

Je náš osud opravdu skrytý v DNA aneb krátké příběhy z epigenetiky

Roman Hobza

Department of Plant Developmental Genetics

Institute of Biophysics, ASCR

Brno

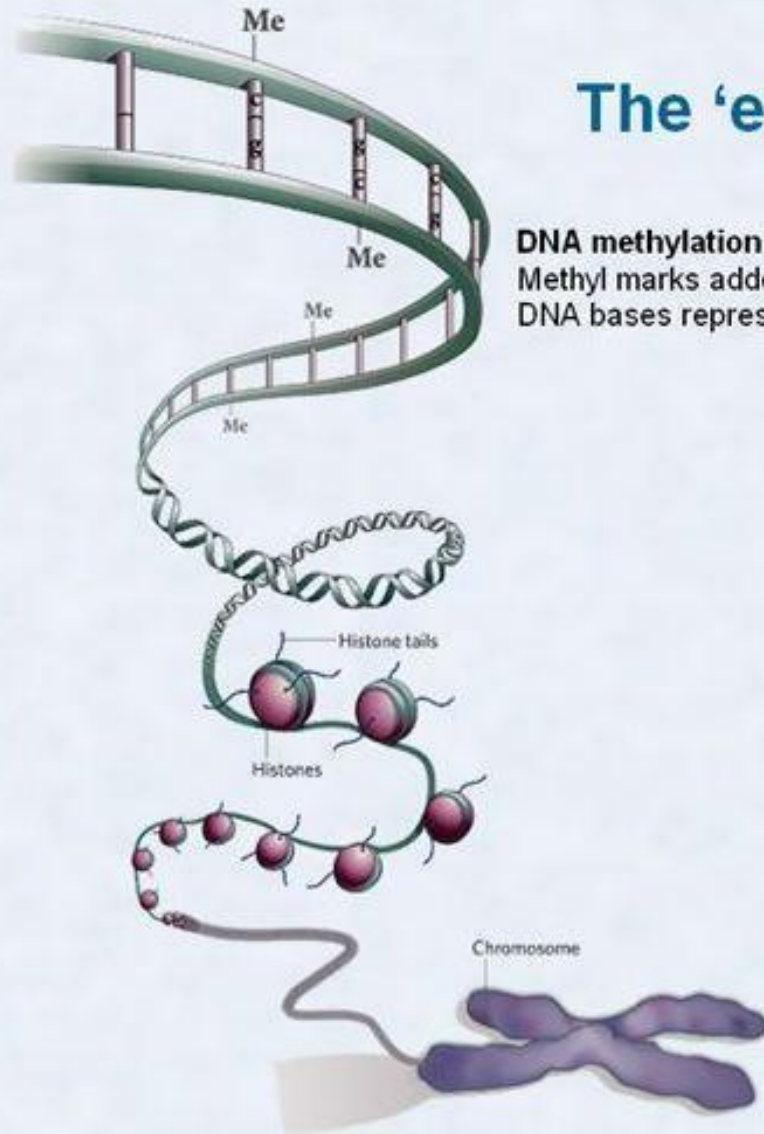
hobza@ibp.cz

Epigenetika (od slova επί/mimo genetiku) je v moderním slova smyslu vědní podobor genetiky, jenž studuje změny v genové expresi (a tedy obvykle i ve fenotypu), které nejsou způsobeny změnou nukleotidové sekvence DNA.

The 'epigenetic' code

DNA methylation

Methyl marks added to certain DNA bases repress gene activity



**Rich Jorgensen a kolegové
vložili gen produkující
pigment do petunií**

**Místo silné pigmentace se
objevily rostliny
variegované a dokonce bílé**

**Jorgensen pojmenoval tento
fenomén "cosuppression"**

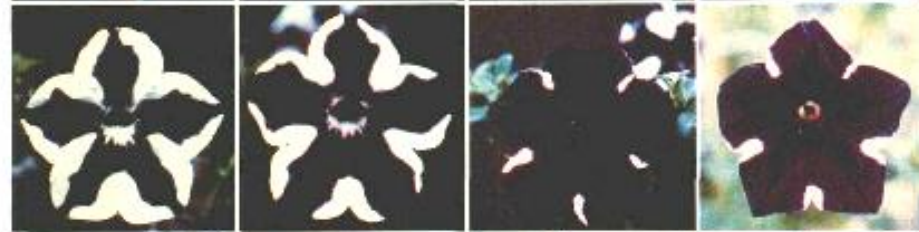
Napoli et al., *Plant Cell*, 1990



Transgenote
218.11



Transgenote
218.43



Transgenote
218.56



Transgenote
218.38



K potlačení exprese docházelo až po proběhnutí transkripce, fenomén byl nazván **PTGS (PostTranscriptional Gene Silencing)**

Již dříve (Matzke et al. 1989) znám fenomén **TGS (Transcriptional Gene Silencing)**

- dva různé geny se stejným promotorem použity na transformaci tabáku
- došlo k metylaci promotorové sekvence
- metylace zmizela po segregaci jednotlivých genů použitých k transformaci

VIGS (Virus Induced Gene Silencing)

Nekodující část virového genomu, kterou byly transformovány rostliny způsobila rezistenci k danému viru

