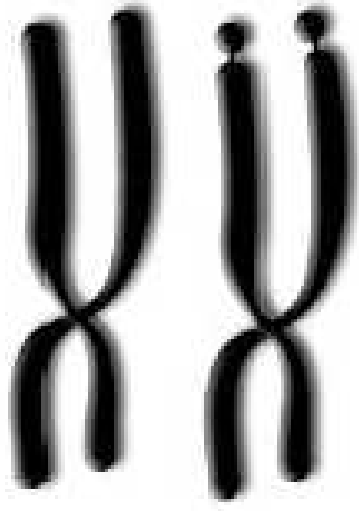


⇒ muži-přenašeči nesou premutaci mezi 60 and 200 kopiemi

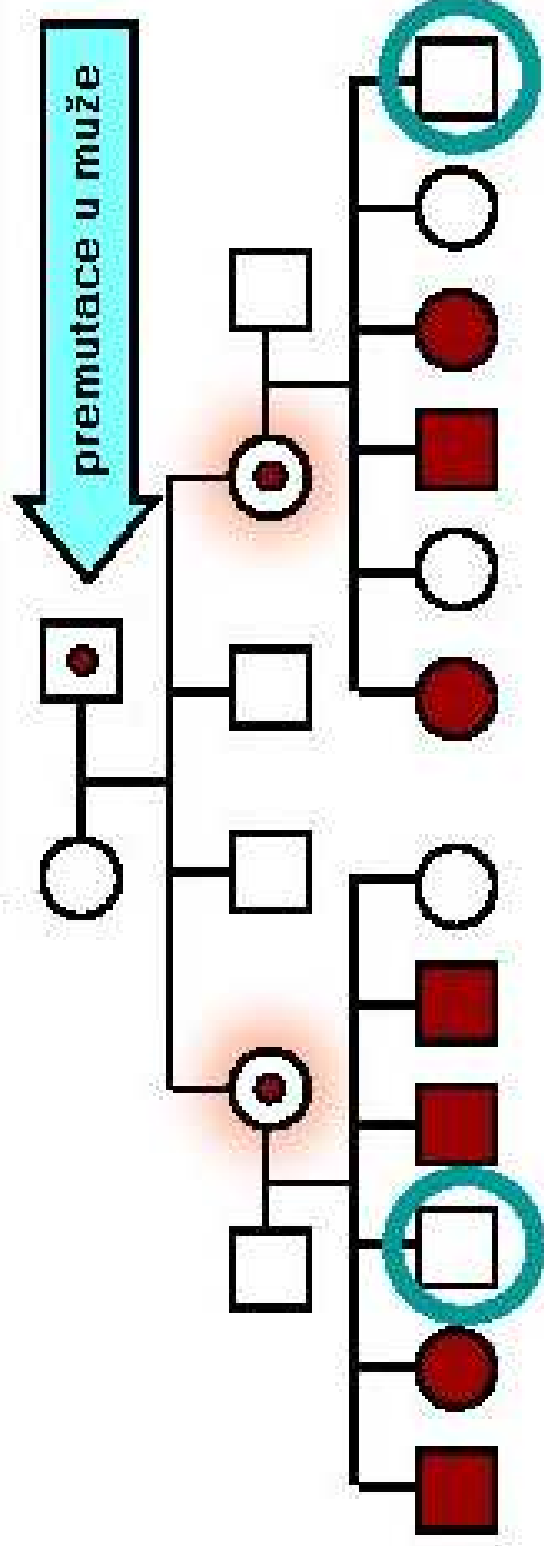
⇒ M-B pacienti mají přes 200 kopií repetice



