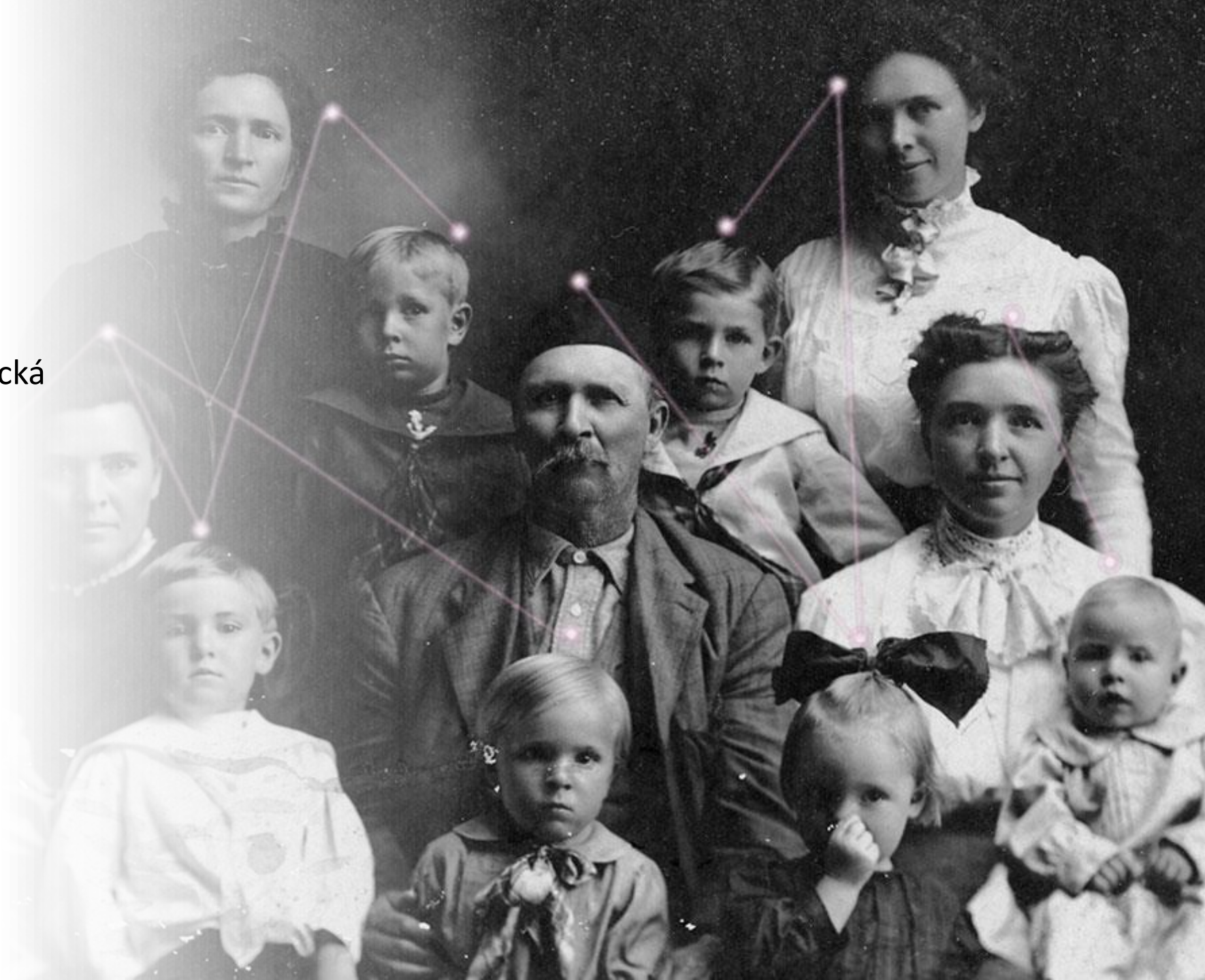


Epigenetická dědičnost

Vývojová genetika 2022

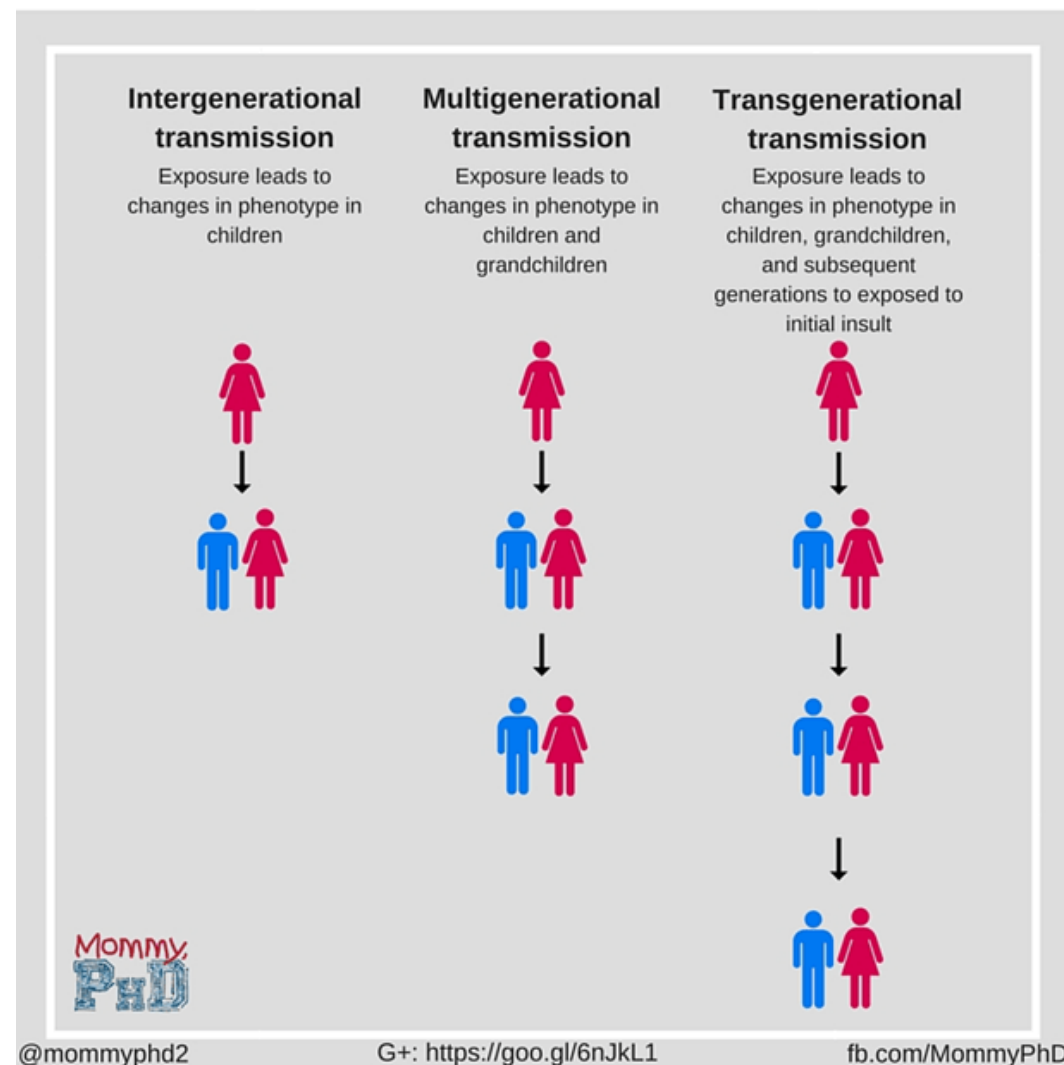
Obsah

- Transgenerační epigenetická dědičnost
- Genomický imprinting

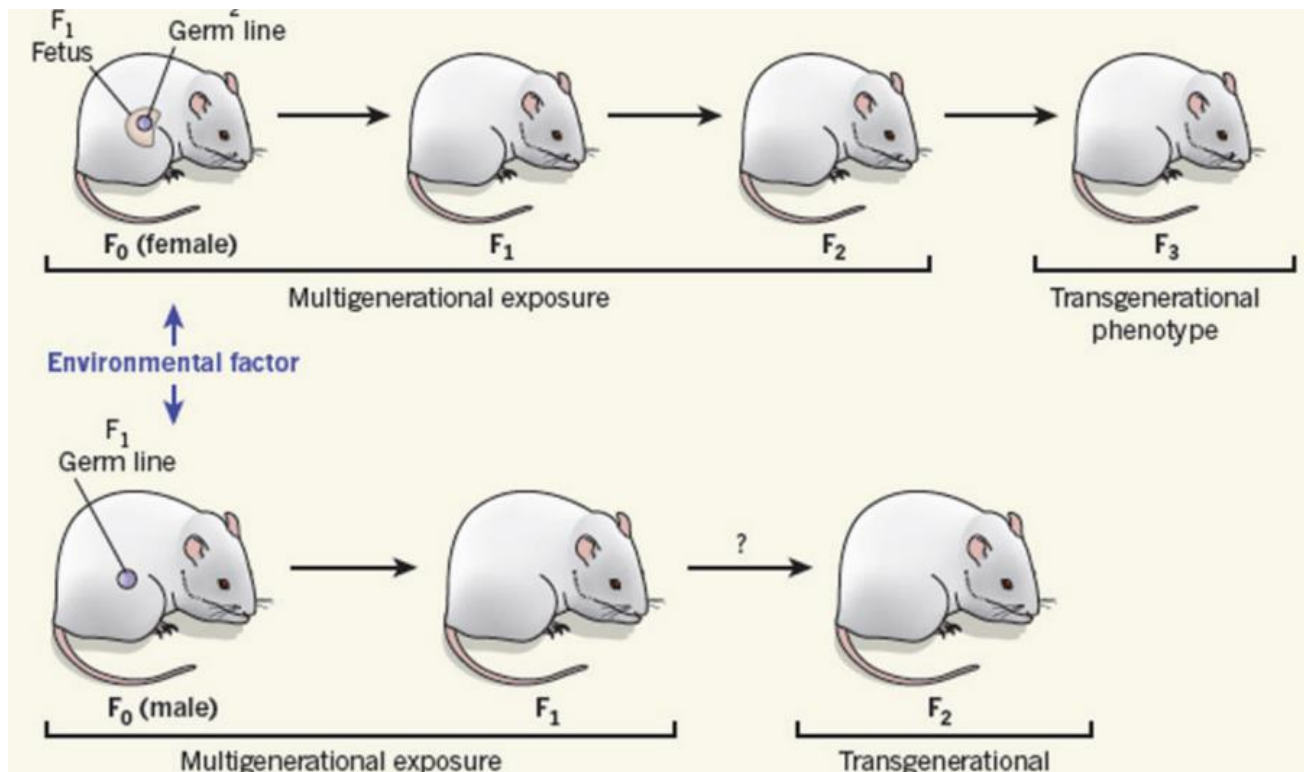


Různé úrovně epigenetické dědičnosti

- Mezigenerační dědičnost
 - Fenotypový projev pouze v F1 generaci
- Vícegenerační dědičnost
 - Dědičnost mezi prarodiči a vnuky
- Transgenerační dědičnost
 - Vícegenerační, možná trvalá fixace určitého znaku-exprese



Transgenerační epigenetická dědičnost



- Mezigenerační **dědičnost epigenetických změn zárodečnou dráhou bez vlivu prostředí** působící na fenotypovou variabilitu