Od hád'átka k Nobelově ceně

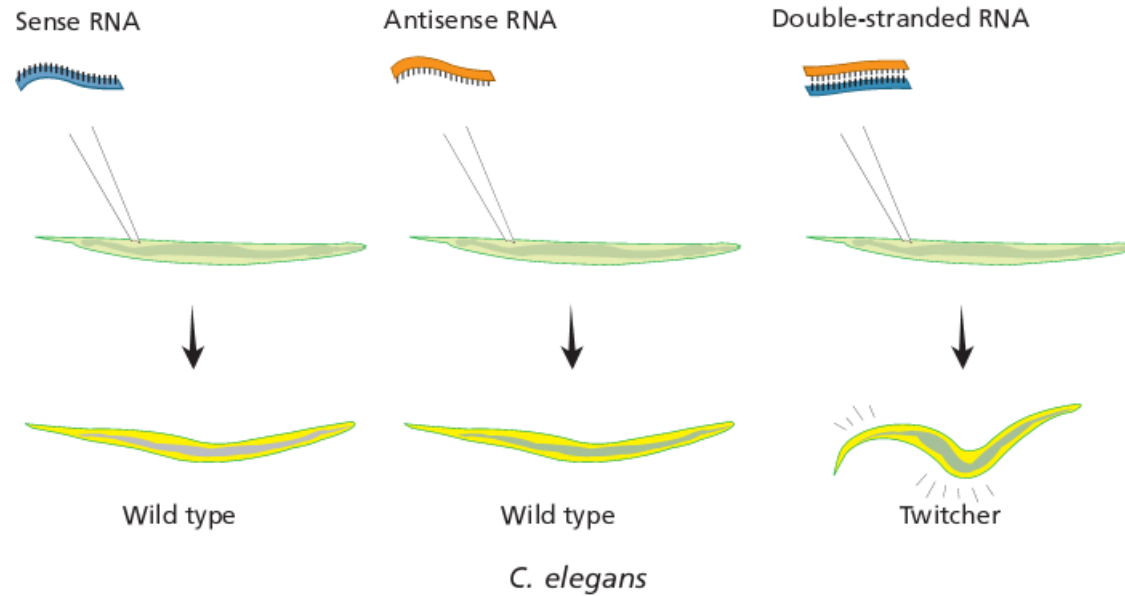


Figure 1. Phenotypic effect after injection of single-stranded or double-stranded *unc-22* RNA into the gonad of *C. elegans*. The *unc-22* gene encodes a myofilament protein. Decrease in *unc-22* activity is known to produce severe twitching movements. Injected double-stranded RNA, but not single-stranded RNA, induced the twitching phenotype in the progeny.

Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*

Author(s): Fire A, Xu SQ, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC

Source: NATURE Volume: 391 Issue: 6669 Pages: 806-811 Published: FEB 19 1998

Times Cited: 3,527 References: 27

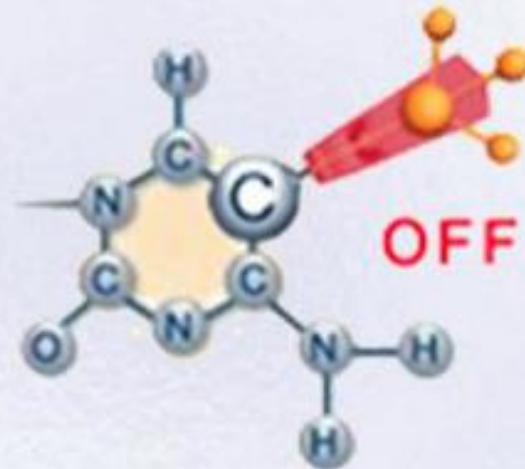
Fire a Mello studovali fenotypový efekt injektované sense a antisense RNA a dsRNA (v podstatě kontrola)

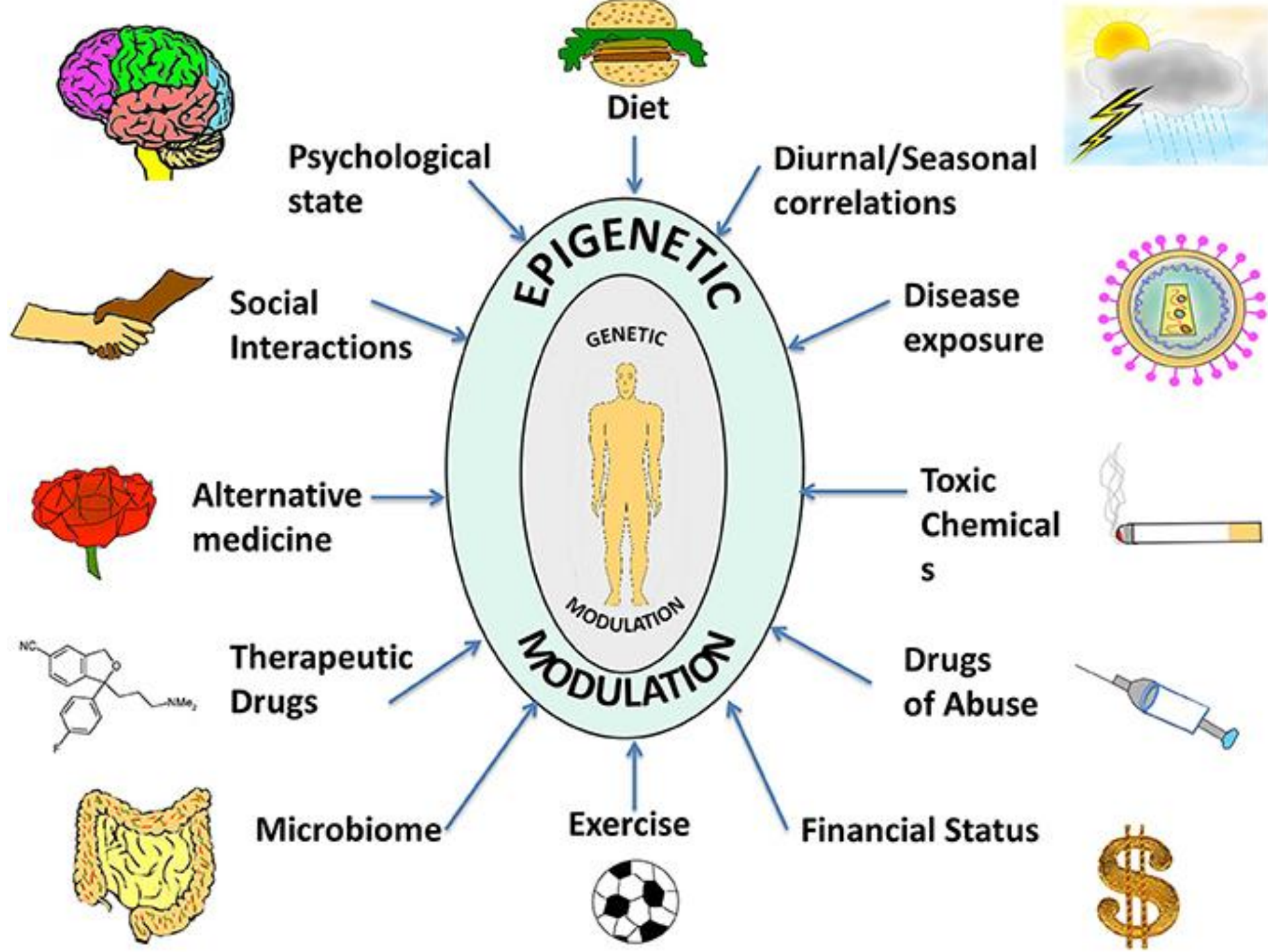
výsledek:

1. dsRNA suprimuje expresi násobně více než ssRNA
2. Suprese specifická pro daný gen
3. K supresi musí dsRNA být homologní k mRNA (ne intron)
4. Cílová mRNA byla degradována
5. Jenom několik molekul dsRNA bylo schopno efektivně utlumit expresi
6. dsRNA suprimující efekt se šířil mezi orgány i do další generace

Cytosine methylation in mammals

- Gene expression
- Chromosomal stability
- Cell differentiation
- Imprinting
- X-Inactivation
- Carcinogenesis
- Aging





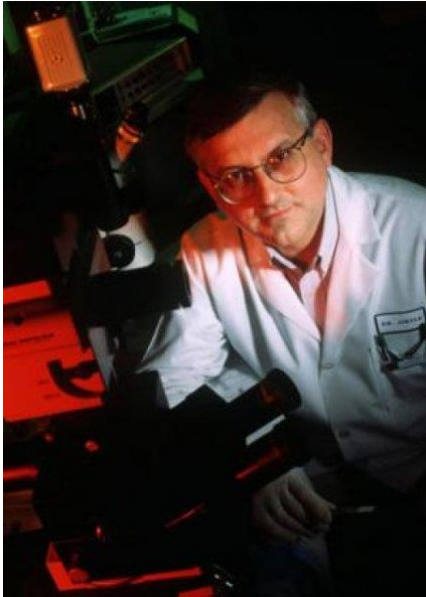
Tyto myši jsou geneticky stejné. Přesto se liší barvou a náchylností k onemocněním. Tento stav byl u nich vyvolán výživou. Ta navodila metylaci genů a změnila jejich funkci. Vlastnost se předává na potomstvo.



Agouti (A^{vy})



Gen agouti souvisí s vyšším výskytem cukrovky a rakoviny.
Myši s vypnutým genem agouti vykazují výrazně nižší výskyt rakoviny a cukrovky než jejich rodiče..



Randy L. Jirtle: „Epigenetickými ději změněný genom neznamená jen jinou barvu srsti, je to také o náchylnosti k obezitě, diabetes, leukémii a dokonce i o chování.“

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 imun skeletální dysplázie
Rubinstein-Taybiho syndrom
Facioscapulohumerální svalová dystrofie

[4] X-VÁZANÉ EPIGENETICKÉ PORUCHY

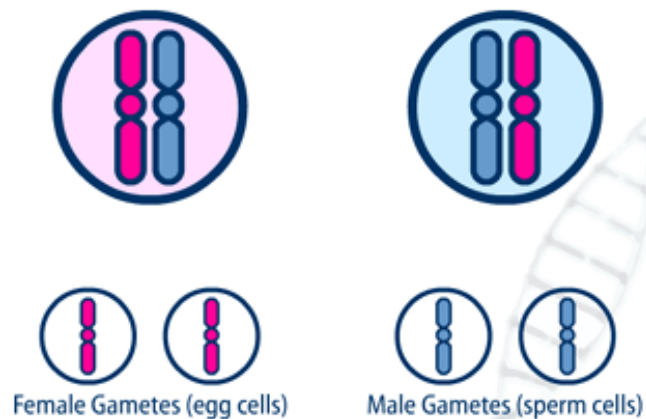
Martin-Bellův syndrom
Mentální retardace vázaná na α -thalasemii
Cofflin-Lowryho syndrom

[5] NÁDOROVÉ BUJENÍ

Wilmsův renální tumor

Imprinting

Genomový (též nazývaný parentální nebo gametický) imprinting je definován jako reverzibilní proces, kdy specifická modifikace genů v parentální generaci vede k funkčním rozdílům mezi paternálními a maternálními genomy v diploidních buňkách potomstva..



"parental conflict hypothesis"

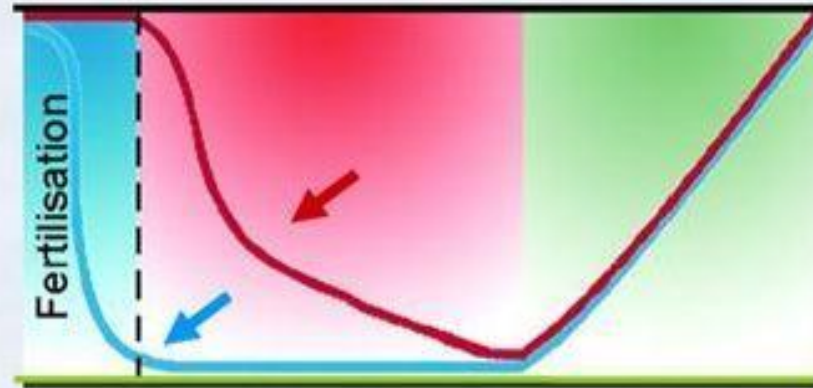
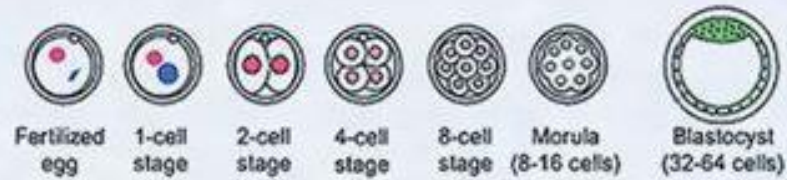


