

Epigenetika



Boris Vyskot

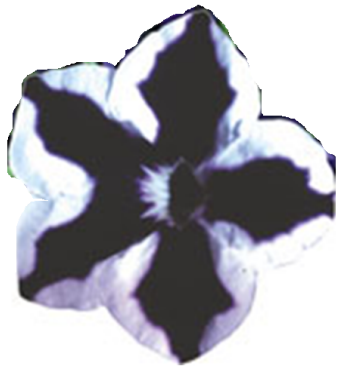
Oddělení vývojové genetiky, Biofyzikální ústav Akademie věd ČR, Brno

Jsou stejné a přitom tak rozdílné:



**tyto dvě myši mají zcela shodnou genetickou konstituci,
liší se jen v rozdílné funkci jediného genu (*Agouti*),
který odpovídá za barvu srsti**

**Epigenetika je
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.**















Penetrance

vyjadřuje pravděpodobnost, s jakou se gen (vloha) projeví ve fenotypu následné generace

Expresivita

je míra projevu příslušného genu

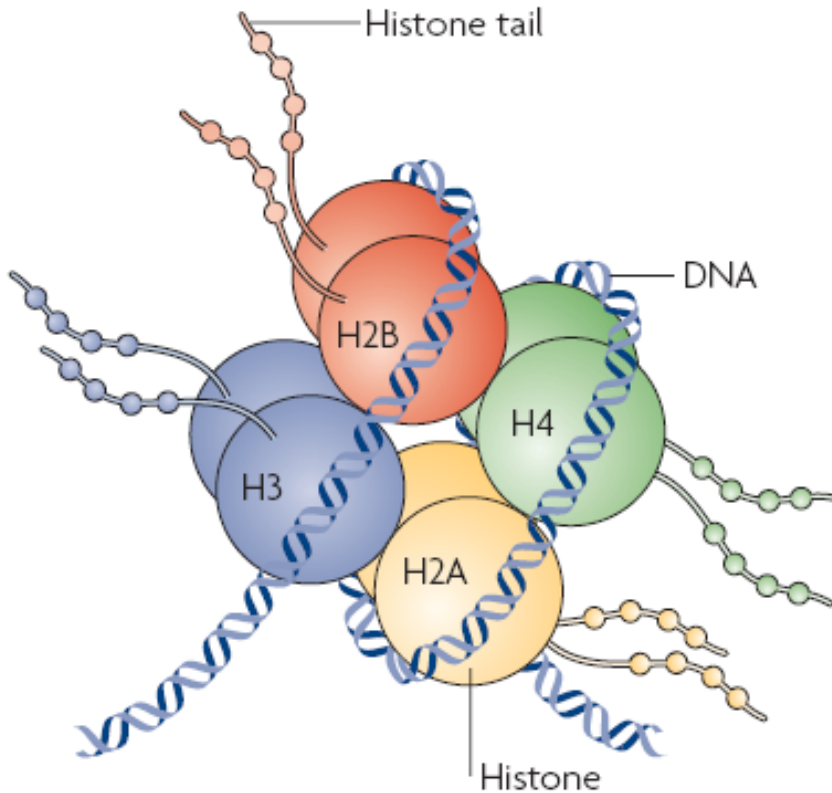
Mendel si do svých pokusů zásadně vybíral jen ty znaky, které měly vysokou penetranci a stabilní míru projevu ...

semeno		květ	lusk		stonek	
tvár	dělohy	barva	tvár	barva	umístění	velikost
						
šedý & kulatý	žluté	bílá	plný	žlutý	lusky a květy podél stonku	dlouhý
						
bílý & svrasklý	zelené	fialová	příškrčený	zelený	koncové lusky, vrcholový květ	krátký
1	2	3	4	5	6	7

... v praxi je tomu ovšem často jinak. Znaky (geny) mívají různě vysokou penetranci a variabilní míru projevu.

- Epigenetika pojednává o regulacích funkce genů.
- Hlavními komponentami buněčného jádra (chromatinu) jsou DNA a proteiny (histony) a tyto bývají často chemicky modifikovány.
- Tyto modifikace vedou ke změně struktury chromatinu, což se odráží v aktivaci nebo inaktivaci příslušných genů.

Chromatin je tvořen především DNA a histony

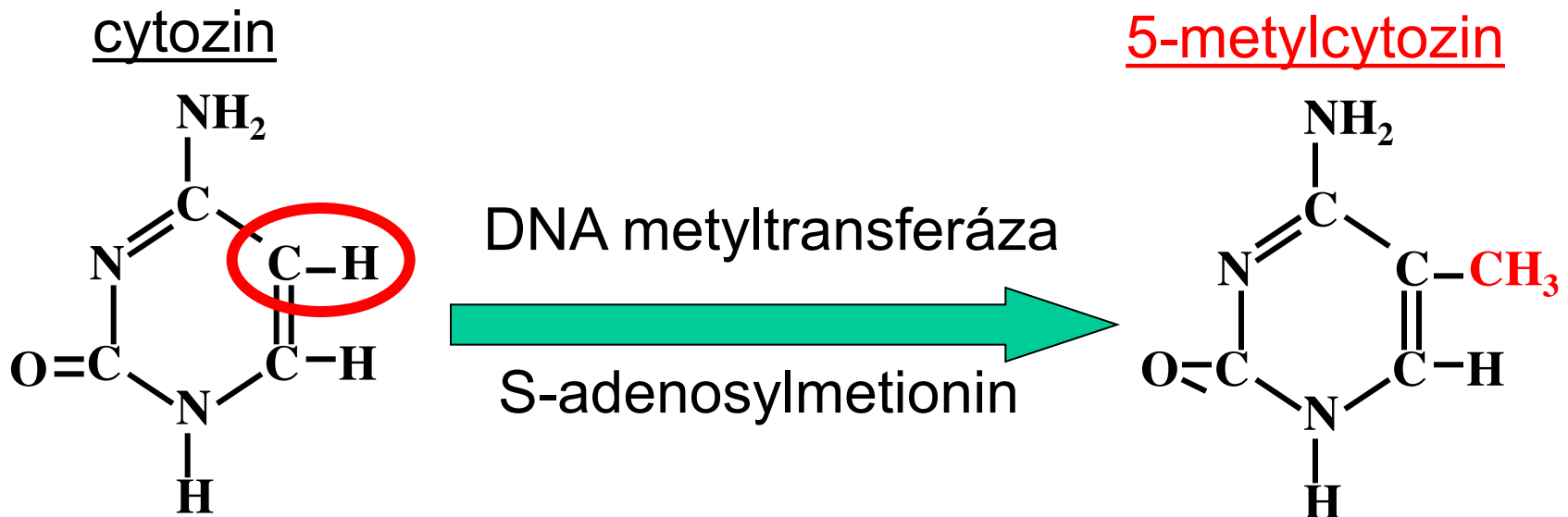


The fundamental unit of chromatin is the nucleosome, which consists of ~147 base pairs of DNA wrapped around a core histone octamer (~1.65 turns). Each octamer contains two copies each of the histones H2A, H2B, H3 and H4. The nucleosomal structure of chromatin allows DNA to be tightly packaged into the nucleus by organized folding⁵. Intricate chromatin remodelling mechanisms ensure that DNA remains accessible to the transcriptional machinery. These epigenetic mechanisms alter gene activity by modulating DNA-protein interactions without changing the genetic code.

Chemické modifikace DNA:

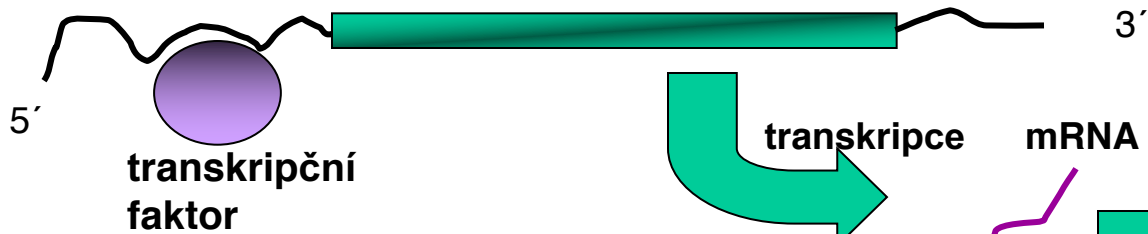
metylace cytozinu vede k umlčování genů

adice metylové skupiny (CH₃) na 5. uhlík cytozinu

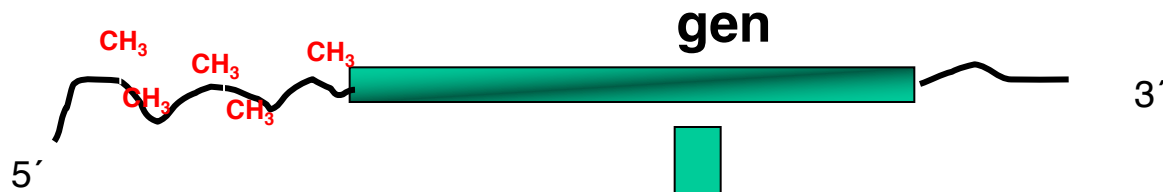


Epigenetické umlčování

nemetylovaný promotor



hypermetylovaný promotor

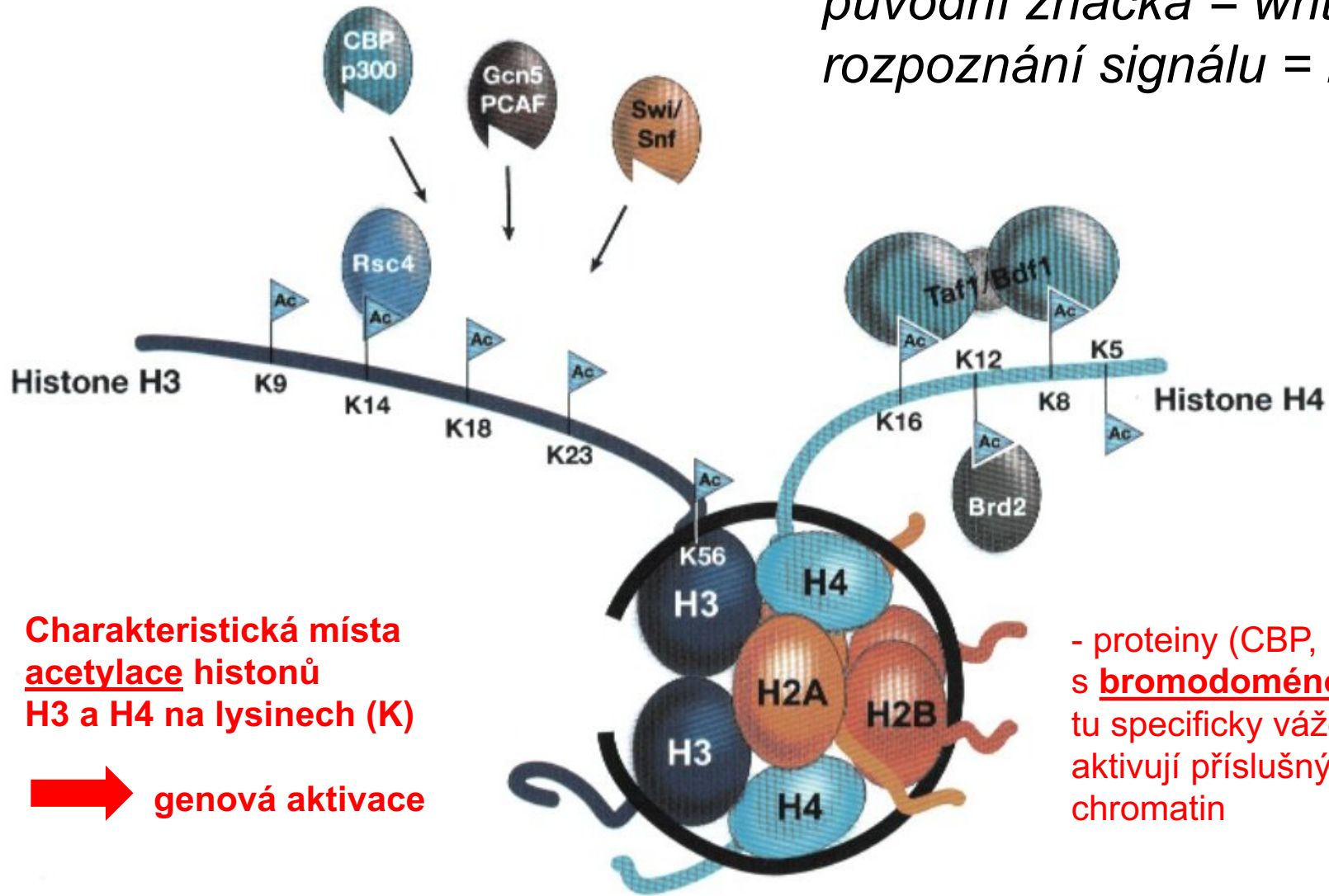


hypermetylovaný promotor
(kondenzovaný)



kondenzace promotoru
chromatin

*původní značka = writer
rozpoznání signálu = reader*

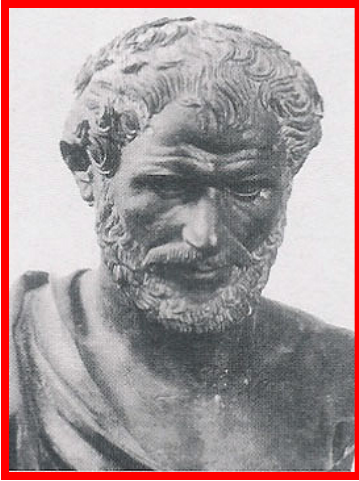


**Charakteristická místa
acetylace histonů
H3 a H4 na lysinech (K)**

→ genová aktivace

- proteiny (CBP, Brd aj.)
s **bromodoménou** se
tu specificky vážou a
aktivují příslušný
chromatin

**Histony jsou často chemicky modifikovány,
což ovlivňuje expresi genů**



Aristoteles
(384-322 př.Kr.)

EPIGENEZE

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

EPIGENETIKA

kombinuje ...

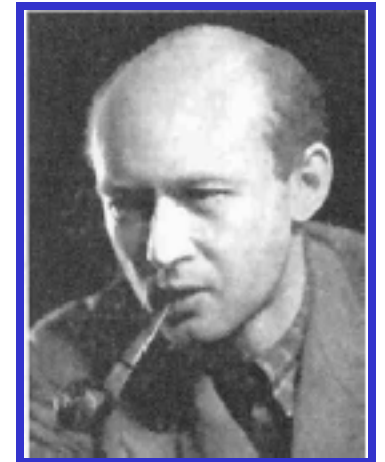
genetiku

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

a

vývojovou biologii

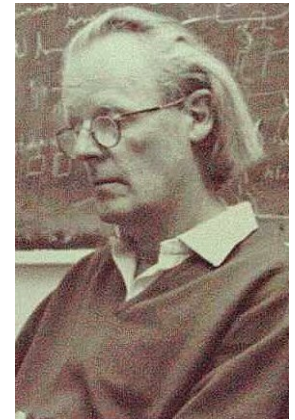
**(studium změn, ke kterým dochází
v postzygotickém období - epigeneze)**



Conrad Waddington
(1905-75)



EPIGENETICKÉ JEVY PŘEDSTAVUJÍ VÝJIMKY Z MENDELOVÝCH ZÁKONŮ



Gregor Mendel
(1822-1884)

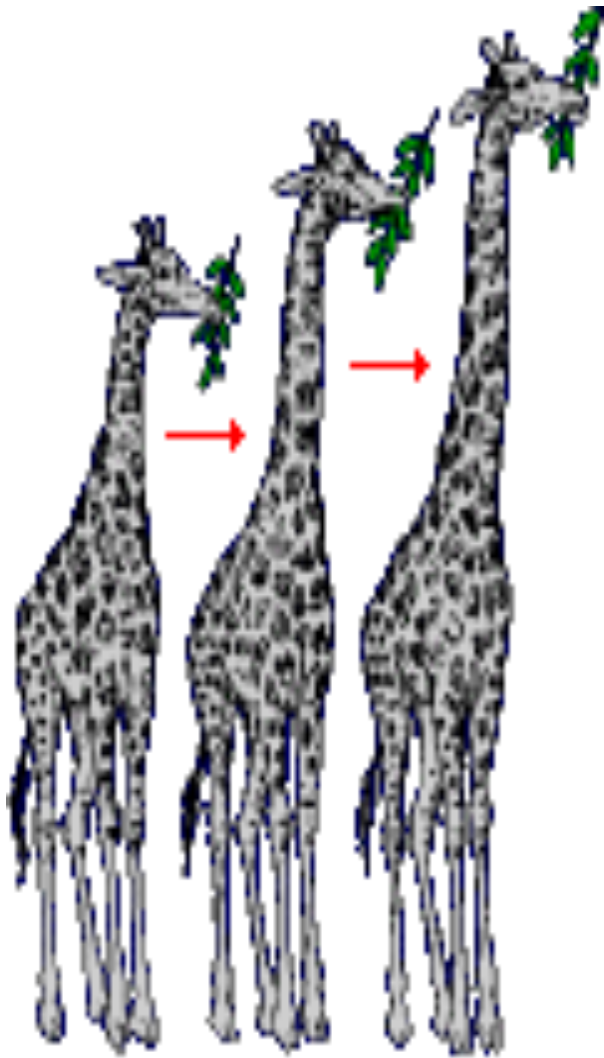
John Maynard Smith
(1920-2004)

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 filialní generaci : PARENTÁLNÍ IMPRINTING



**Praotec epigenetiky:
Jean-Baptiste Lamarck (1744-1829)
a jeho filozofie dědičnosti získaných znaků**



Robin Holliday

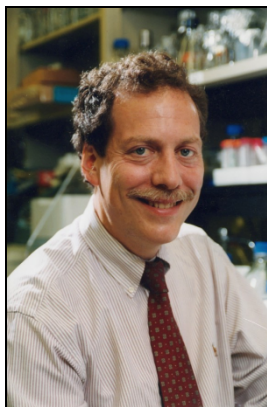
Nová teorie karcinogeneze

(Brit J Cancer, 1979)

Dědičnost epigenetických defektů
... a new definition of epigenetics ...

(Science, 1987)

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



Snížená metylace DNA rozlišuje některé nádory člověka od normálních tkání

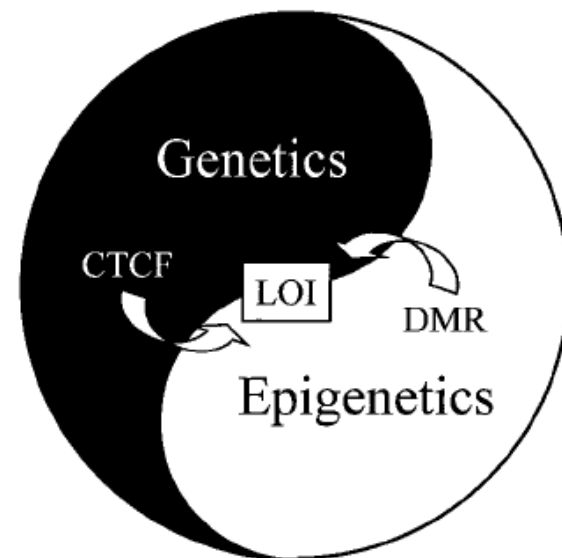
Cancer epigenetics takes center stage

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

Next 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

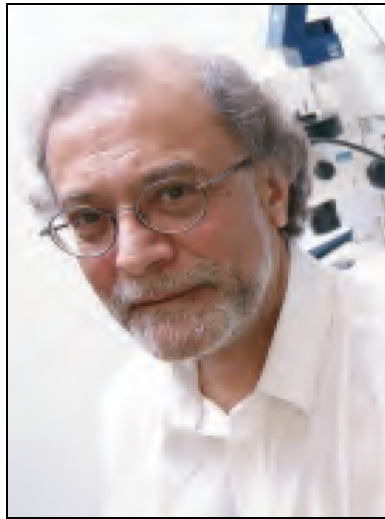


OBJEV ROKU 1984

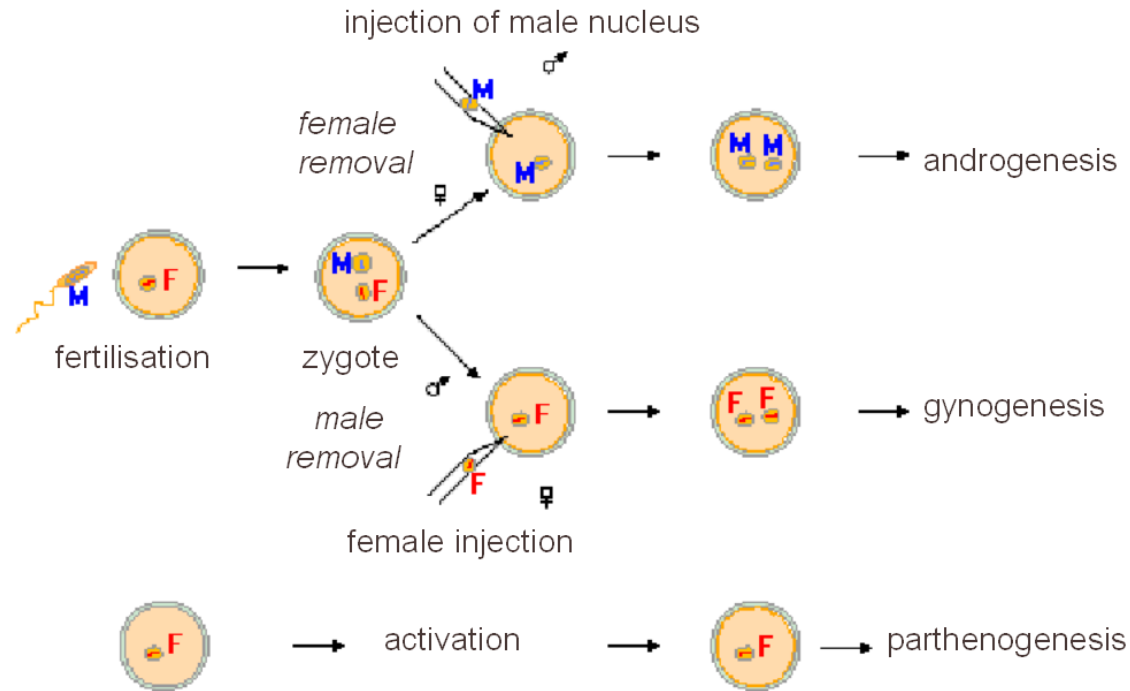
GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING



Davor Solter
(Philadelphia)



Azim Surani
(Cambridge)



Otcovské a mateřské genomy nejsou shodné:
jen kombinace těchto dvou (odlišných) genomů vede
k řádnému vývoji savčího embrya

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**
(Mendel, Weismann,
Watson, Crick)

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



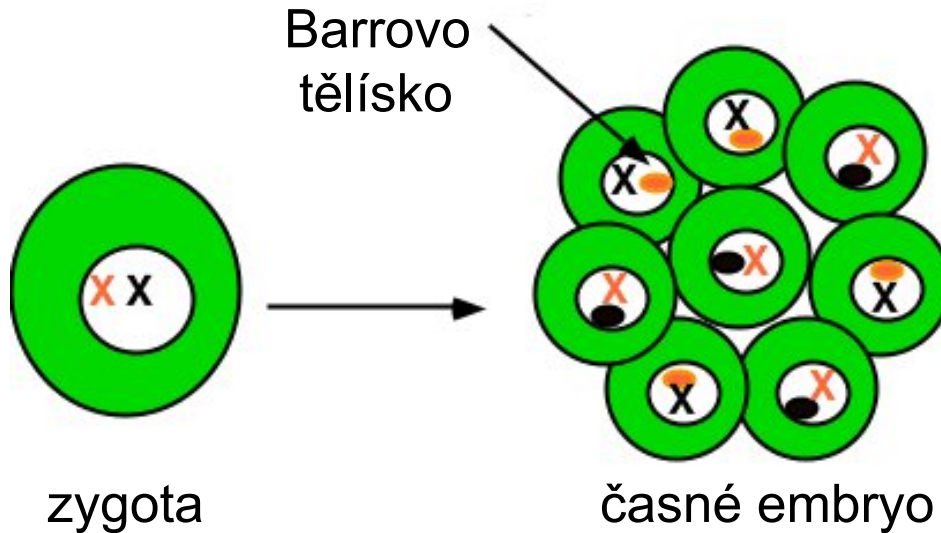
Murray Barr
(1949)



Mary Lyon
(1961)



X-vázaný gen pro pigment



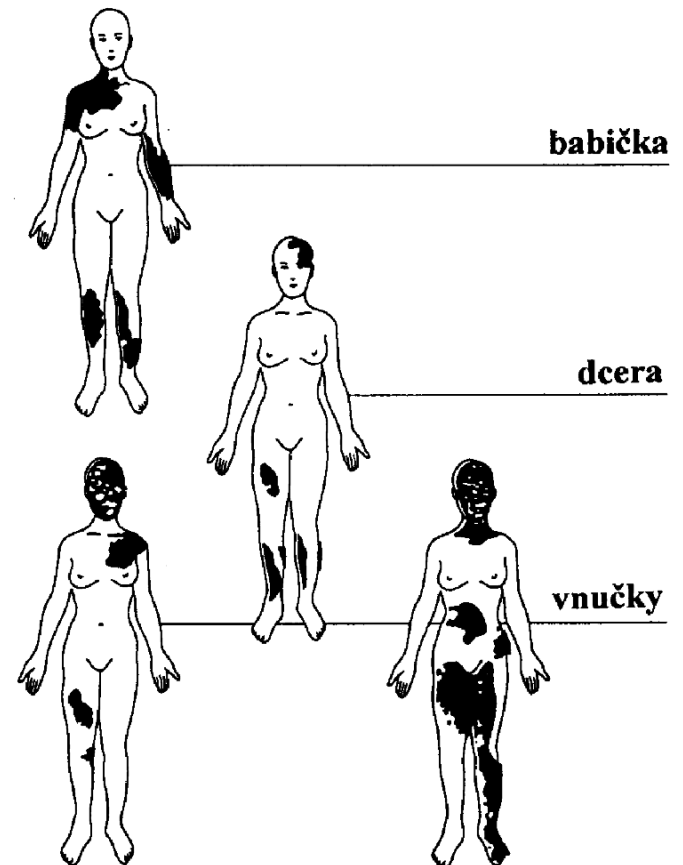
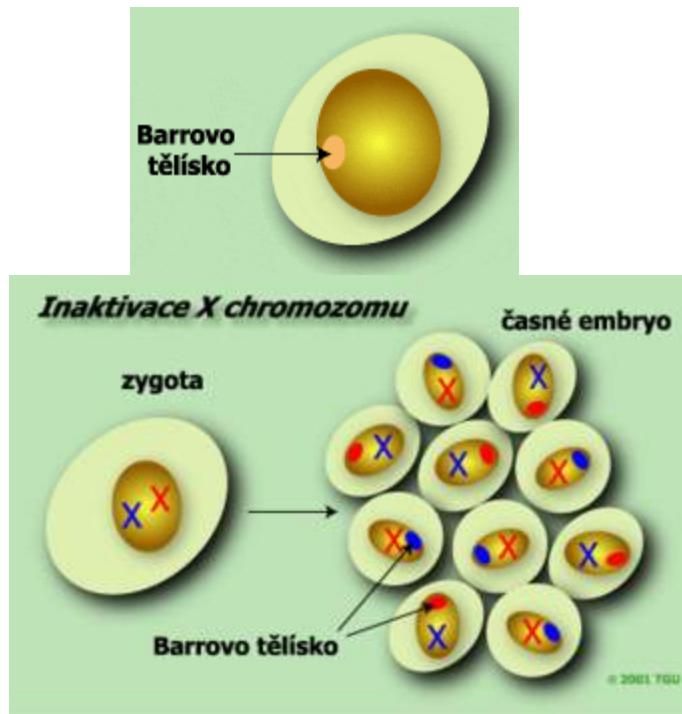
Náhodné umlčování jednoho chromozomu X u samic savců