- Vystavení zárodečné dráhy působení vnějších vlivů ovlivňuje u samic až tři generace (epigenetická dědičnost; u samců pouze dvě), **za transgenerační epigenetický fenotyp je považována až „de-novo“ zárodečná dráha F3 generace** (u samců F2)

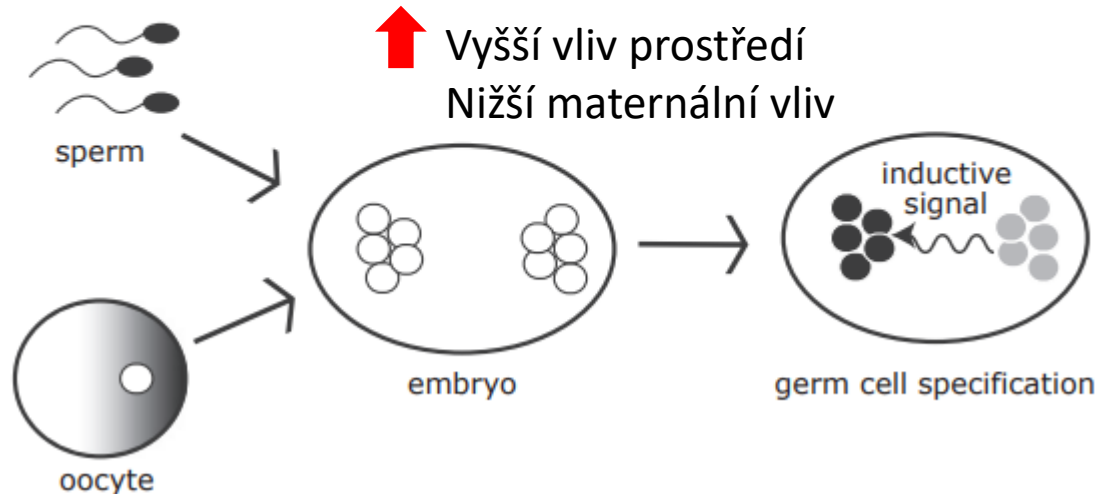
Strategie formování zárodečné dráhy a epigenetická dědičnost

- **Epigeneze** – zárodečné buňky jsou specifikovány později během vývoje na základě vnějších signálů (vliv změn, ke kterým dochází v post-zygotickém období)
- **Preformace** – vliv dědičného materiálu (větší maternální efekt, menší vliv prostředí)