Beckwith-Wiedemann
Syndrom

Russel-Silver
Syndrom

IGF-2 gen
H19

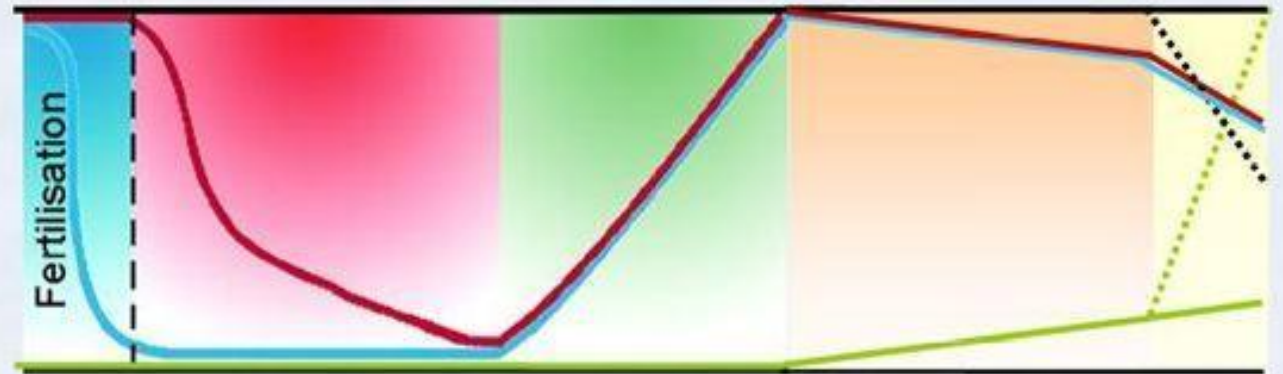
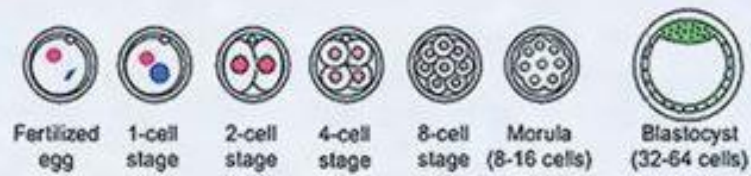
Reprogramming the DNA methylome



Embryo

- Imprinted genes
- Paternal genome
- Maternal genome
- CpG islands

Reprogramming the DNA methylome



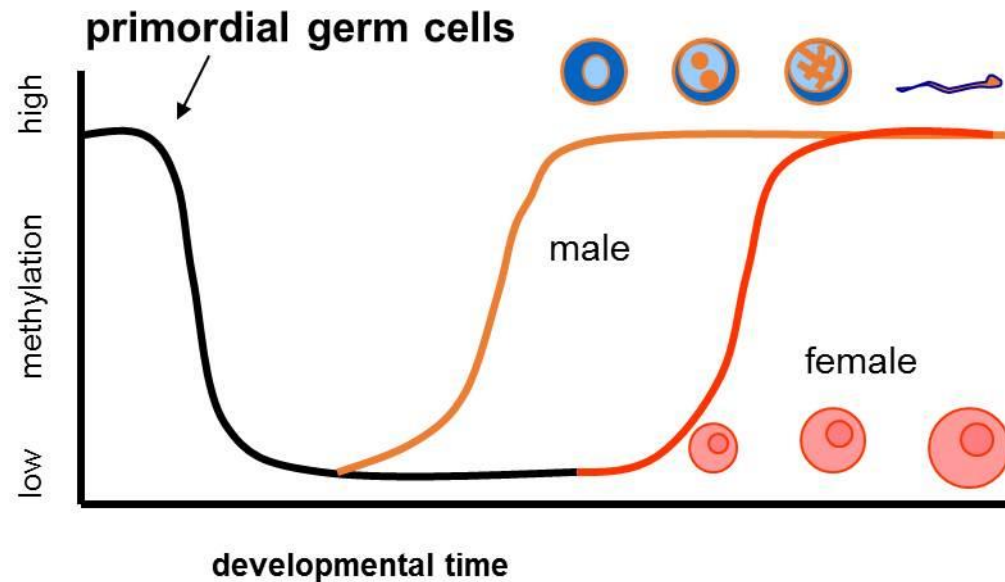


Beckwith-Wiedemann Syndrom se vyskytuje u IVF dětí s frekvencí 1:1300 (v běžné populaci 1:13000)

Fertility Treatments Can Change DNA Methylation Patterns

- **Ovulation stimulation:**
 - Maturation and ovulation of oocytes with incomplete/aberrant DNA methylation
- **In vitro fertilization (IVF):**
 - *In vitro* embryo culture disrupts proper imprint maintenance during global genome demethylation
- **Intracytoplasmic sperm injection (ICSI):**
 - Sperm with incomplete/aberrant methylation bypass natural selection