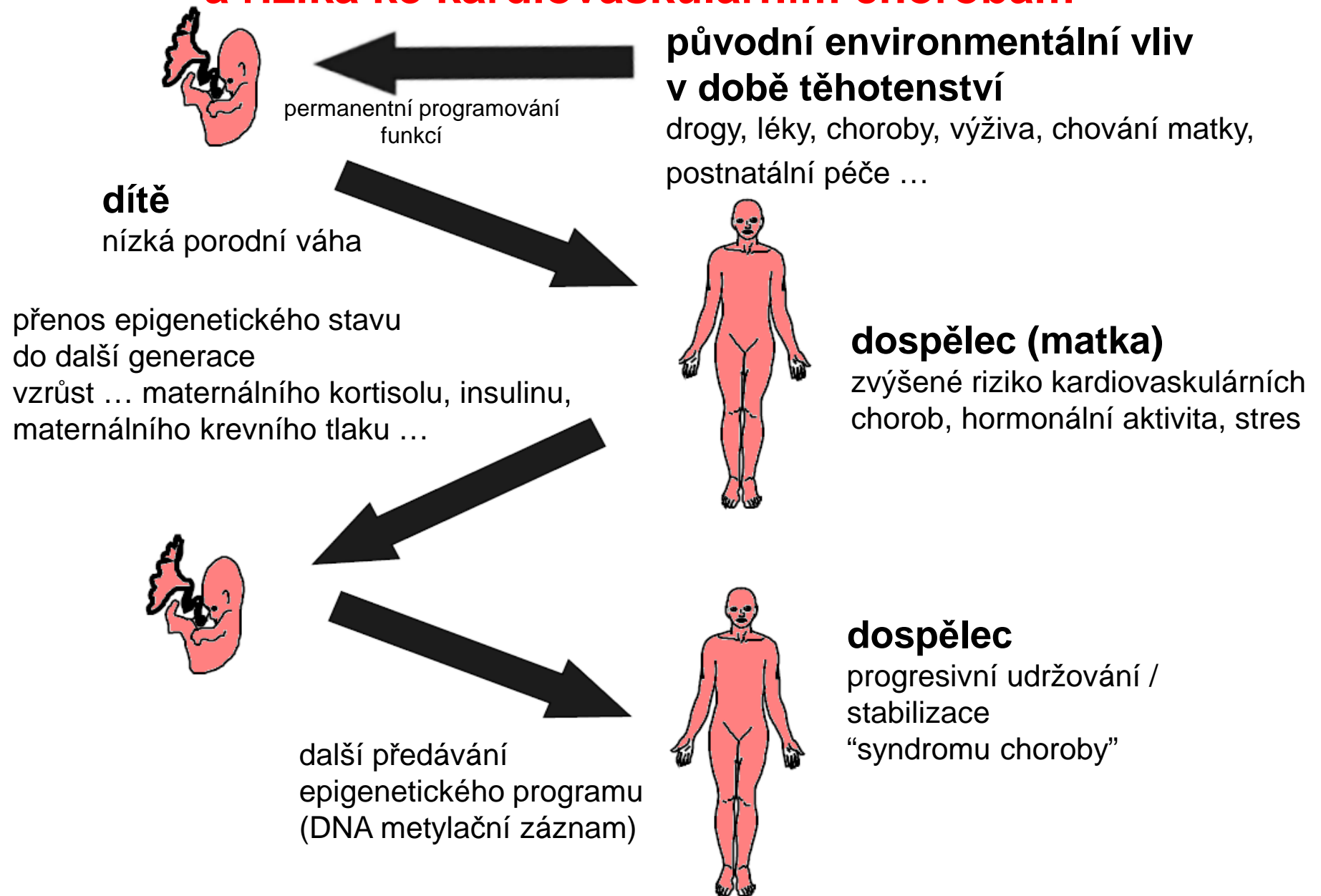
# SYNDROM FRAGILNÍHO X



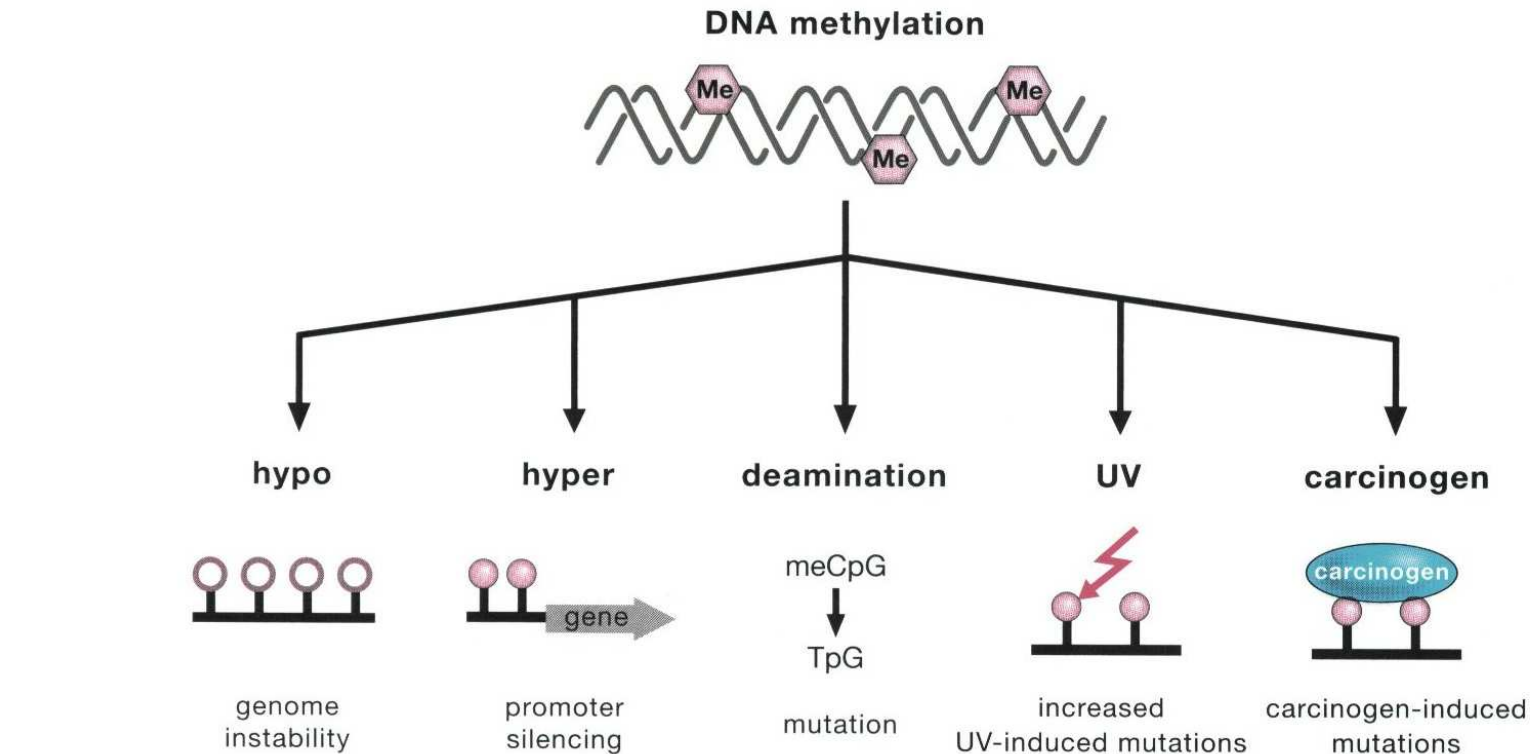
dominantní, X-vázaný  
vážná mentální retardace  
neúplná penetrance  
variabilní expresivita  
vážnější a častější u mužů



# Epigenetické „intergenerační“ programování porodní váhy a rizika ke kardiovaskulárním chorobám



# Epigenetické změny zahrnující metylace DNA vedou k nádorovému růstu prostřednictvím různých mechanismů



ztráta metylace vede k nestabilitě genomu

hydrolytická deaminace metylC vede k bodové mutaci

hypermetylace promotorů vede k dědičnému umlčování a k inaktivaci nádorových supresorů

metylace CpG zesiluje vazbu chemických karcinogenů k DNA a zvyšuje rychlost UV-indukovaných mutací

## Safety helmets



Unlike the helmet of Perseus, the helmet of the water flea (*Daphnia* spp.) does not make it invisible, but it does confer some protection against predators by making the fleas harder to catch. Water fleas do not necessarily begin life with a helmet but can form one as a morphological defence in response to chemicals released by their predators. The images above show three pairs of water fleas from different species; the non-helmeted morph is on the left in each pair of fleas. Clockwise from the top left these are: *Daphnia cucullata*; the Australian species *Daphnia longicephala*, whose huge crests keep their predator, the backswimmer, from getting a firm grasp on them; and the Asian/African

species *Daphnia lumholzi*, whose distinctive helmets protect them against even fish.