Epigenesis

maternal influence

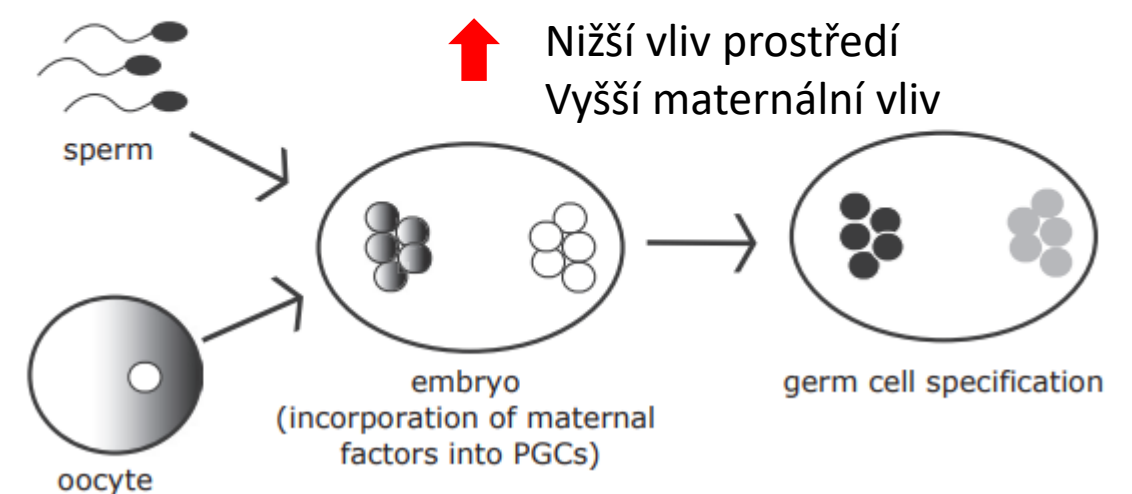
environmental influence



Preformation

maternal influence

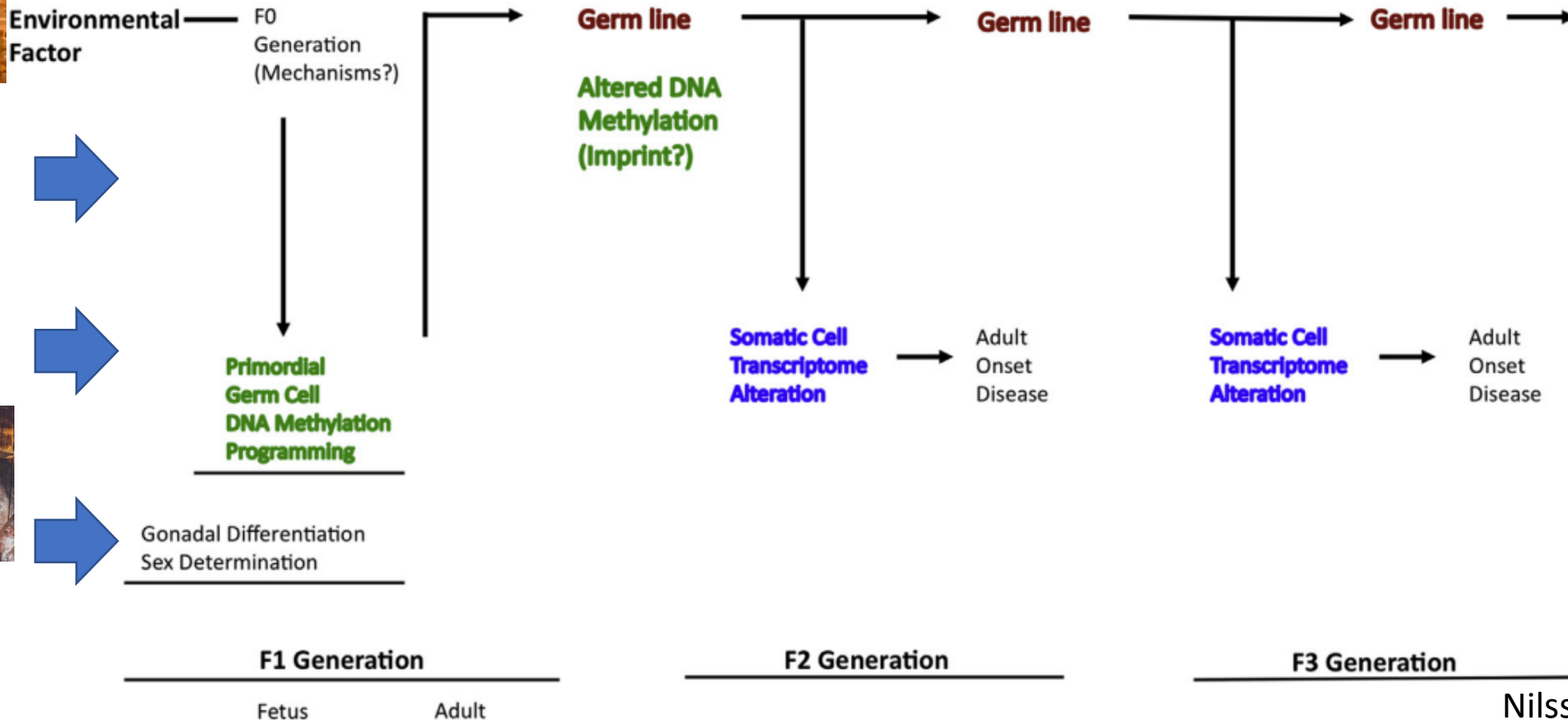
environmental influence



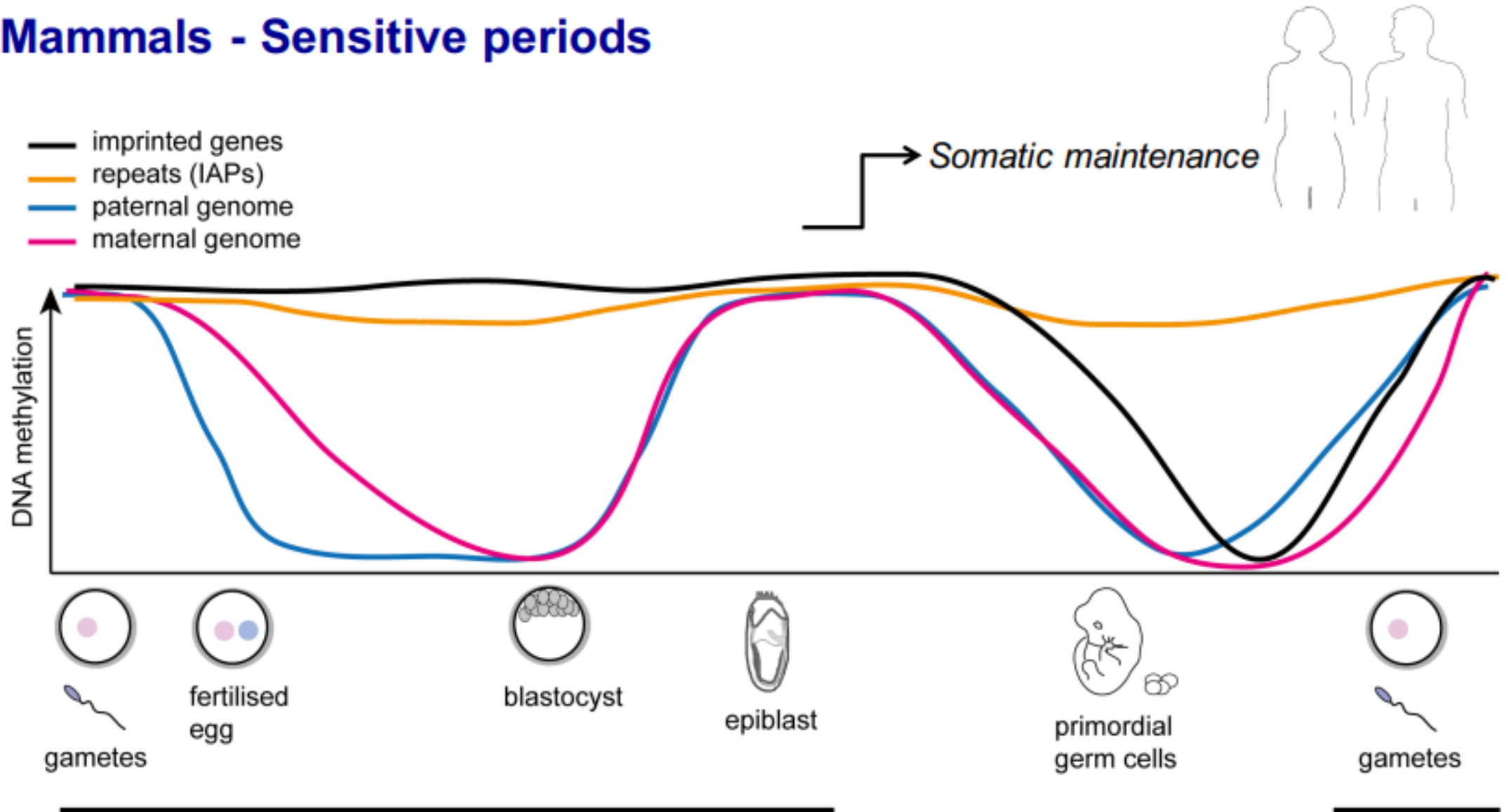
Důsledek a význam transgenerační epigenetické dědičnosti v biologii nemocí a fenotypových změn