Changes of DNA methylation during germ cell development

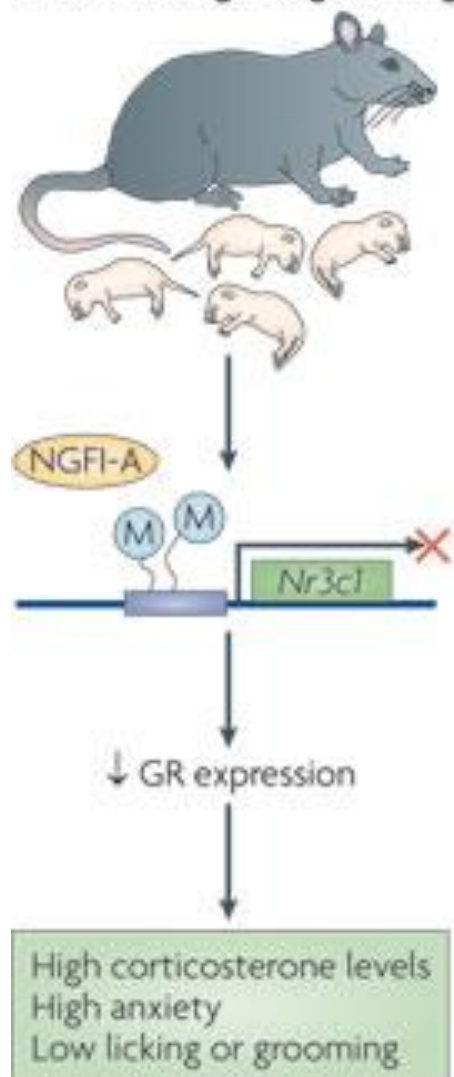


V průběhu ontogeneze dochází u savců k rozsáhlým změnám ve stupni metylace cytosinu. V primordiálních pohlavních buňkách dochází k výrazné demetylaci, ve vlastních gametách je metylace opět výrazná (včetně imprintů), v průběhu embryogeneze (in utero) zase vznikají nové metylační záznamy.

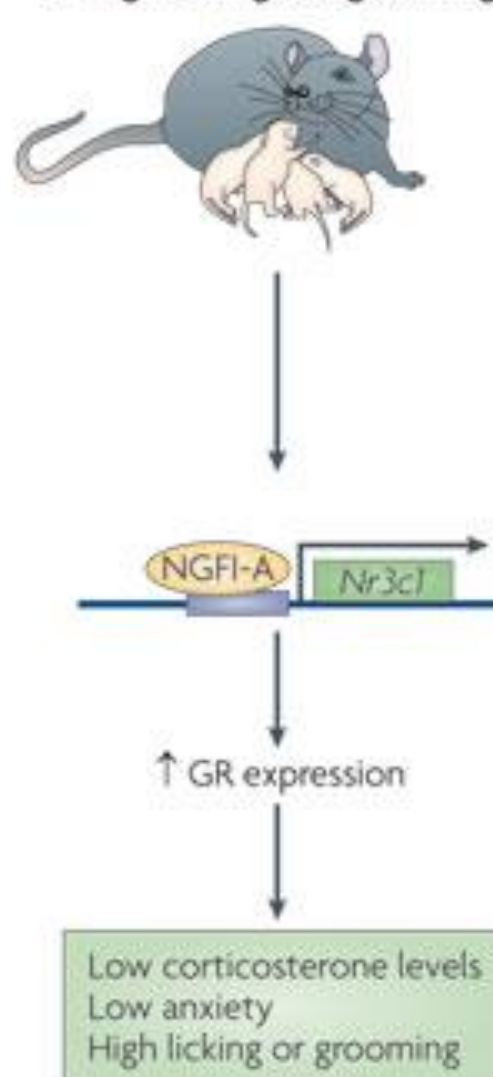
Tím, jak se chováme k našim dětem,
ovlivňujeme život našich vnoučat.



a Low licking and grooming



b High licking and grooming



Nr3c1 gen – jeho špatná funkce souvisí u člověka
s mnoha psychopatologickými poruchami
(absolutní neschopnost snášet stres)