Klonování jedinců
cestou přenosu
buněčného
jádra do vaječné
buňky náhradní
matky



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



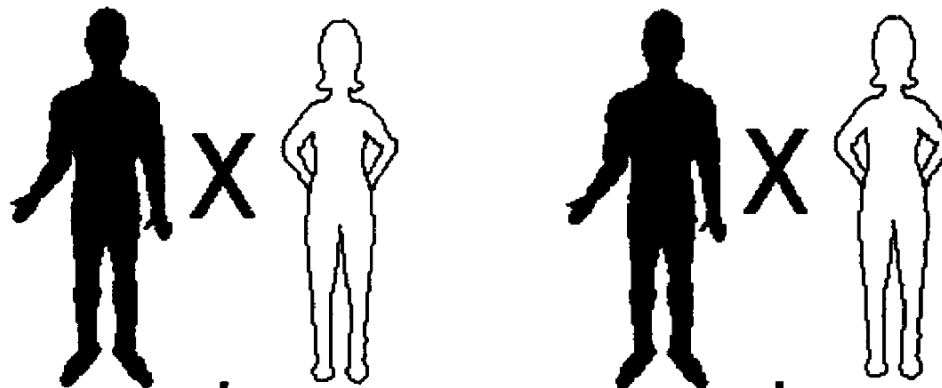


GENOMOVÝ (RODIČOVSKÝ) IMPRINTING

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

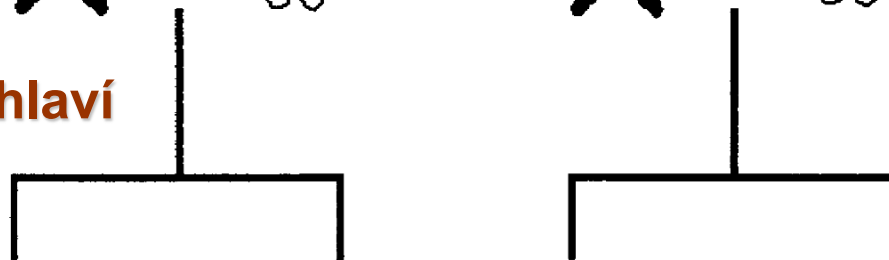
Parentální imprinting

je umlčování genů v následné generaci způsobené modifikací chromatinu



imprinting je závislý na pohlaví rodiče

imprinting není závislý na pohlaví potomstva

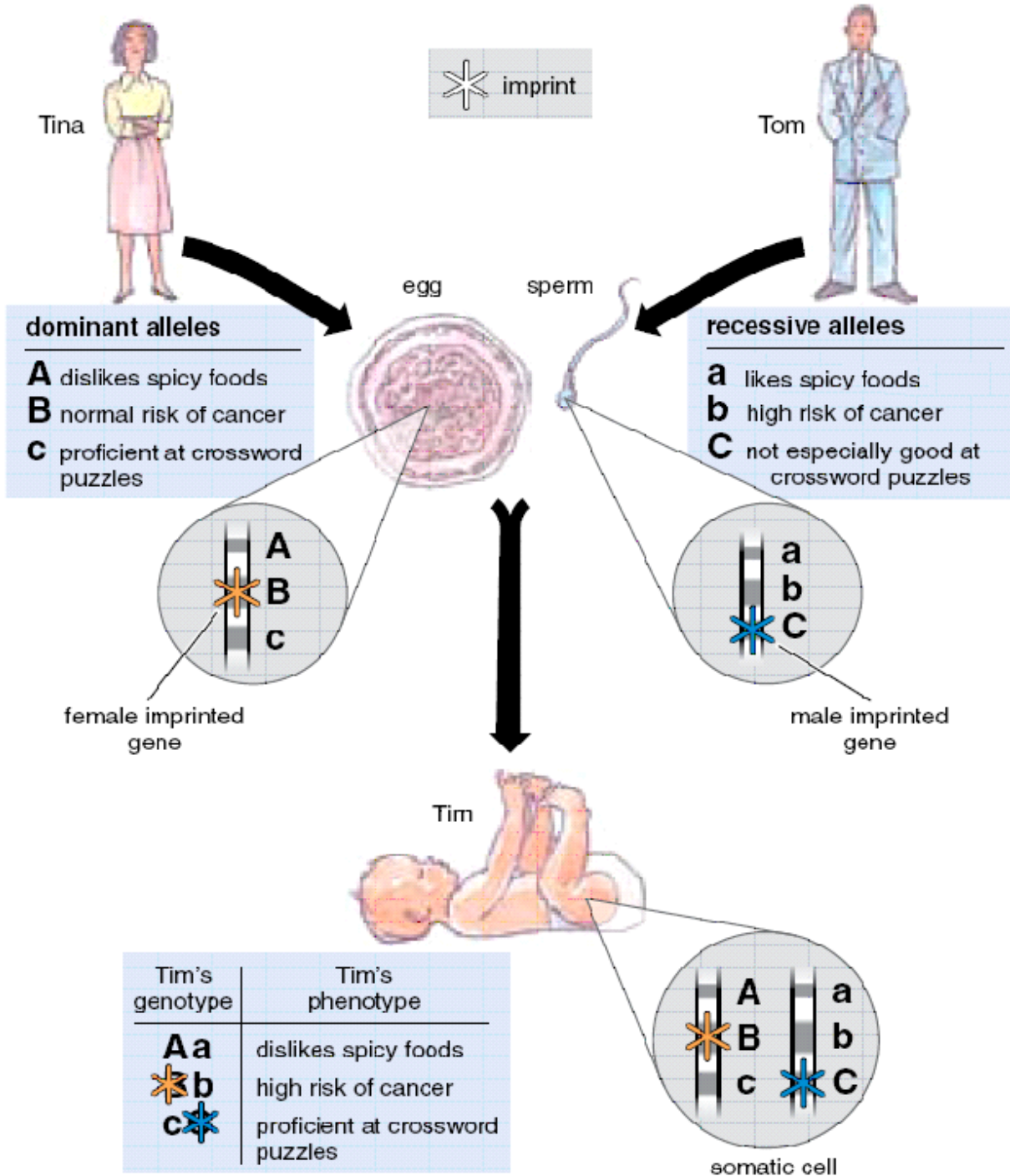


imprintový záznam je obvykle stabilní po celý život jedince

maternální

imprintový záznam se vymaže před meiozou a znovunastaví dle pohlaví jedince

paternální



Dědičnost je řízena mendelisticky i epigeneticky

... 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

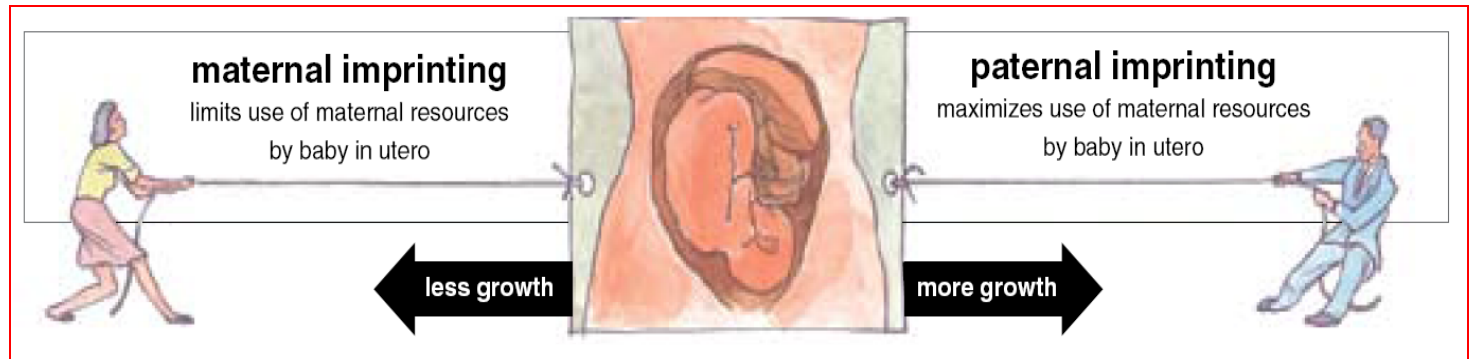
Teorie rodičovského konfliktu

souboj mezi matkou a potomstvem *in utero*

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



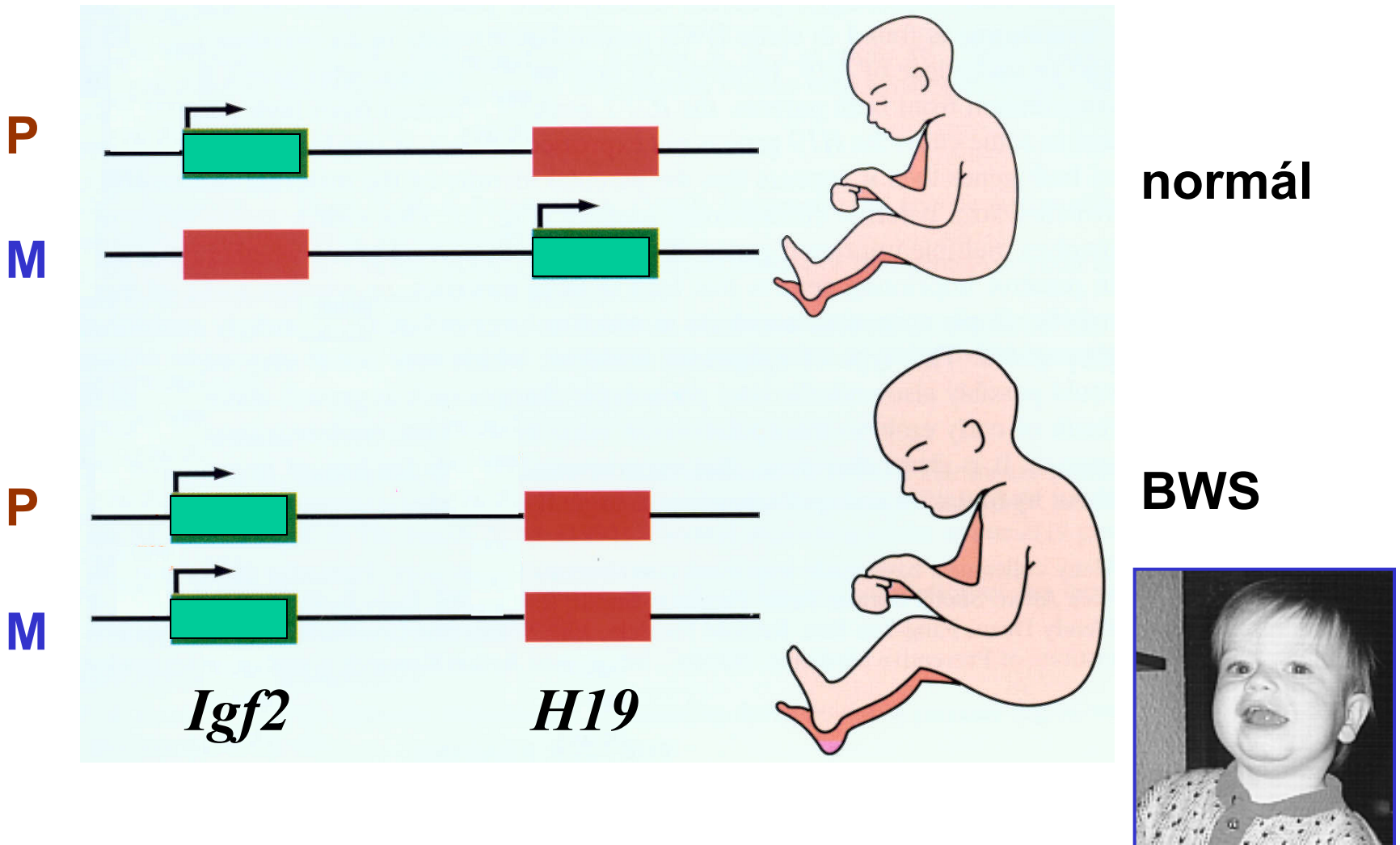
David Haig
(Harvard 1991)



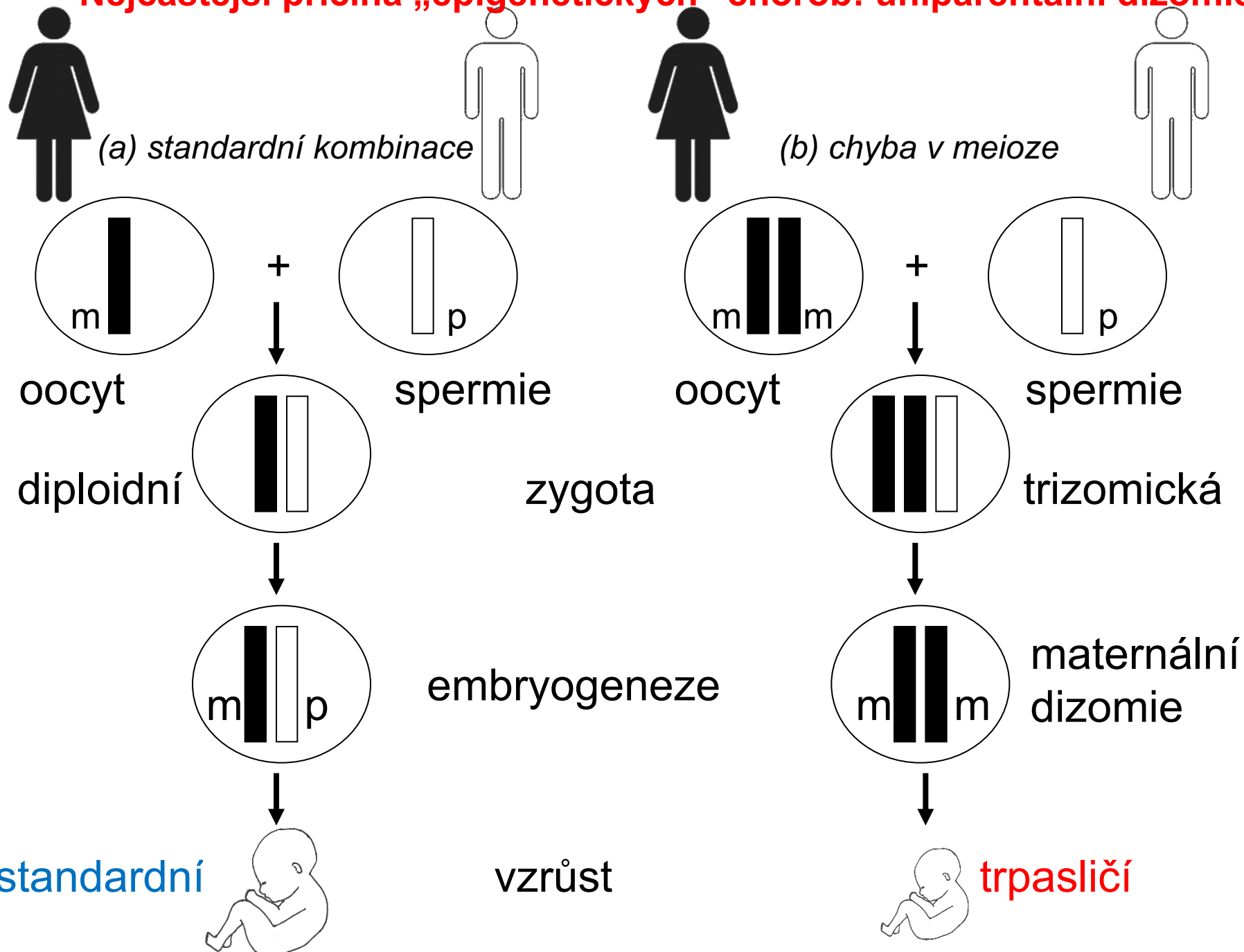
vítězná MATKA :
pohádka o Palečkovi

vítězný OTEC :
pohádka o Otesánkovi

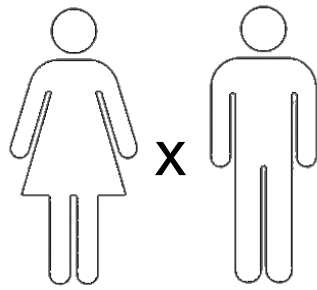
Chybný imprint P-alely (insulinový růstový faktor) či M-alely (růst suprimující H19-RNA) vede k Beckwith-Wiedemannově syndromu (aneb příběh Otesánka)



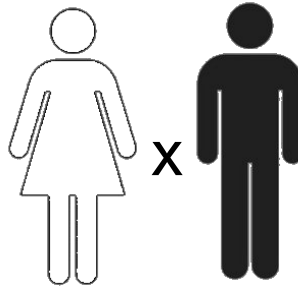
Nejčastější příčina „epigenetických“ chorob: uniparentální dizomie