But being able to develop a helmet is no good to the water flea if it is attacked before it has done so. In *Daphnia*, females who have grown helmets can transmit this benefit to their offspring, thereby improving their reproductive success. Their offspring not only start life with a form that provides better protection but, in the face of predatorial threat, can go on to develop larger helmets than the offspring of nonhelmeted females in the same environment. This bequeathing of a helmet is an

example of a maternally induced (transgenerational) adaptation; genes activated in the mother are expressed as a phenotype in their offspring. For further details, see Agrawal A.A., Laforsch C. and Tollrian R., *Nature* 1999, 401: 60-63. Images provided by Ralph Tollrian and Christian Laforsch, Ludwig-Maximilian University, Zoological Institute, Karlstrasse 25, 80333 München, Germany.

Anurag Agrawal

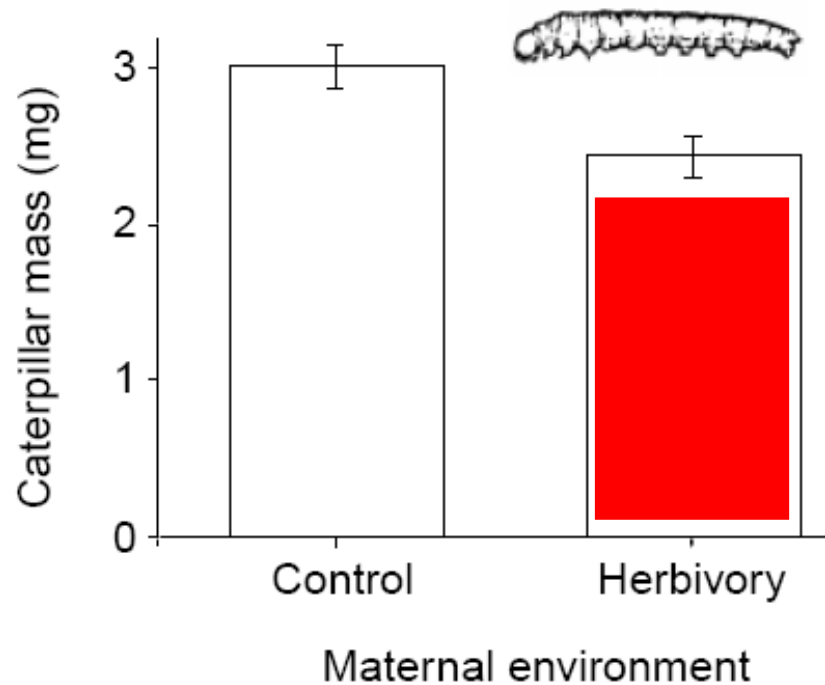


Ecology and Evolutionary Biology, Corson Hall,  
Cornell University Ithaca, New York 14853 USA

... samičky hrotnatky *Daphnia* si po ataku predátora vytvářejí ochrannou přilbu, tento znak pak přenášejí do potomstva



... rostliny ohnice *Raphanus raphanistrum* v reakci na požer housenkou *Pieris rapae* syntetizují odpudivé hořčičné látky, znak přetrvává minimálně do další generace