Dědičnost traumat

Příklad lidí, kteří přežili holokaust

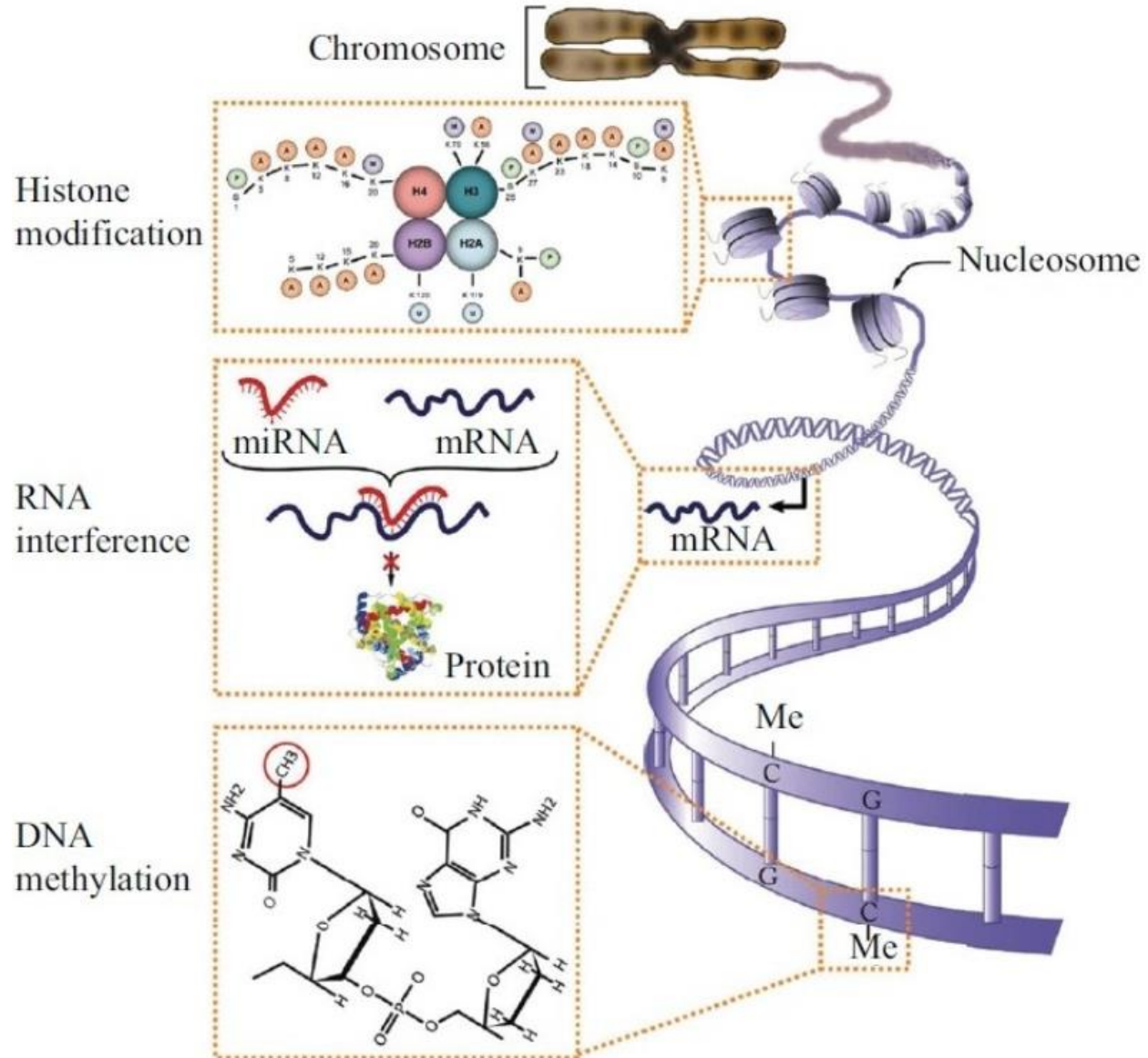


Porušení exprese genů regulujících metabolismus kortikoidů
– epigenetická regulace

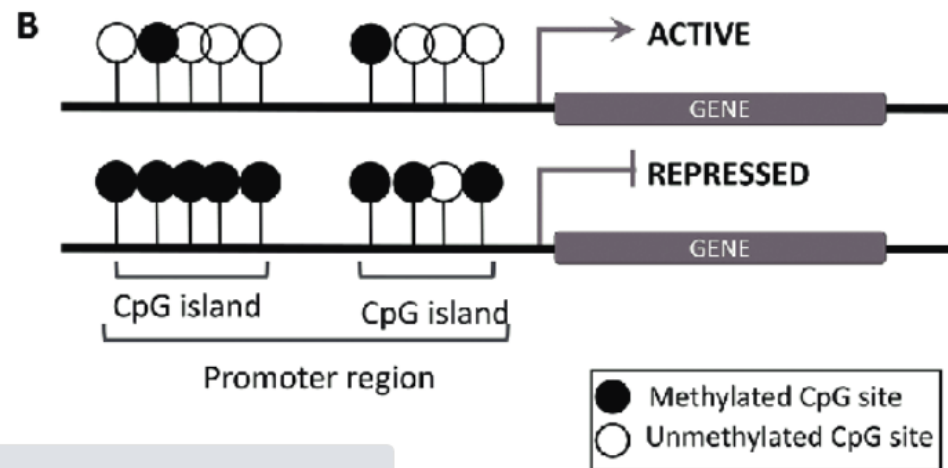
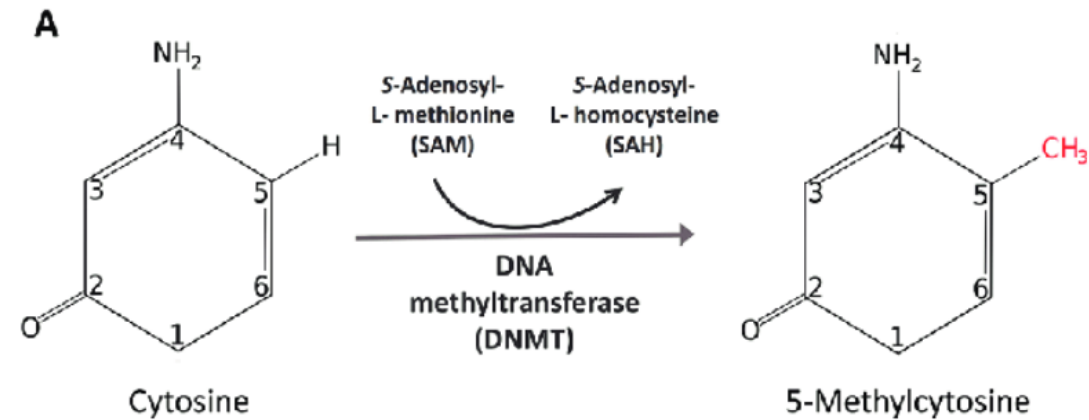
Epigeneticky porušené transkripční profily se udržely 3 generace

Zvýšená frekvence cukrovky, obezity, psychické problémy

Epigenetika a sociální hmyz



Včely na rozdíl od rodu *Drosophila* (divergenční doba cca. 300 mil. let) metylují CpG residua v genomu.



DNA-methyltransferáza 1 a 3 jsou enzymy, které katalyzují přenos methylových skupin na specifické struktury CpG v DNA, což je proces zvaný methylace DNA

1% CpG nukleotidů je metylováno v genomu *Apis mellifera* (Lyko et al., 2010) – u savců je to 60–90% (Li et al., 2010)

Na rozdíl od bource morušového (nemá DNMT3) a drozofily (nemá ani DNMT1 ani DNMT3) jsou ovšem klíčové metylační geny u sociálního hmyzu přítomné (DNMT1 a DNMT3).

První komplexní studie epigenomu u eusociálního hmyzu ukazující rozdíly v metylacích DNA mezi dělnicemi a královnou.

Lyko, F. et al. The honey bee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS Biol.* 8, e1000506 (2010).

Epigenetické procesy regulují u sociálního hmyzu

dobu dožití
morfologii
komplexní sociální chování

A pravděpodobně spoustu dalších znaků

Socioepigenomika

Je to všechno jenom hra s geny u sociálního hmyzu, nebo jsou lidé na tom podobně?