Role of Germline in Epigenetic Transgenerational Inheritance



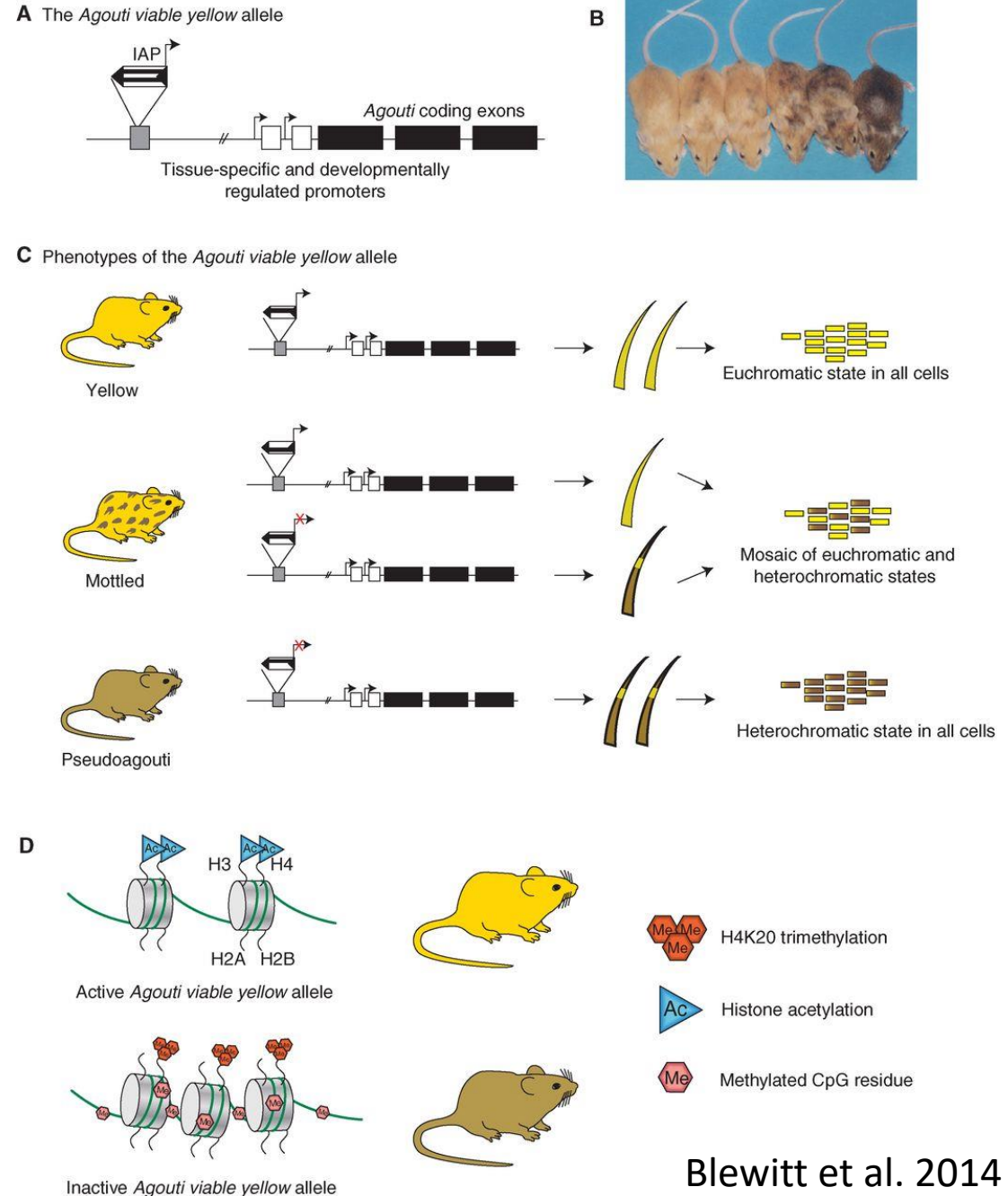
Mammals - Sensitive periods

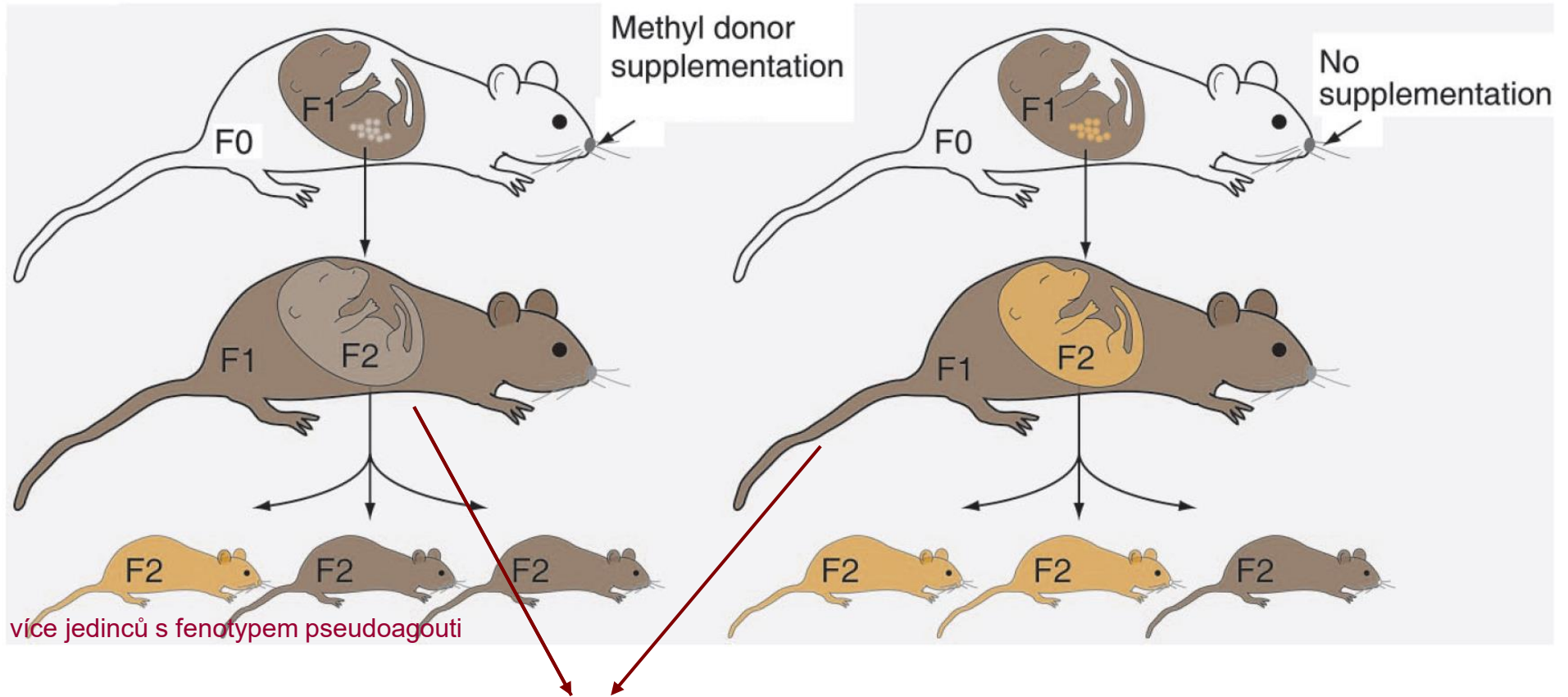


Agouti Viable Yellow

– epigenetický mozaicismus

- metylace retroelementu vede k inaktivaci ektopické expresi





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



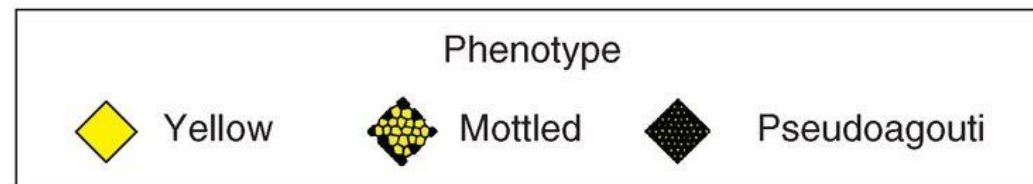
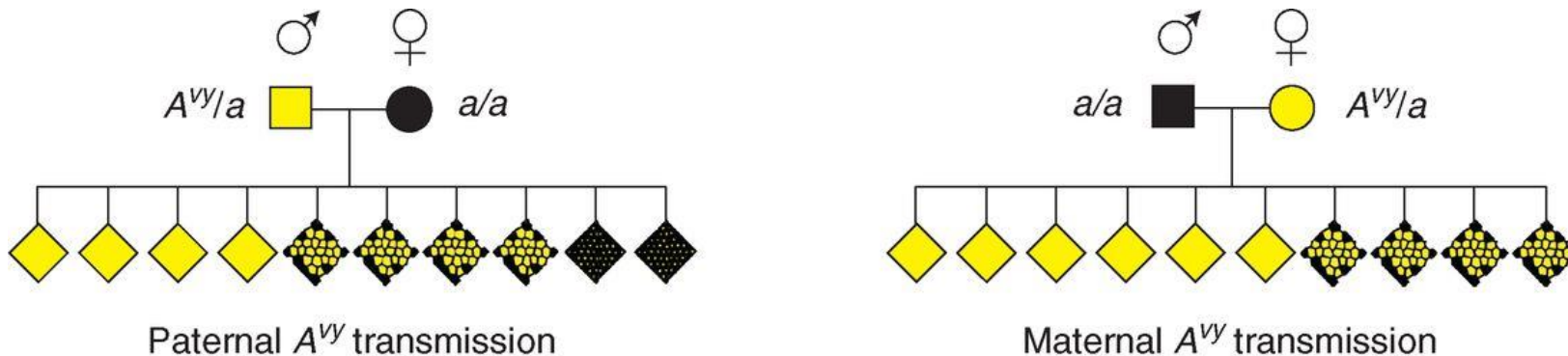
Germ cells carry the epigenetic benefits of grandmother's diet

Craig A. Cooney*

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

Výsledky reciprokých křížení s recesívním mutantem a fenotypová (maternální) dědičnost *Agouti Viable Yellow* alely

- $A^{vy}/a \times a/a$
- Výsledky reciprokých křížení s recesívním mutantem ukázaly „**subtle parent-of-origin**“ efekt exprese (=neúplné odstranění pasivních epigenetických markerů IAP LTR oblasti v paternální linii)