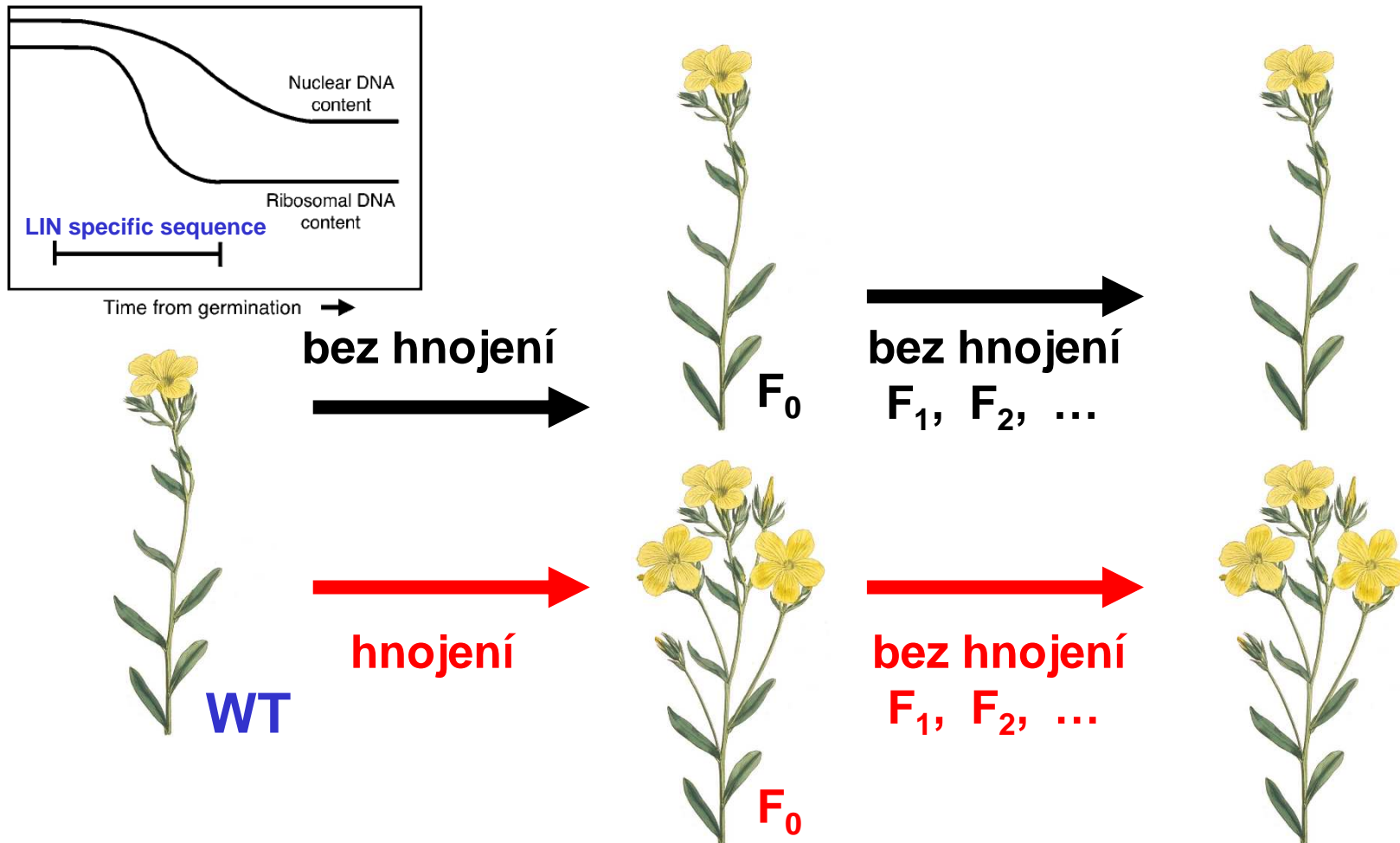


*Raphanus raphanistrum* resistance to herbivory as measured by growth of a specialist caterpillar, *Pieris rapae*, on the F<sub>1</sub> generation of seedlings from different maternal environments. Maternal plants were either subject to herbivory by *P. rapae* or left undamaged. This transgenerational induction of defences was not associated with differences in seed mass or seed concentrations of carbon or nitrogen.



# Meiotický přenos epigenetického stavu (fenotypu) aneb environmentální indukce dědičných změn

- genotrofy u *Lin* (vliv podnebí a výživy na větvení)



## Vliv environmentálních faktorů



- vývojové abnormality drosofily  
způsobené deficiencí *heat-shock* proteinů

# Tepelný šok navozuje fenokopie

vzorce zbarvení křídel motýlů (*Aglais urticae*)

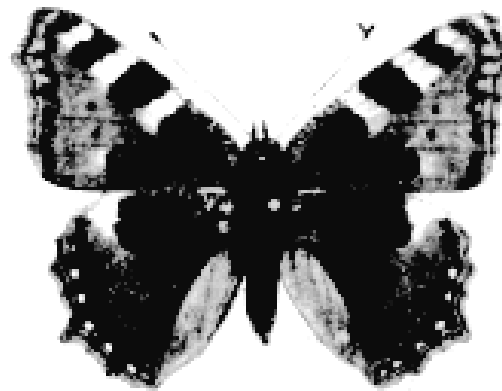


Richard B. Goldschmidt  
(1879-1958)