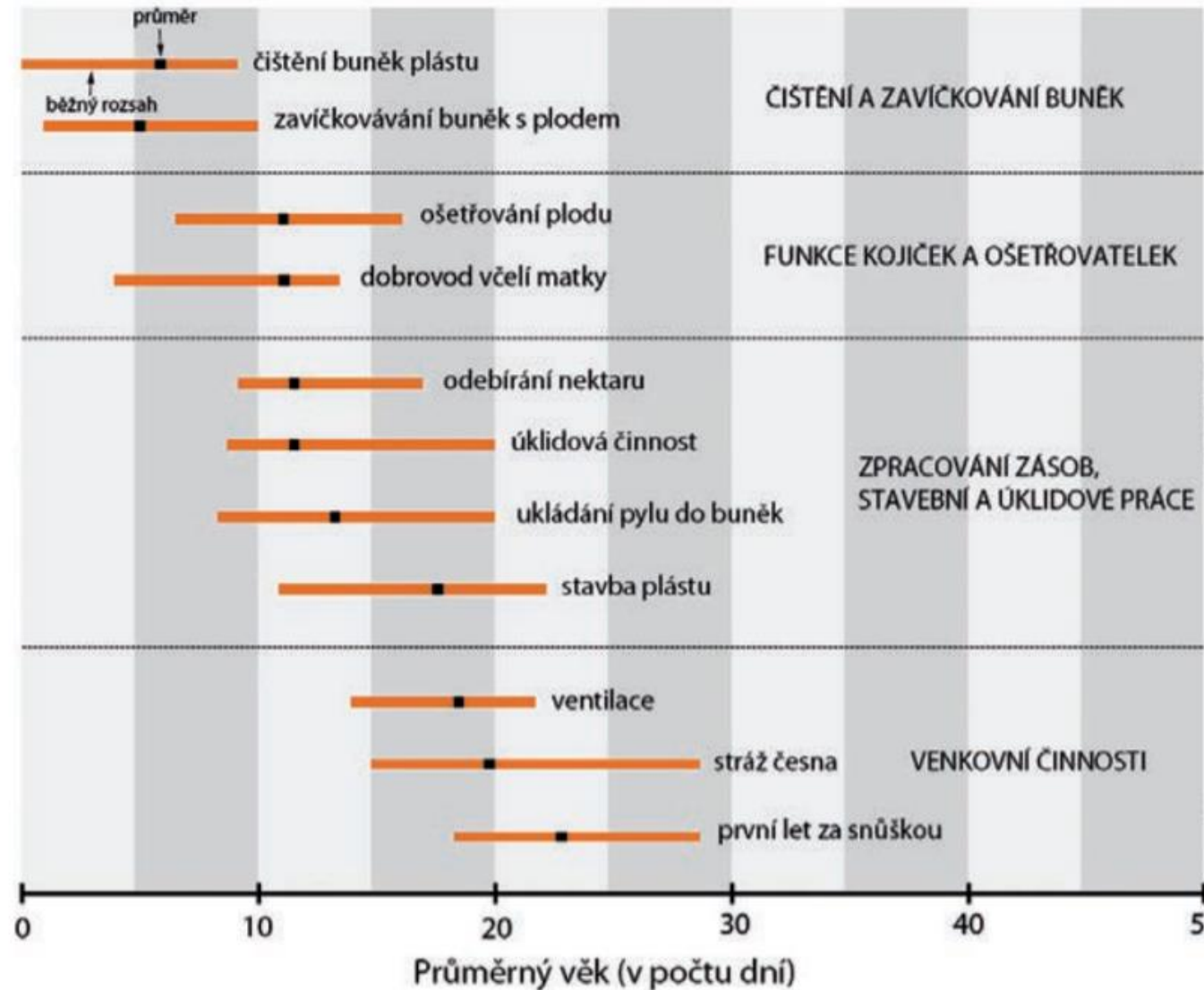
Epigenetická podstata přechodu mezi jednotlivými životními cykly dělnice

Velké rozdíly v metylomu sub-kast u včel

Herb et al., 2012 Reversible switching between epigenetic states in honeybee behavioral subcastes, Nature Neuroscience

Dělba práce určovaná stářím jedinců a přechod mezi jednotlivými stádii je pravděpodobně dán epigeneticky