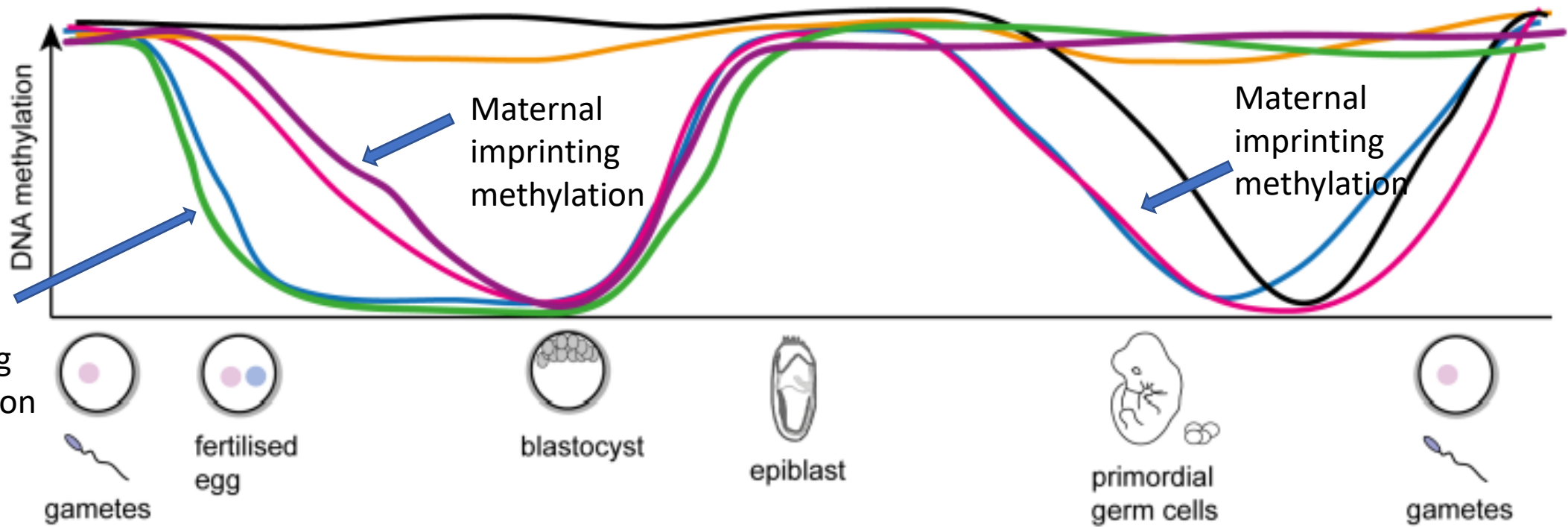
A^{vy} allele is cleared in early embryonic development, not PGC development, and reset after implantation - maternal



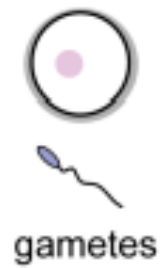
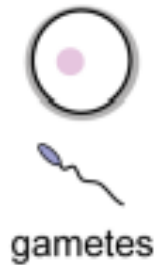
- imprinted genes
- repeats (IAPs)
- paternal genome
- maternal genome

- paternal transmission A^{vy} allele
- maternal transmission A^{vy} allele

Somatic maintenance



Paternal imprinting methylation



Maternal Genistein Alters Coat Color and Protects A^{vy} Mouse Offspring from Obesity by Modifying the Fetal Epigenome

Dana C. Dolinoy,^{1,2,3} Jennifer R. Weidman,^{1,2} Robert A. Waterland,^{4,5} and Randy L. Jirtle^{1,2,3}

¹Department of Radiation Oncology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA; ²University Program in Genetics and Genomics, and ³Integrated Toxicology Program, Duke University, Durham, North Carolina, USA; ⁴Department of Pediatrics, and ⁵Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA

Genistein, the major phytoestrogen in soy, is linked to diminished female reproductive performance and to cancer chemoprevention and decreased adipose deposition. Dietary genistein may also play a role in the decreased incidence of cancer in Asians compared with Westerners, as well as increased cancer incidence in Asians immigrating to the United States. Here, we report that maternal dietary genistein supplementation of mice during gestation, at levels comparable with humans consuming high-soy diets, shifted the coat color of heterozygous viable yellow agouti (A^{vy}/a) offspring toward pseudoagouti. *Environ Health Perspect* 114:567–572 (2006).

- GENISTEIN



+ GENISTEIN

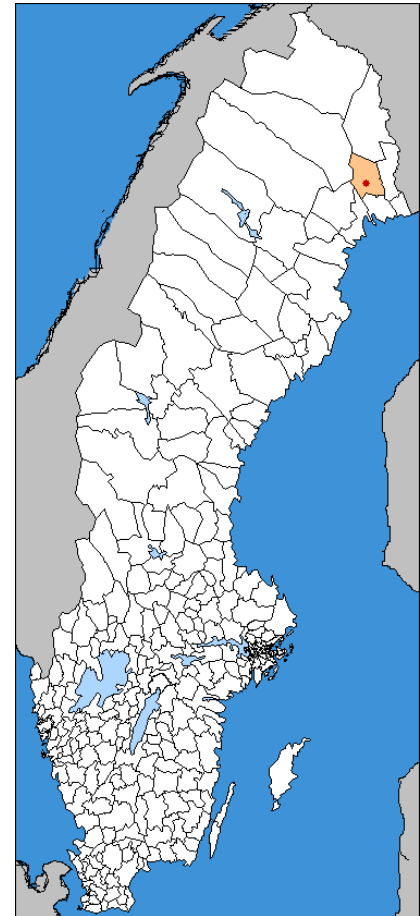
Epigenetické změny navozené „umělým“ zásahem

- Působení prostředí
 - **Změny prostředí v průběhu citlivé periody**
 - Överkalix
 - Holandský hladomor = „thrifty phenotype“
 - Holocaust
 - Dieta, materní péče aj.
- Vědecky- nebo klinicky-navozené změny
 - ART, klonování, somatické reprogramování



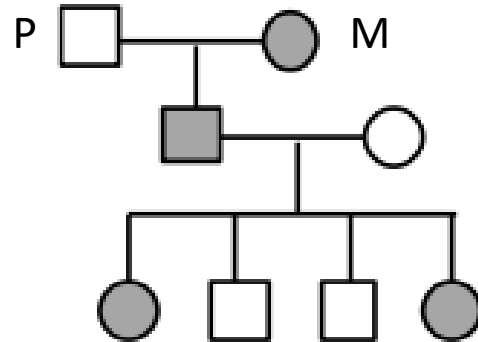
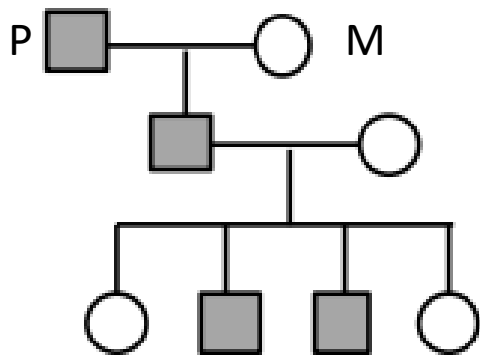
Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – Overkålix

- Izolovaná oblast v severním Švédsku
- Časté periody hladomoru, přesně dokumentovány záznamy sklizně vs. cena potravin
- Korelace mezi hladověním u prarodičů a sníženou životaschopností vnoučat
- Sensitivní doba ovlivněná příjmem jídla v období „pomalého růstu“= 9-12 let pro mužskou linii; 8-10 let u žen



Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – Overkälix

- Transgenerační efekt na potomstvo (rodiče-děti-vnuci)
- Pohlavně vázaná
- Paternální (ne)dostatek obživy (vliv prostředí) děděný přes mužskou linii (CVD, diabetes)
- Maternální (ne)dostatek obživy (vliv prostředí) děděný přes dceřinou linii (vysoká úmrtnost)



Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – holandský hladomor (studie na lidech)

- Hladomor během německé blokády 1944 – 1945, zesílený zimou a nedostatkem ostatních potravin
- Zásoby jídla se propadly nejdříve na 2200-1800g chleba/týden, později 1400-1000-400g+1kg brambor (cca. 600 – 1000 kalorií/den) na osobu
- Hladomor byl ukončen osvobozením v květnu 1945



Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – holandský hladomor (studie na lidech)