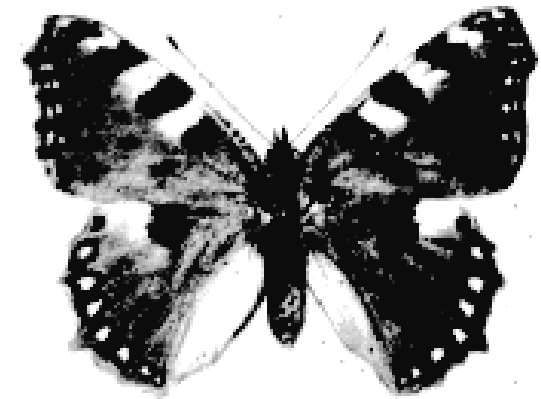
**středoevropská  
varianta**



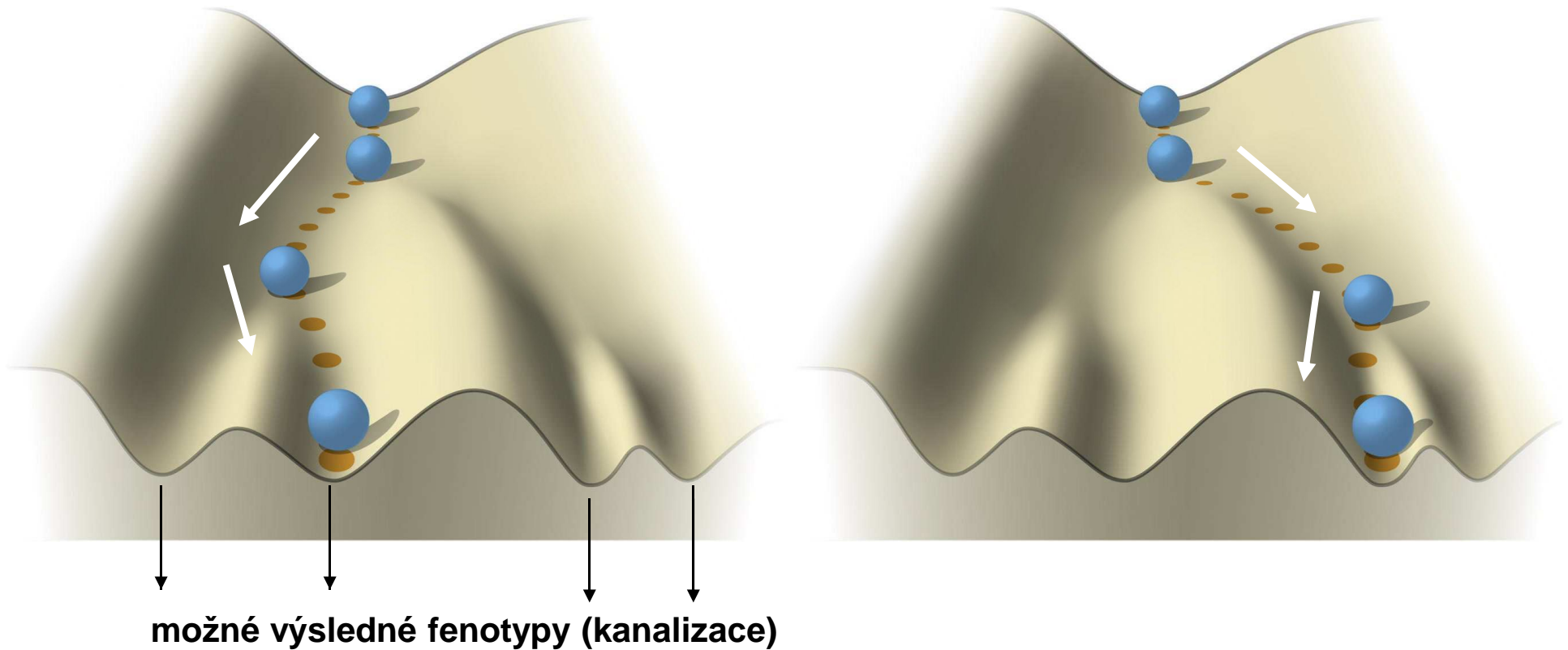
**heat-shock fenokopie  
připomínající formu ze Sardinie**