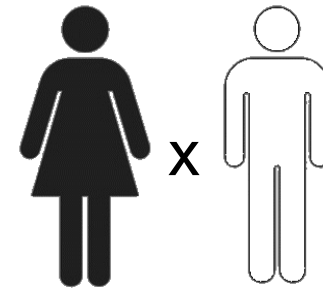
Příklad výskytu mutace v paternálně umlčovaném genu:



oba rodiče zdraví

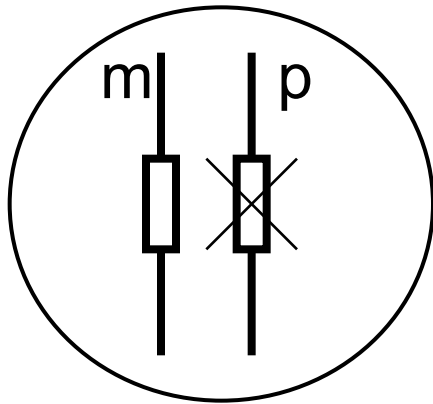


mutantní otec

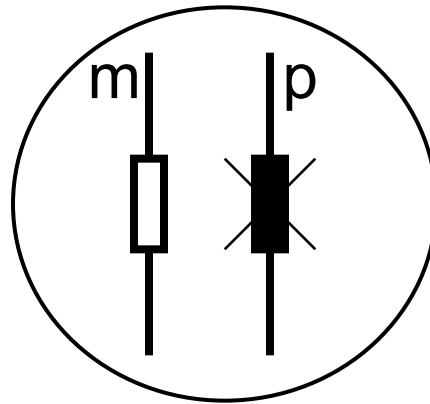


mutantní matka

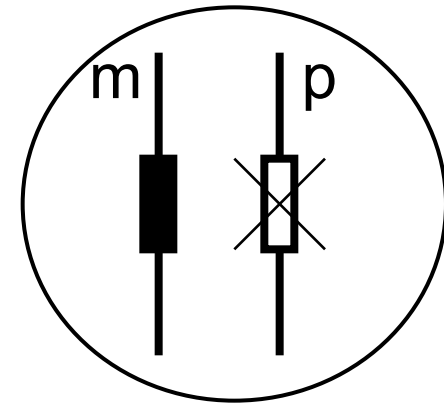
paternální imprinting lokusu ve filiální generaci



zdravé dítě



dítě – přenašeč

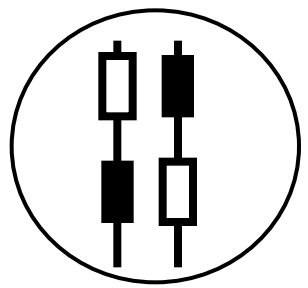
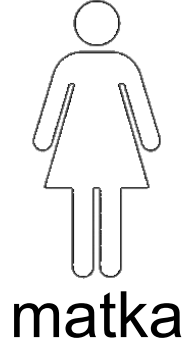


postižené dítě

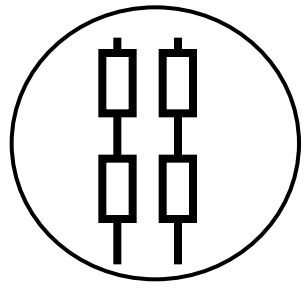
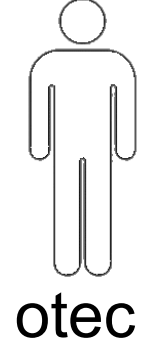
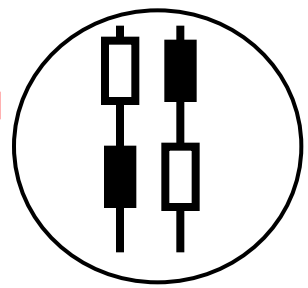
= umlčený gen

= mutovaný gen

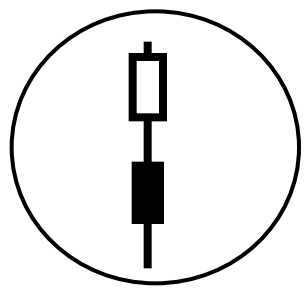
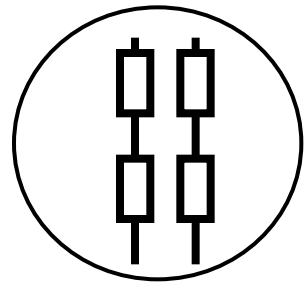
Založení a vymazání genomového imprintingu u savců



imprinting v diploidních somatických buňkách

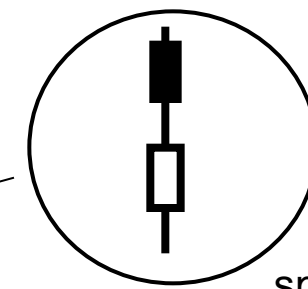


vymazání imprintingu v diploidních zárodečných buňkách



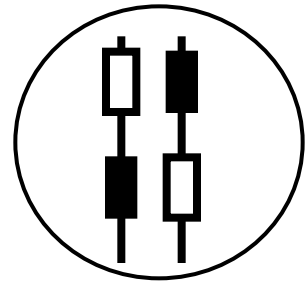
oocyt (samičí imprinting)

založení nového imprintu při gametogenezi



spermie (samčí imprinting)

dítě (syn nebo dcera)



zygota (a somatické linie následující generace)

= exprimovaný gen = umlčený gen

Beckwith-Wiedeman

Parentální imprinting
růstových faktorů:

převaha otce (chr11)



Russel-Silver

převaha matky (chr7)



Prader-Willi

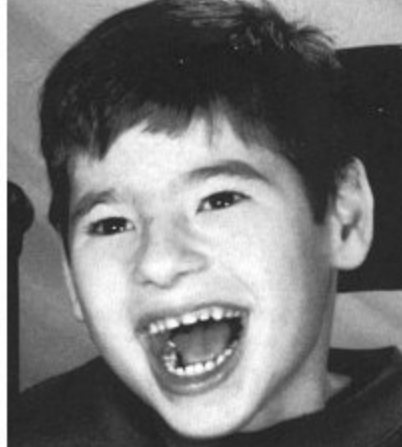
Parentální imprinting
genového shluku (chr15):

paternální delece



Angelman

maternální delece



Martin-Bell

X-chromosom vázané
mentální retardace:

metylace CGG



Rett

mC-vazebný protein

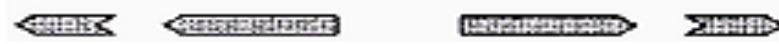


retroelement



eumelanin $\xrightarrow{\text{agouti}}$

phaeomelanin



hair-cycle-specific non coding exons

Agouti coding exons

Agouti Viable Yellow - epigenetický mozaicismus :

metylace retroelementu vede k umlčení ektopické exprese



žlutá myš :
hypometylace
retroelementu

→ ektopická
exprese
agouti

tmavá myš :
hypermetylace
retroelementu

→ umlčení *agouti*

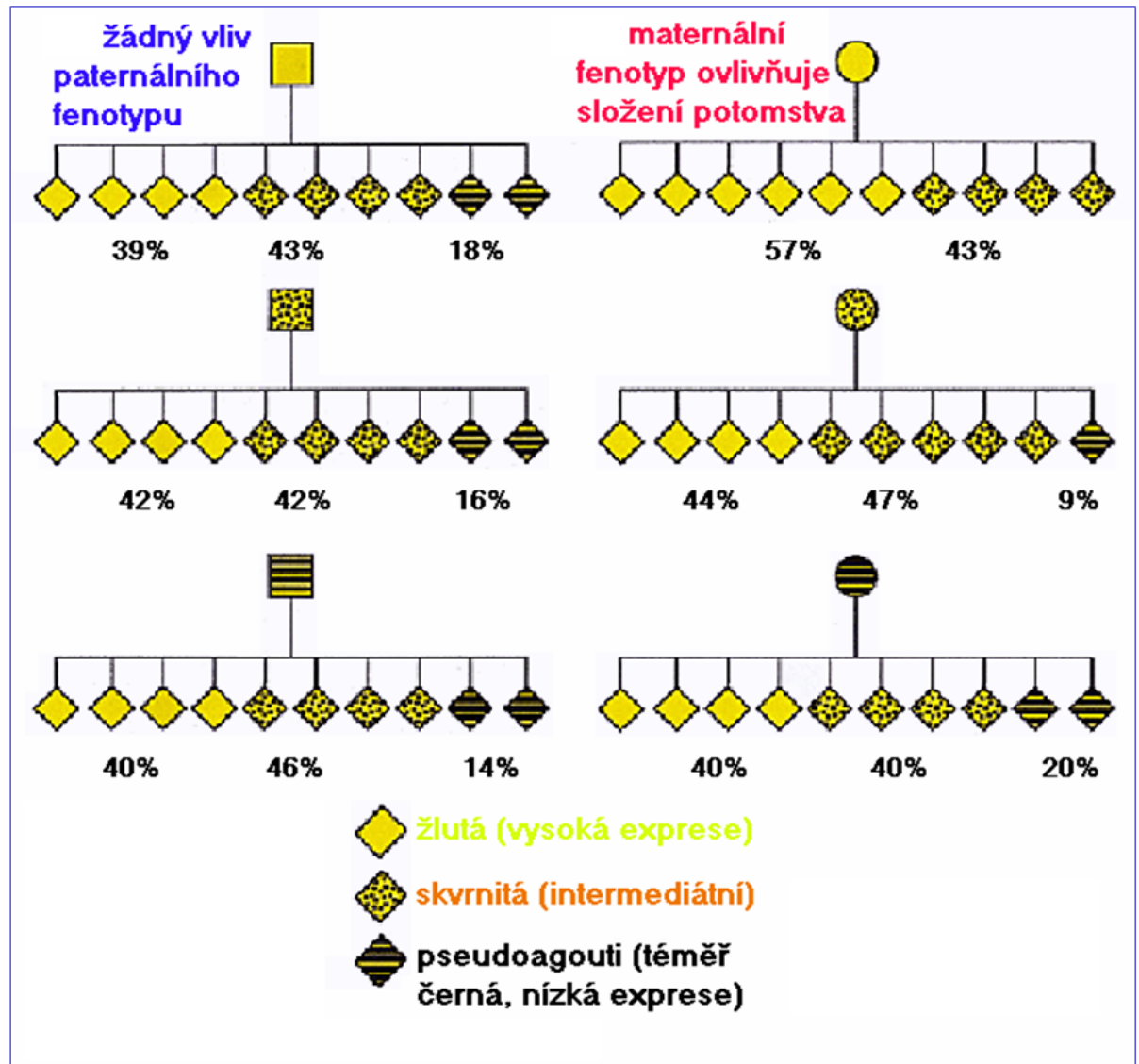
Fenotypová (maternální) dědičnost genu *Agouti* *Viable Yellow*

A^{vy}/a x a/a

výsledky
reciprokých křížení
s recesivním
mutantem



Emma Whitelaw
(Sydney 1999)