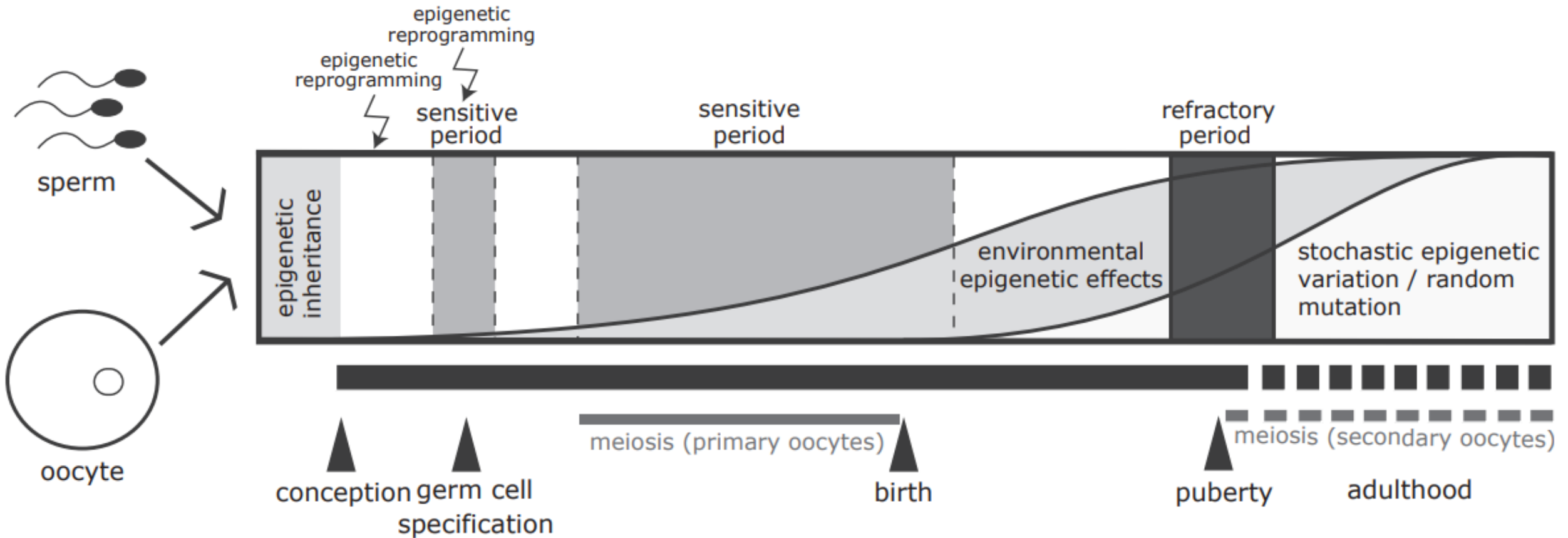
- „Manna“ záchranné operace („Švédský chléb“ a „Royal Airforce Manna“)
- **Studie souboru jedinců, kteří byli vystaveni hladomoru během kojení nebo během početí**
 - **Hladovění před početím-po početí vedlo ke zvýšení mentálních a metabolických poruch+poruchy zpracování glukózy (vyšší frekvence diabetu v potomstvu, obezita a kardiovaskulární choroby)**
 - **Žádné/nízké riziko u dětí, které nebyli vystaveny hladovění během početí nebo pokud se hladovění objevilo později během kojení**



Holandský hladomor – epigenetické faktory

- **Zvýšený výskyt poruch byl asociován se změnami DNA methylace malého počtu genů**
 - IGF2
 - GNAS
 - MEG ICRs (imprintované geny)
 - Geny metabolických drah
- **Současná data však ukazují nízkou transgenerační dědičnost!**
 - „Vývojový původ zdraví a nemoci dospělých jedinců“ = **Barkerova hypotéza** (vysvětluje významné a permanentní změny dospělých jedinců způsobené vlivy *in utero* a po početí) – Holandský hladomor – podvýživa způsobuje nízkou porodní váhu, která koreluje s obezitou, diabetem II. Typu
 - „Thrifty phenotype“ – hypotéza programovaného ukládání energie u jedince, pokud není dostatek před a po početí (**mající zřejmě epigenetický základ**)

Epigenetické reprogramování během vývoje a sensitivní období



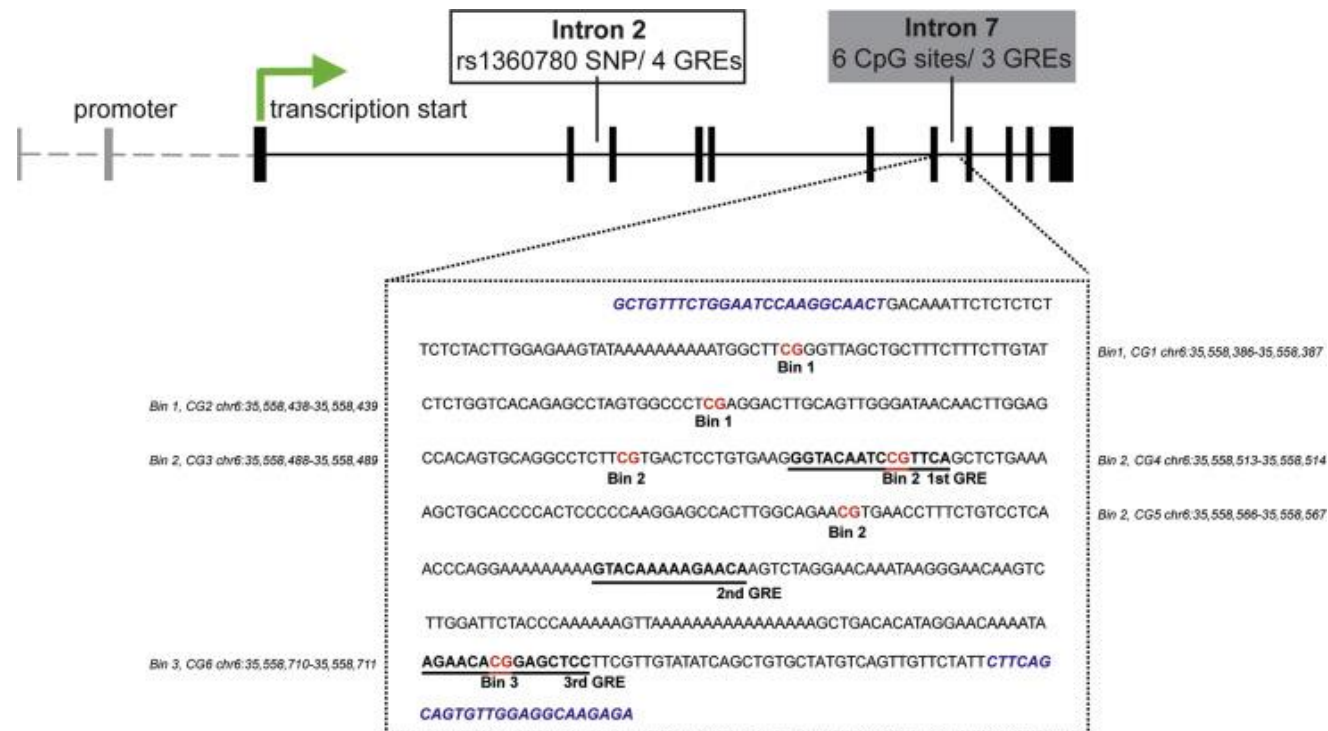
Vliv parentálního traumatu během prekoncepčního období na dědičnost epigenetických změn

- Přeživší Holokaustu a jejich děti mají rozdílné úrovně methylace genových oblastí
- Predispozice k psychickým poruchám, nižší stresové odolnosti (sexuální deviace, psychická odolnost, obtěžování)
- Porovnání změn methylace genu FKBP5, který je důležitý v odpovědi organismu na glukokortikoidy – biologický signál na stres



Struktura genu FKBP5

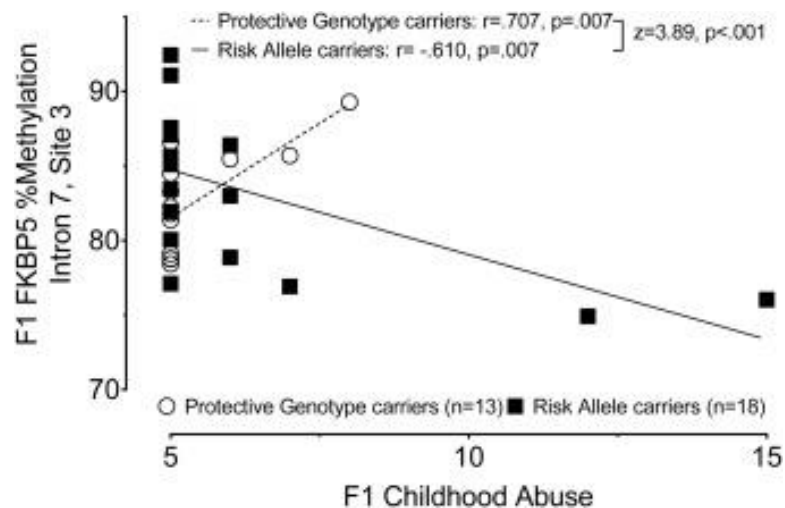
- Regulace buněčného transportu a skládání proteinů, 11 exonů
- Intron 7 – vazebná místa pro glukokortikoid