Včela medonosná

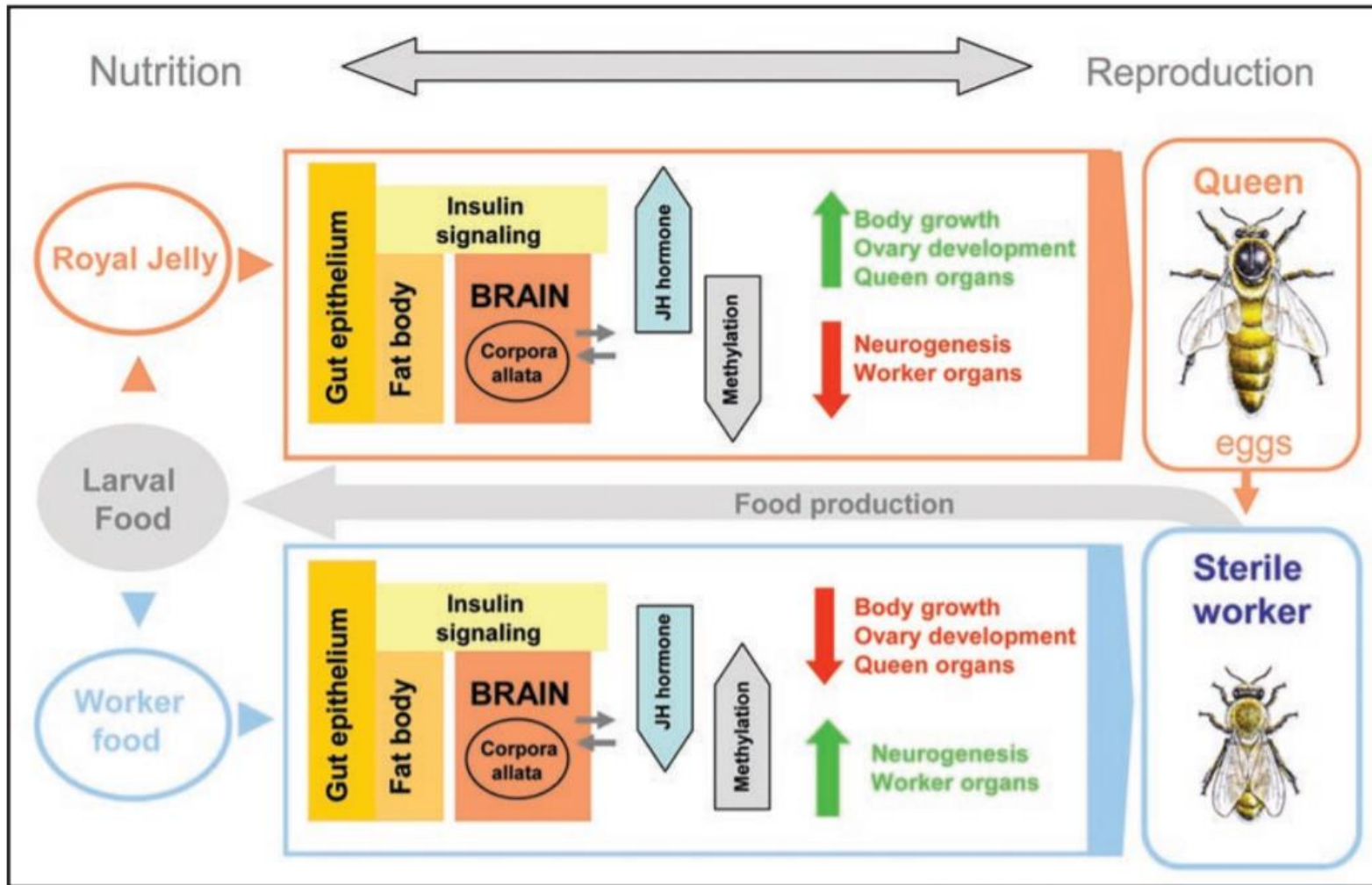


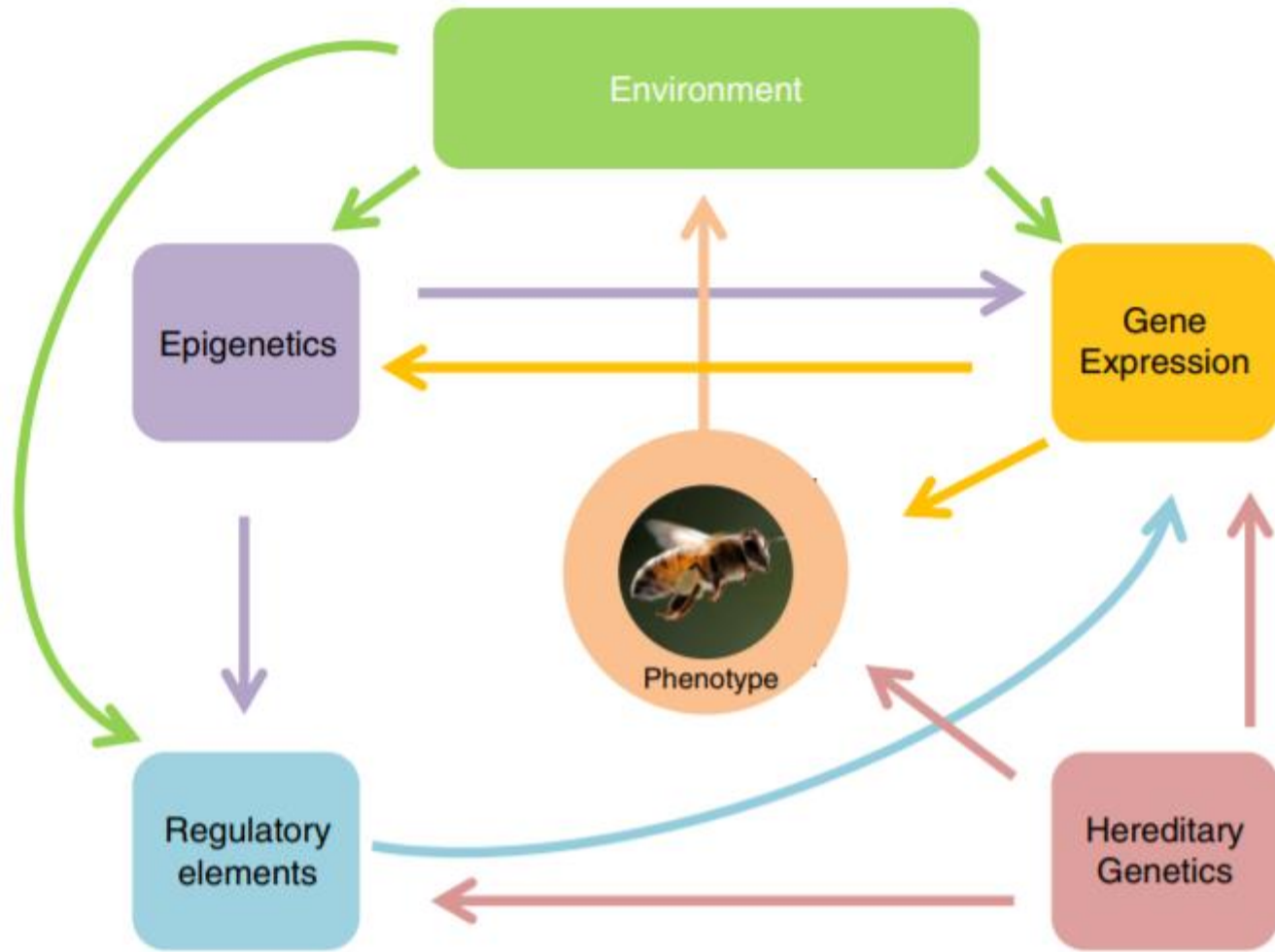
Experiment, kdy došlo ke snížení exprese dnmt3 u včelích larev (k experimentu bylo použito RNAi) měl za následek změnu vývojového plánu a místo dělnic vznikaly matky

Experiment, kdy došlo ke snížení exprese dnmt3 u včelích larev (k experimentu bylo použito RNAi) měl za následek změnu vývojového plánu a místo dělnic vznikaly matky

silencing the expression of DNA methyltransferase Dnmt3, a key driver of epigenetic global reprogramming, in newly hatched larvae led to a royal jelly-like effect on the larval developmental trajectory

Kucharski et al., 2008





Eusocial insects as emerging models for behavioural epigenetics