**Sardinská  
varianta**



# Waddington: Diferenciace je epigenetický proces ovlivňovaný prostředím



**... adaptivní změny genové exprese mohou být za určitých podmínek v ontogenezi stabilizovány (asimilovány)**

**... evoluce je fixace ontogenetických změn**

## Epigenetics: A Landscape Takes Shape

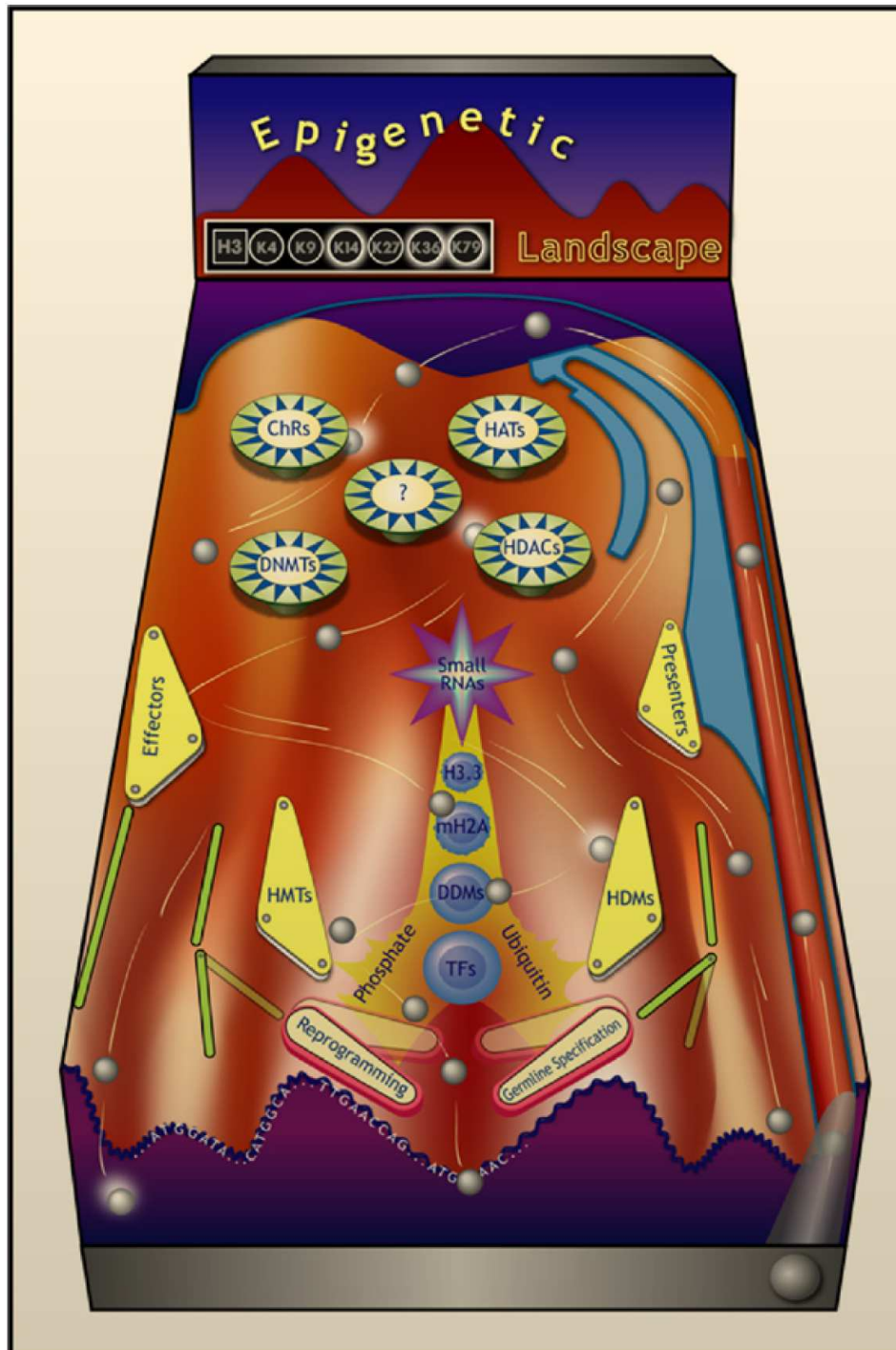
Aaron D. Goldberg,<sup>1</sup> C. David Allis,<sup>1\*</sup> and Emily Bernstein<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Chromatin Biology, The Rockefeller University, New York, NY 10021, USA

\*Correspondence: alliscd@rockefeller.edu (C.D.A.), bernste@rockefeller.edu (E.B.)

DOI 10.1016/j.cell.2007.02.006

Epigenetics has recently evolved from a collection of diverse phenomena to a defined and far-reaching field of study. In this Essay, we examine the epistemology of epigenetics, provide a brief overview of underlying molecular mechanisms, and suggest future challenges for the field.