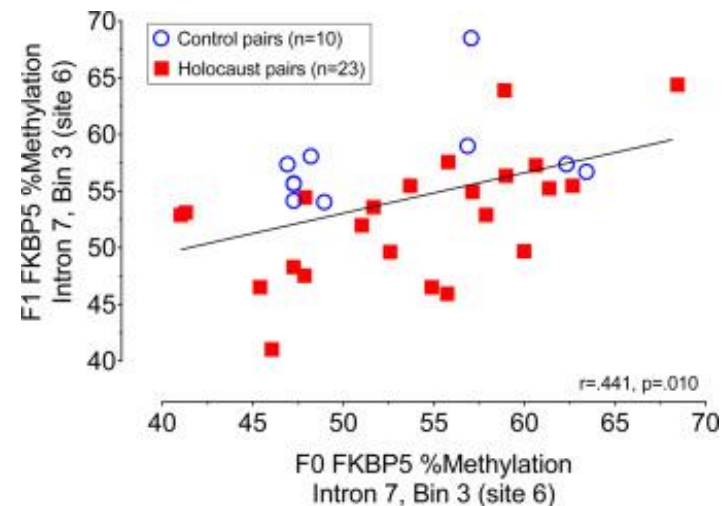
Porovnání *intronu 7* genu FKBP5 u přeživších obětí a jejich dětí Holokaustu, a skupinou lidí podobného věku

Korelace úrovně stresu a epigenetickou mezigenerační dědičností

- Ačkoli nebyl doposud pozorován definitivní efekt stresu u pravnoučat, studie prokázala jasný efekt stresového faktoru na vývoj nových jedinců



3.vazebné místo intronu 7 genu FKBP5 a korelace dětského traumatu



Methylace 3.vazebného místa intronu 7 genu FKBP5 a rozdíl přeživších Holokaustu s kontrolní skupinou

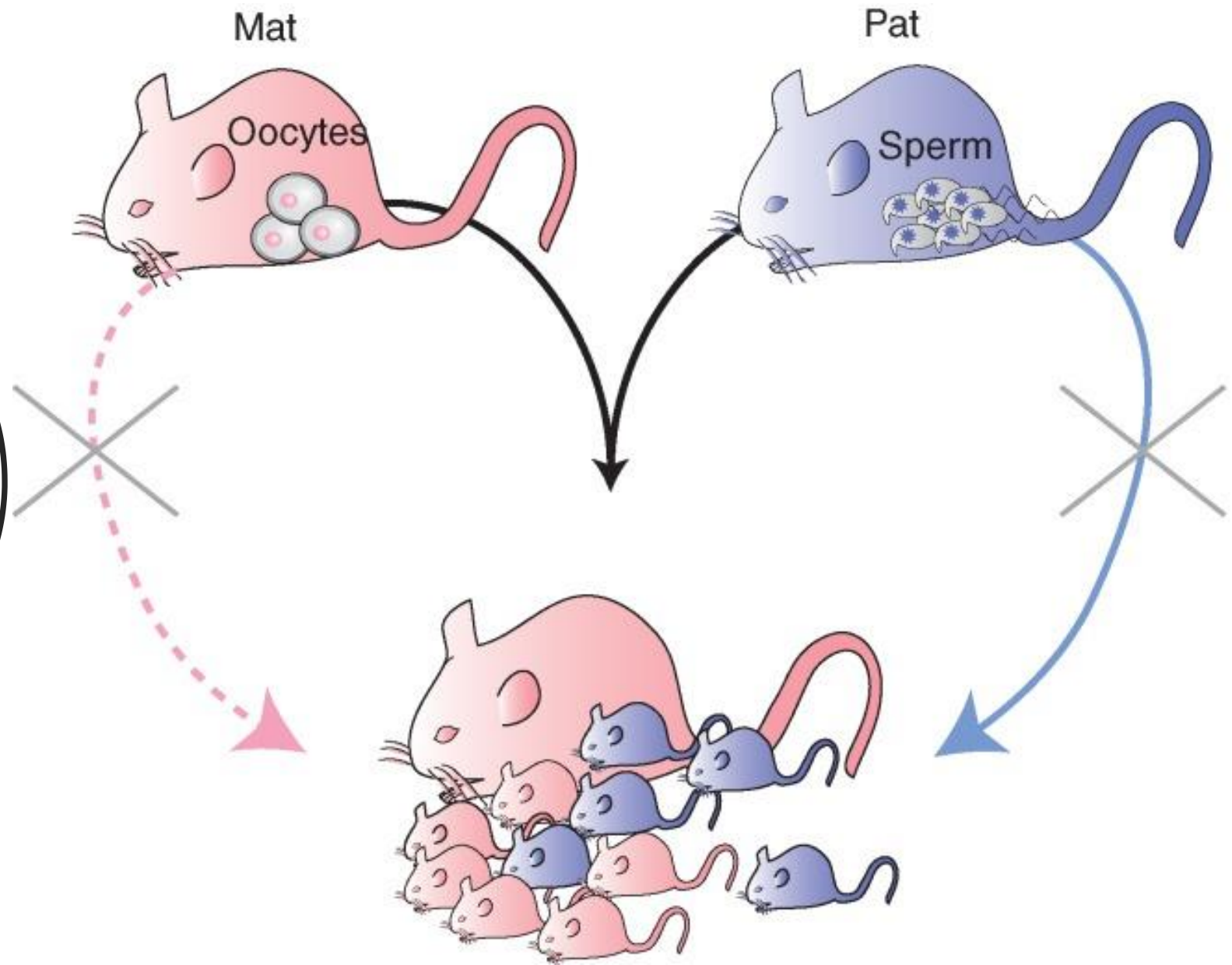
- Pokud žena přežila Holokaust – byly ovlivněny její oocyty i ona samotná (F0 a F1 generace)
- V případě těhotenství došlo k ovlivnění i F2 generace (stále přímý efekt stresu)
- F3=transgenerační přenos založený na epigenetickém mechanismu