Klasifikace epigenetických jevů podle

(i) mediátoru přenosu informace

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

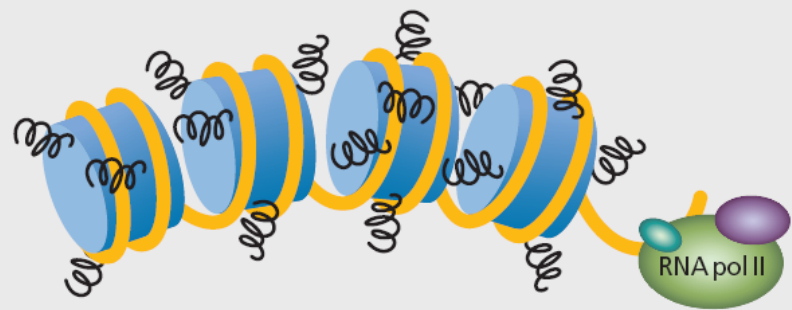
(ii) pravděpodobnosti jevu

- obligatorní, stochastické

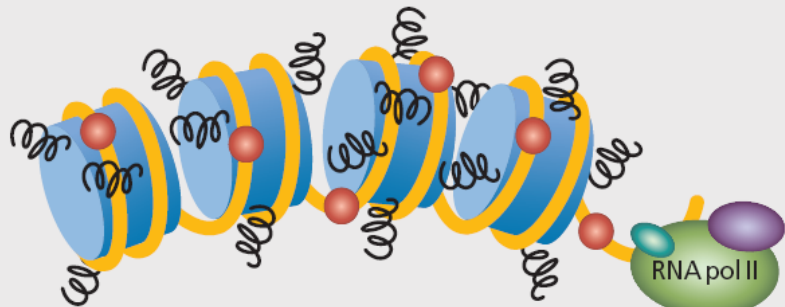
(iii) vzdálenosti přenosu informace

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

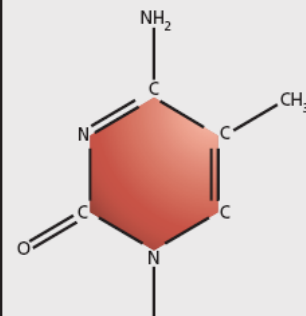
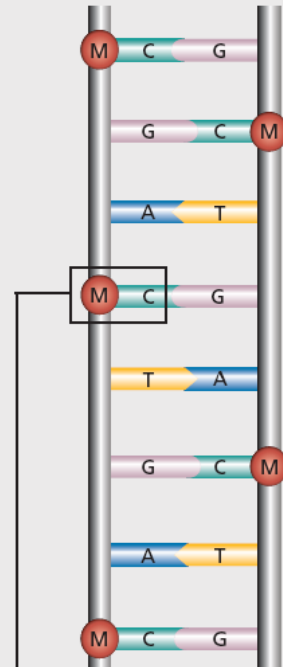
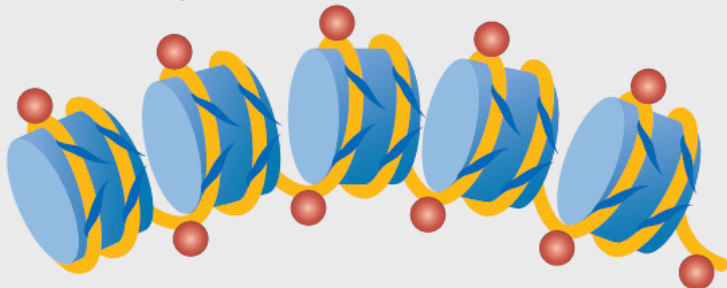
One Epigenetic Mechanism for Repressing Transcription



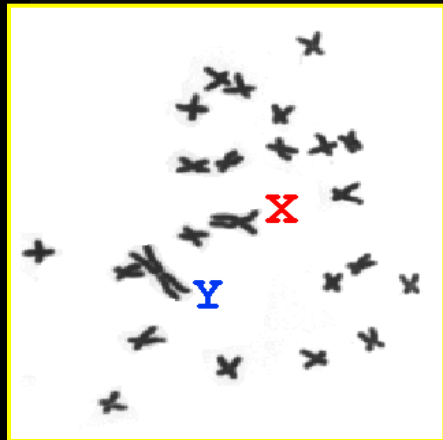
Methyltransferases attach methyl groups to DNA



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



Methyl groups (CH₃) attach to cytosine bases

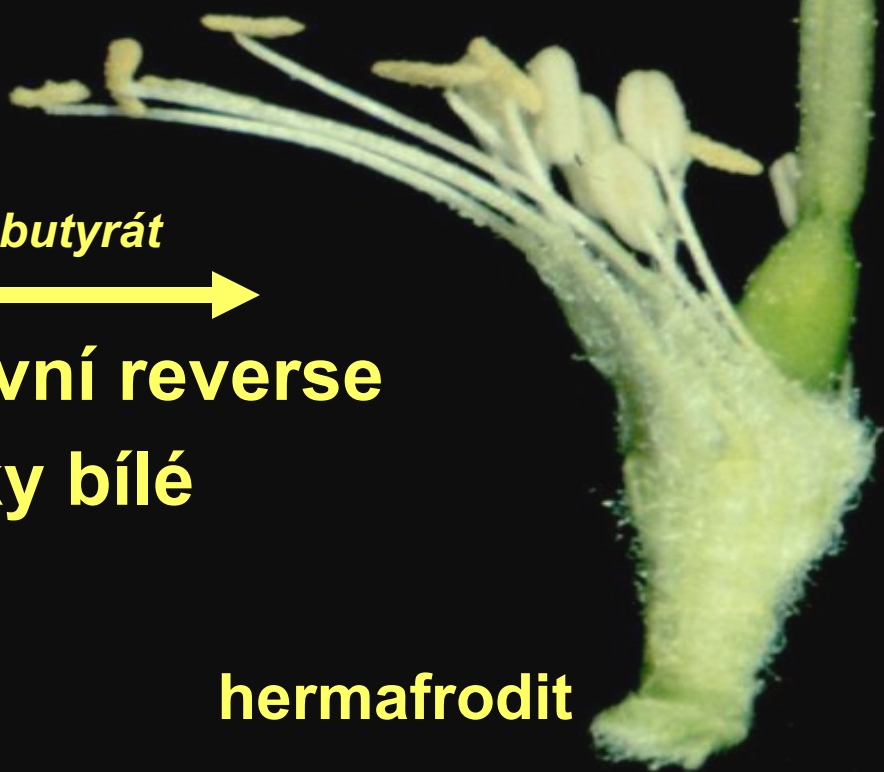


sameček

5-azacytidin, butyrát

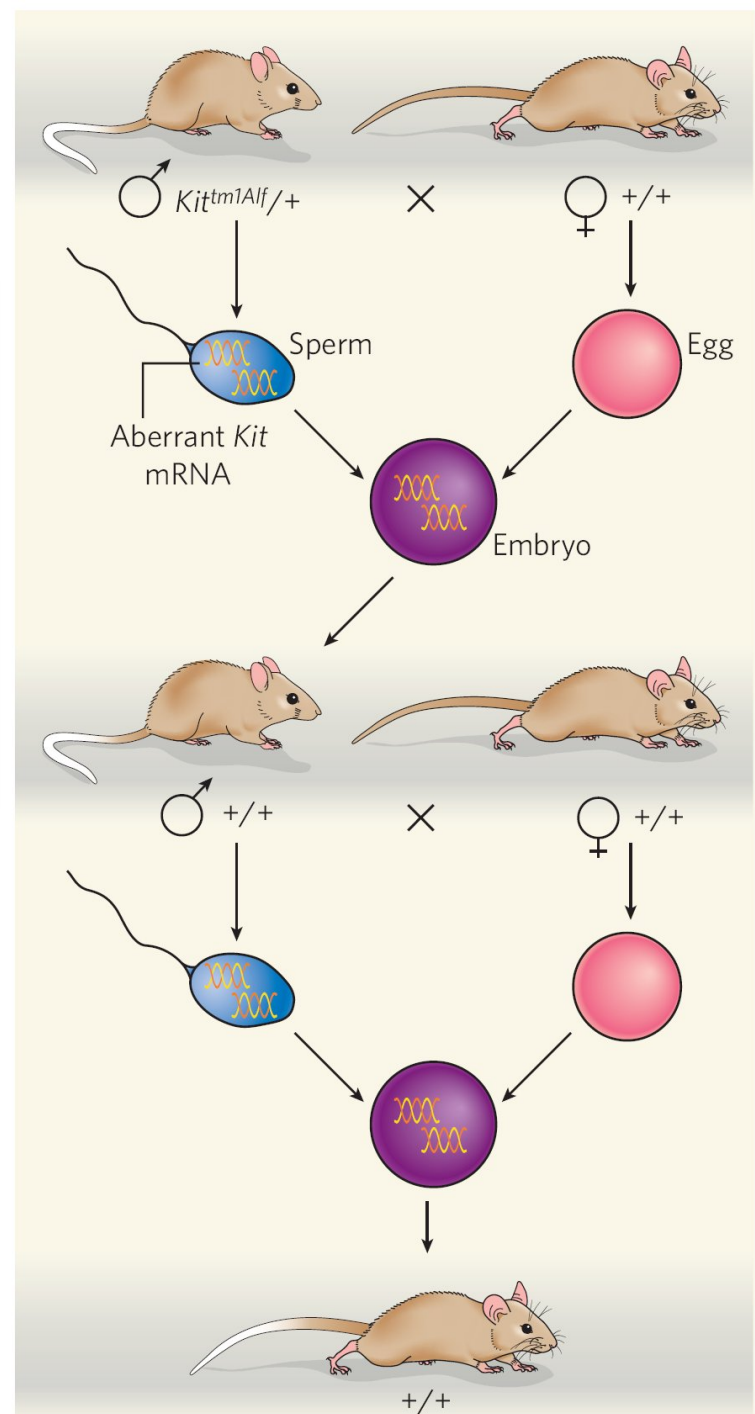


**dědičná pohlavní reverse
u knotovky bílé**



hermafrodit

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^{1,2}, Valérie Grandjean^{1,2}, Pierre Gounon³, Stéphane Vincent^{1,2,†}, Isabelle Gillot^{1,2} & François Cuzin^{1,2}

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*^{tm1Alf} (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*^{tm1Alf/+} 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

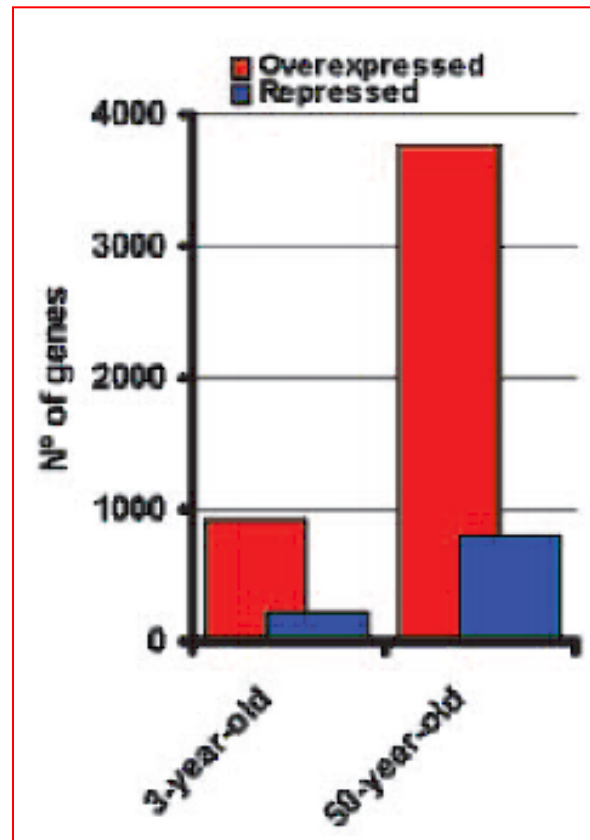
- variabilní penetrance a expresivita

(iii) vzdálenosti přenosu informace

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

Náhodná 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) časové vzdálenosti přenosu