ChR = remodelátory chromatinu

DNMT = DNA metyltransferásy

HAT = histon acetyltransferásy

HDAC = histon deacetylásy

HMT = histon metyltransferásy

HDM = histon demetylásy

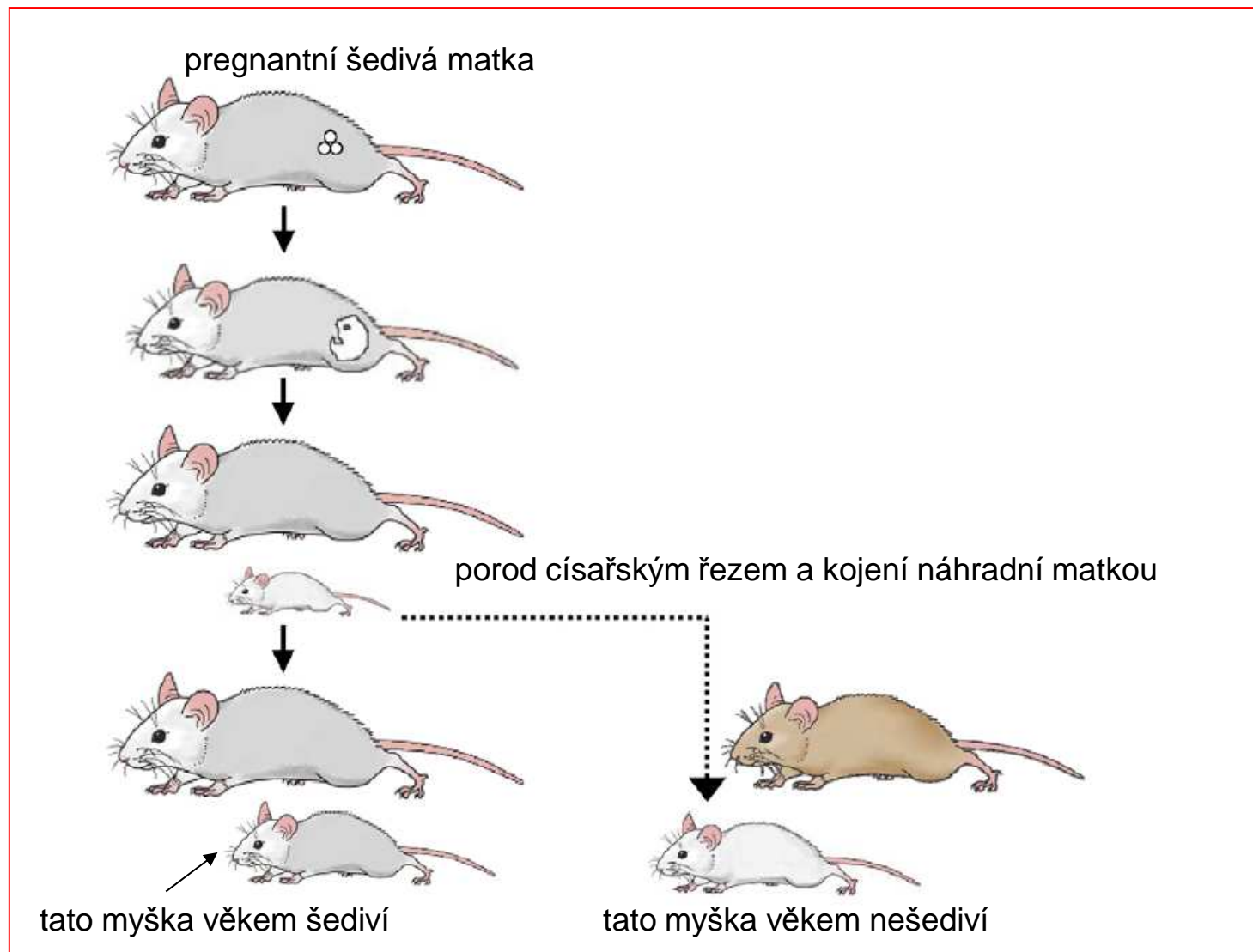
DDM = DNA demetylásy

TF = transkripční faktory



# NeGenetika: zdánlivá maternální dědičnost šedivosti

myšího kožíšku ve stáří je způsobena přenosem viru leukémie  
v mateřském mléce (virus nevstupuje do gamet)







UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

2010

**EpiGenetika**

Boris Vyskot