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

Buněčná paměť – Gene bookmarking

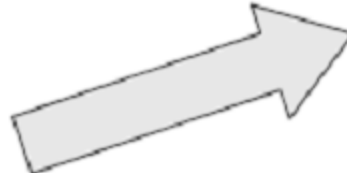
je epigenetický proces, kterým mitoticky se dělící buňky přenášejí specifické stavy svých genových aktivit



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)**

serotonin

mozkový transmitter

cAMP

cyklický adenosin monofosfát

PKA

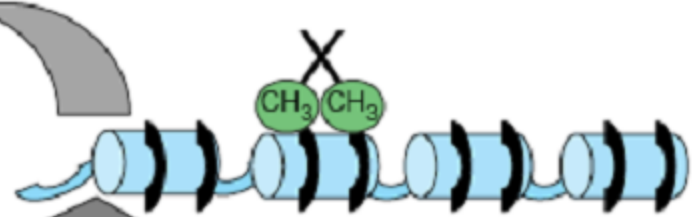
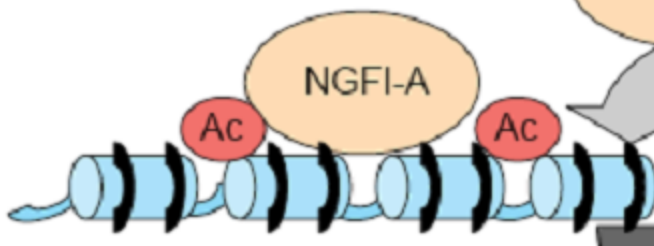
protein kináza A

DNA demetylázy

NGFI-A

mozkový transkripční faktor

histon-acetyltransferázy



DNA-metyltransferáza

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

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

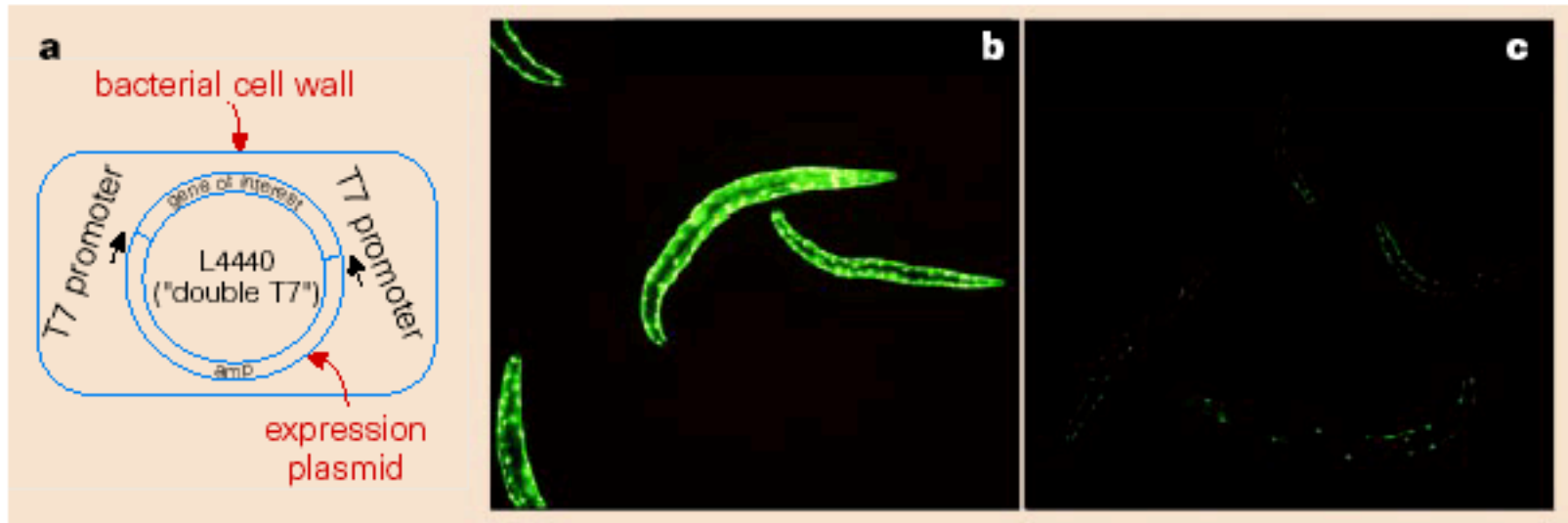
VLIV VNĚJŠÍCH FAKTORŮ ???

Umlčování genů prostřednictvím potravy obsahující dvouvláknovou RNA!

Timmons and Fire - Nature 295: 854, 1998

Baktérie
exprimující
dsRNA

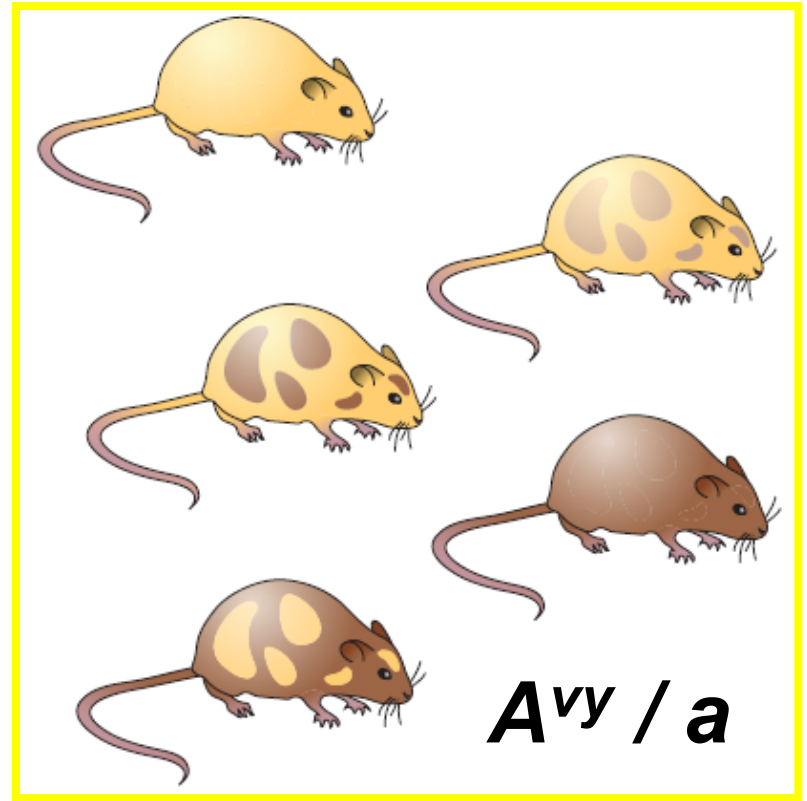
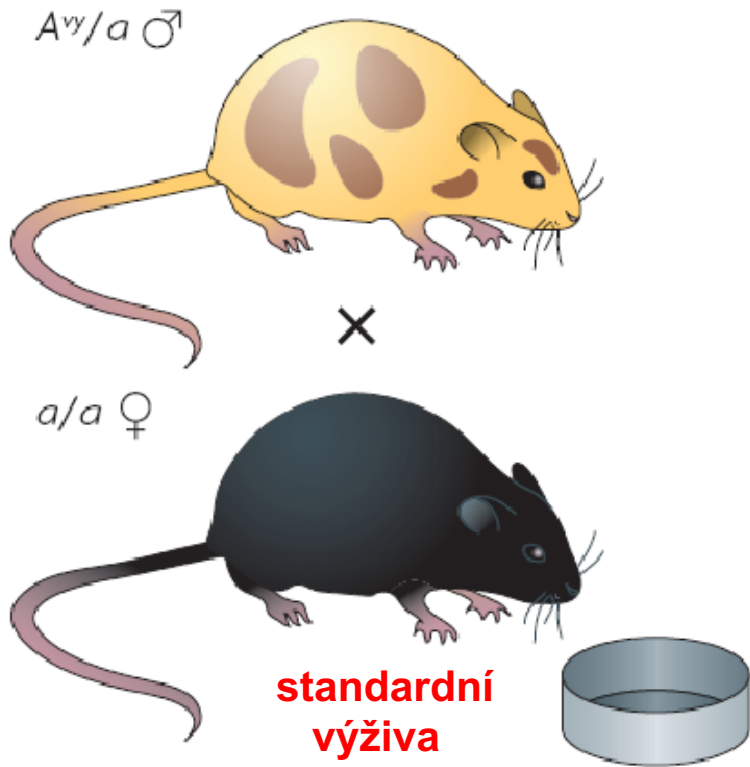
GFP-exprimující červi



....pojídající
standardní
baktérie

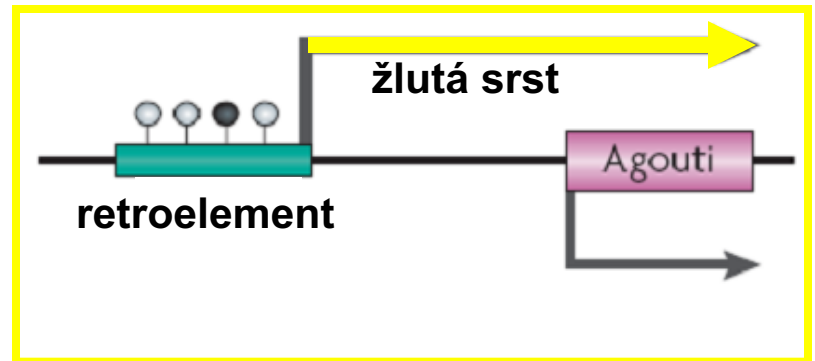
....pojídající
baktérie
exprimující
GFP dsRNA

O barvě myšího kožíšku rozhoduje i dieta matky v těhotenství

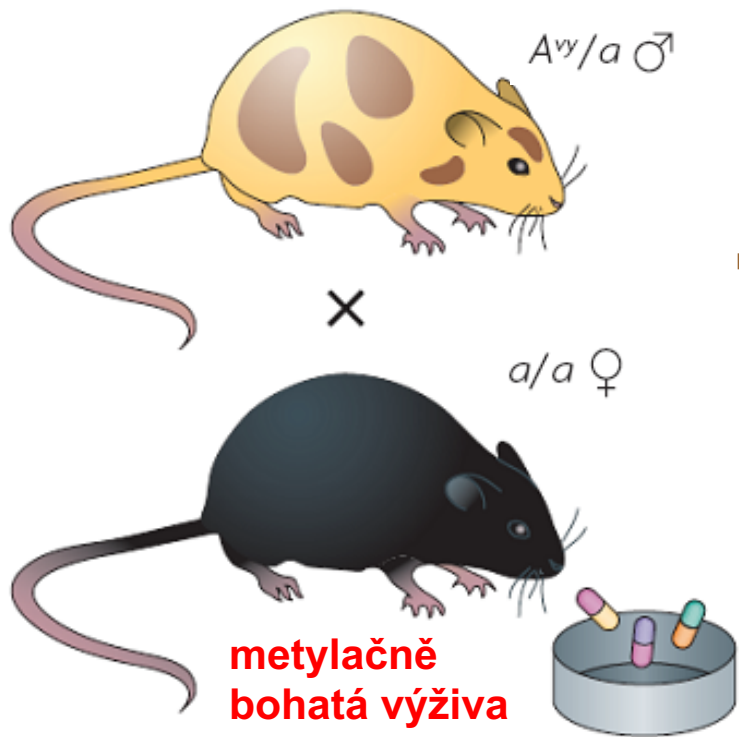


Nedostatečný CH_3 -metabolismus gravidní samičky nezajistí metylaci paternálního transposonu

... ektopická exprese *Agouti*

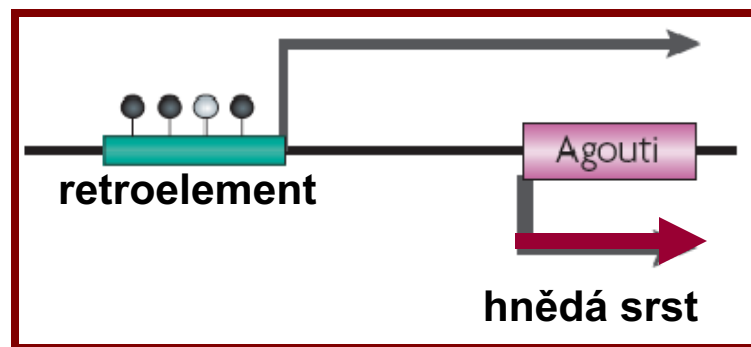


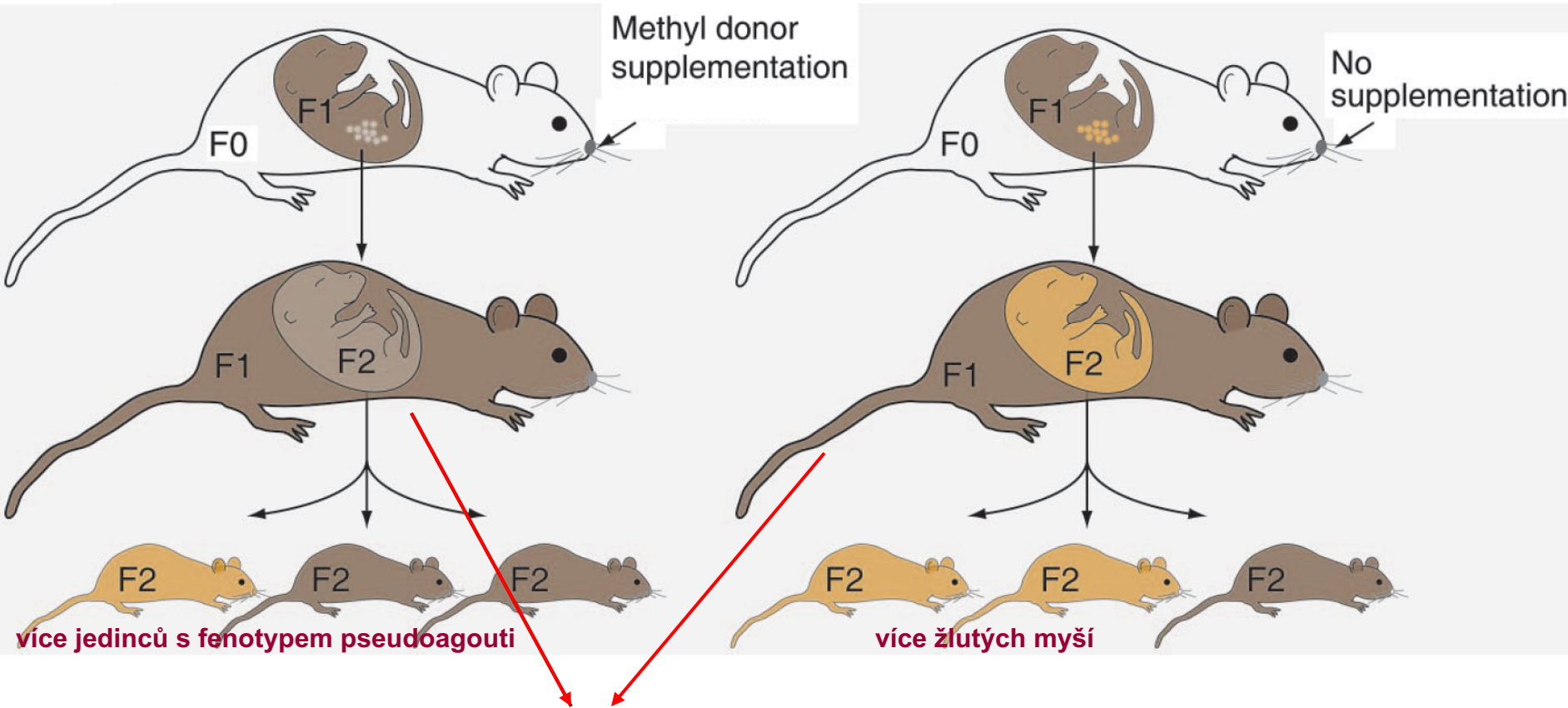
O barvě myšího kožíšku rozhoduje i dieta matky v těhotenství



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

Epigenetické „mezigenerační“ programování porodní váhy a rizika ke kardiovaskulárním chorobám



permanentní programování funkcí

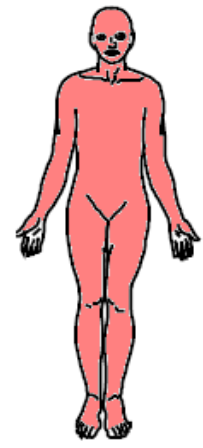
původní environmentální vliv v době těhotenství

drogy, léky, choroby, výživa, chování matky, postnatální péče ...

dítě
nízká porodní váha



přenos epigenetického stavu do další generace
vzrůst ... maternálního kortisolu, insulinu, maternálního krevního tlaku ...

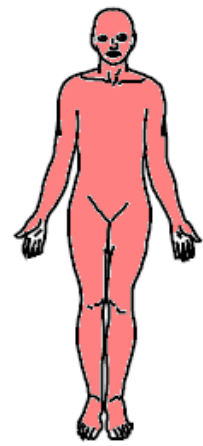
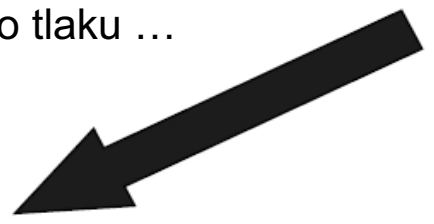


dospělec (matka)

zvýšené riziko kardiovaskulárních chorob, hormonální aktivita, stres



další předávání epigenetického programu (DNA metylační záznam)



dospělec

progresivní udržování / stabilizace
“syndromu choroby”

Epigenetics: A Landscape Takes Shape

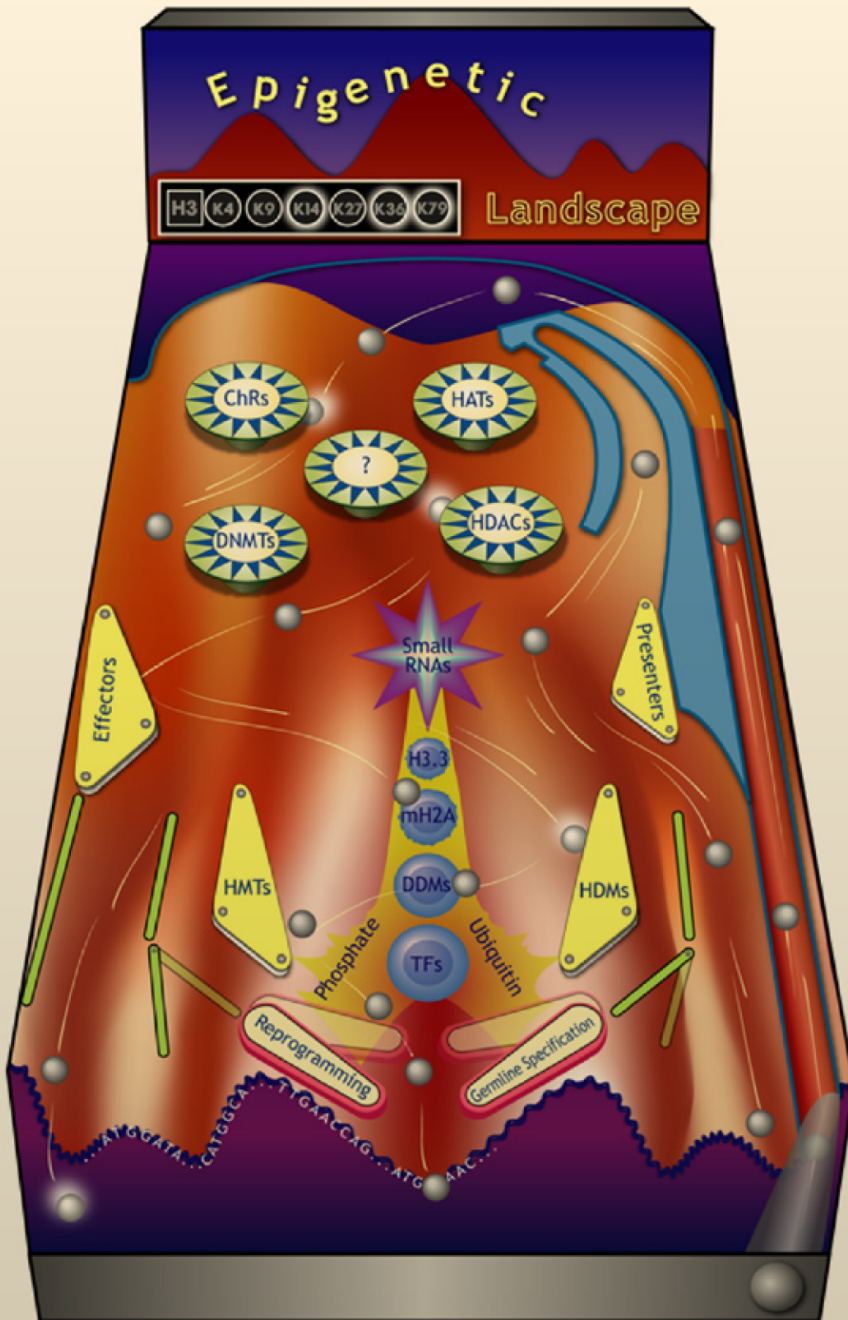
Aaron D. Goldberg,¹ C. David Allis,^{1,*} and Emily Bernstein^{1,*}

¹Laboratory 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 metyltransferázy
 HAT = histon acetyltransferázy
 HDAC = histon deacetylázy
 HMT = histon metyltransferázy
 HDM = histon demetylázy
 DDM = DNA demetylázy
 TF = transkripční faktory

[http://www.ibp.cz/cs/oddeleni/
vyvojova-genetika-rostlin/
e-learning/epigenetika/](http://www.ibp.cz/cs/oddeleni/vyvojova-genetika-rostlin/e-learning/epigenetika/)



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

2010

EpiGenetika

Boris Vyskot