Obsah

- Transgenerační epigenetická dědičnost
- Genomický imprinting



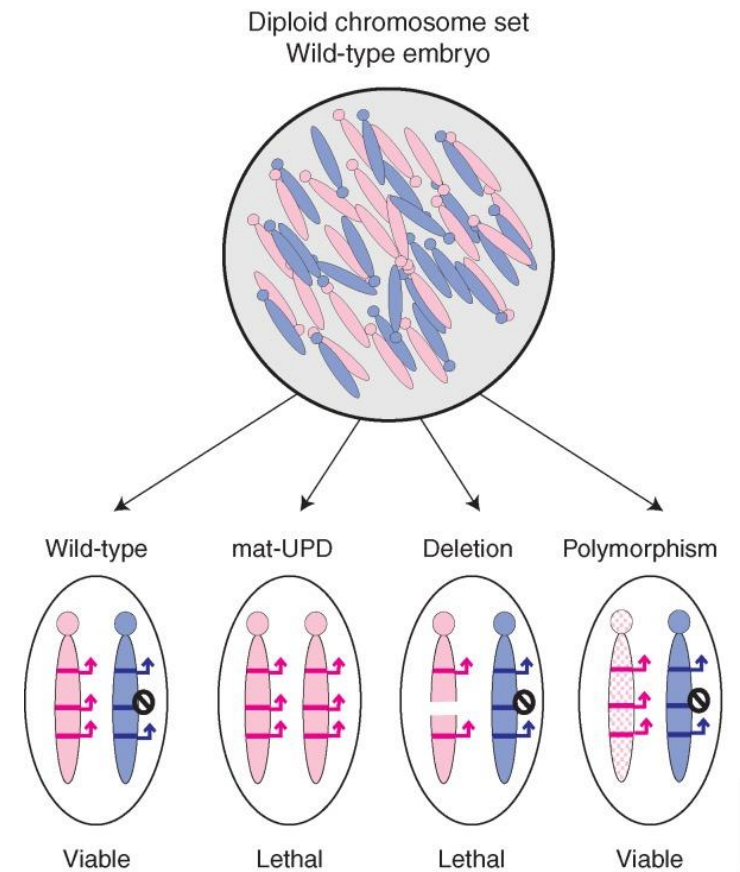
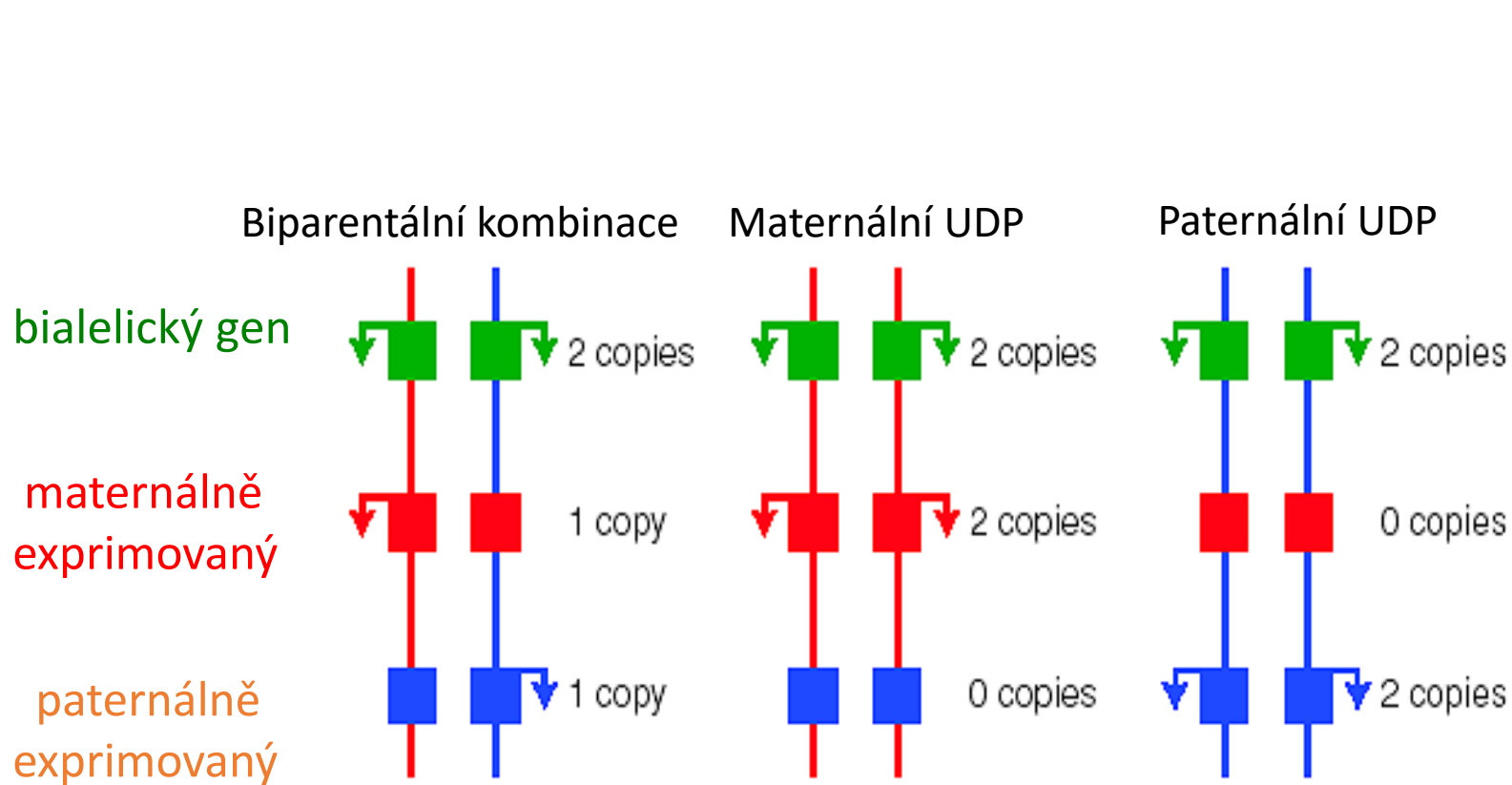
Genomický
imprinting



Genomický imprinting - definice

- Pouze ovlivněny některé skupiny genů, které mají maternální nebo paternální expresi
- Mnoho genů je umístěno v celých skupinách (ovlivněny specifickými insulátory a lncRNAs)
- Nastaveny během vývoje zárodečné linie a diferenciaci gamet (úloha DNA methylace, histonových PTMs, lncRNAs, insulátory a vyšší struktura chromatinu)
- Nepostradatelné při vývoji a reprodukci (ačkoli pouze samice u savců mohou nést plod, geny nezbytné pro jeho vývoj jsou exprimovány výhradně z paternálních chromozomů=**reciproký imprinting**, nedochází k partenogenezi)
- Reciproký imprinting zajišťuje přiměřený vývin plodu :
- **paternálně exprimované geny (*Peg*)** podporují pre- i postnatální růst
- **maternálně exprimované geny (*Meg*)** jsou růstovými supresory

Genomový imprinting a uniparentální disomie



Barlow et al. 2014

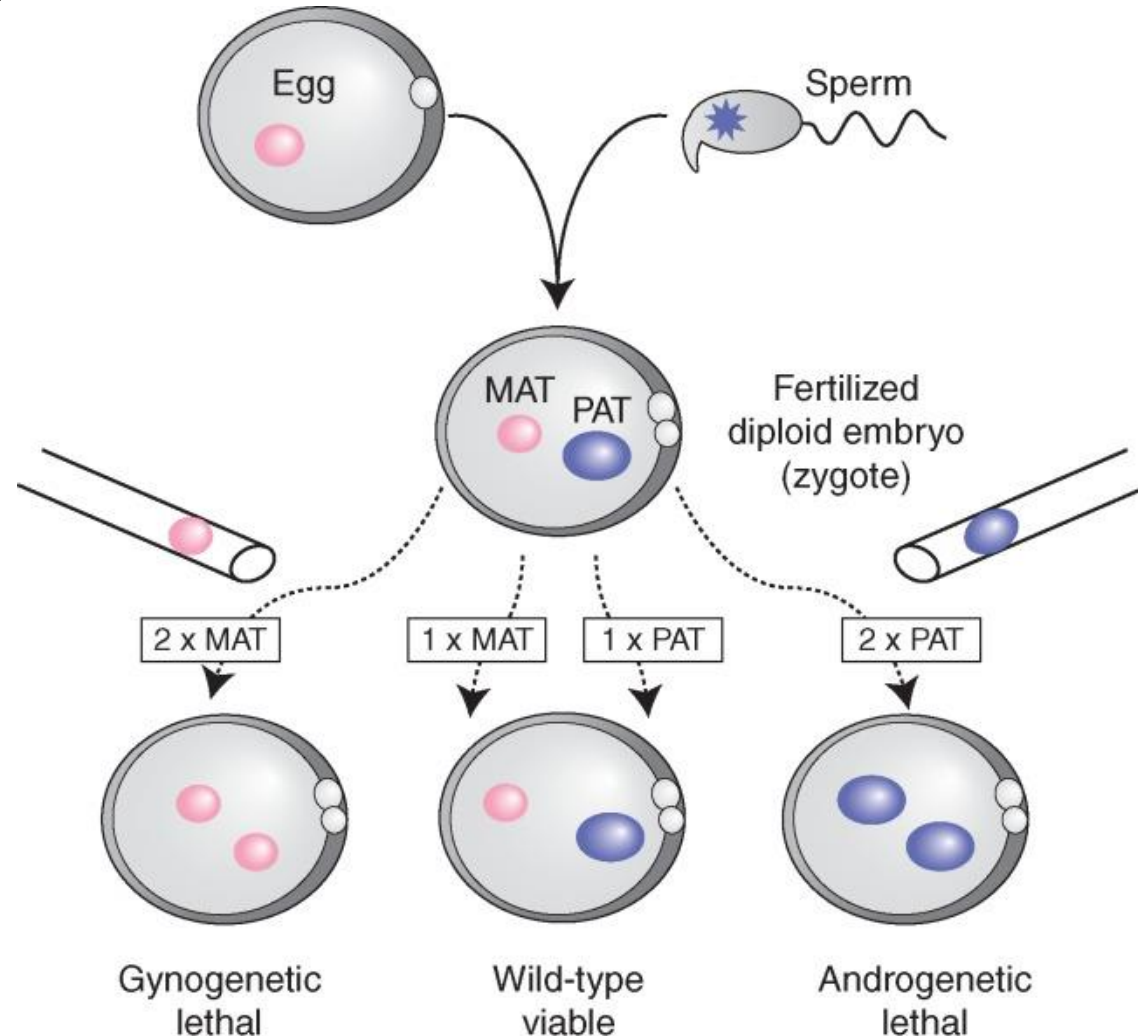


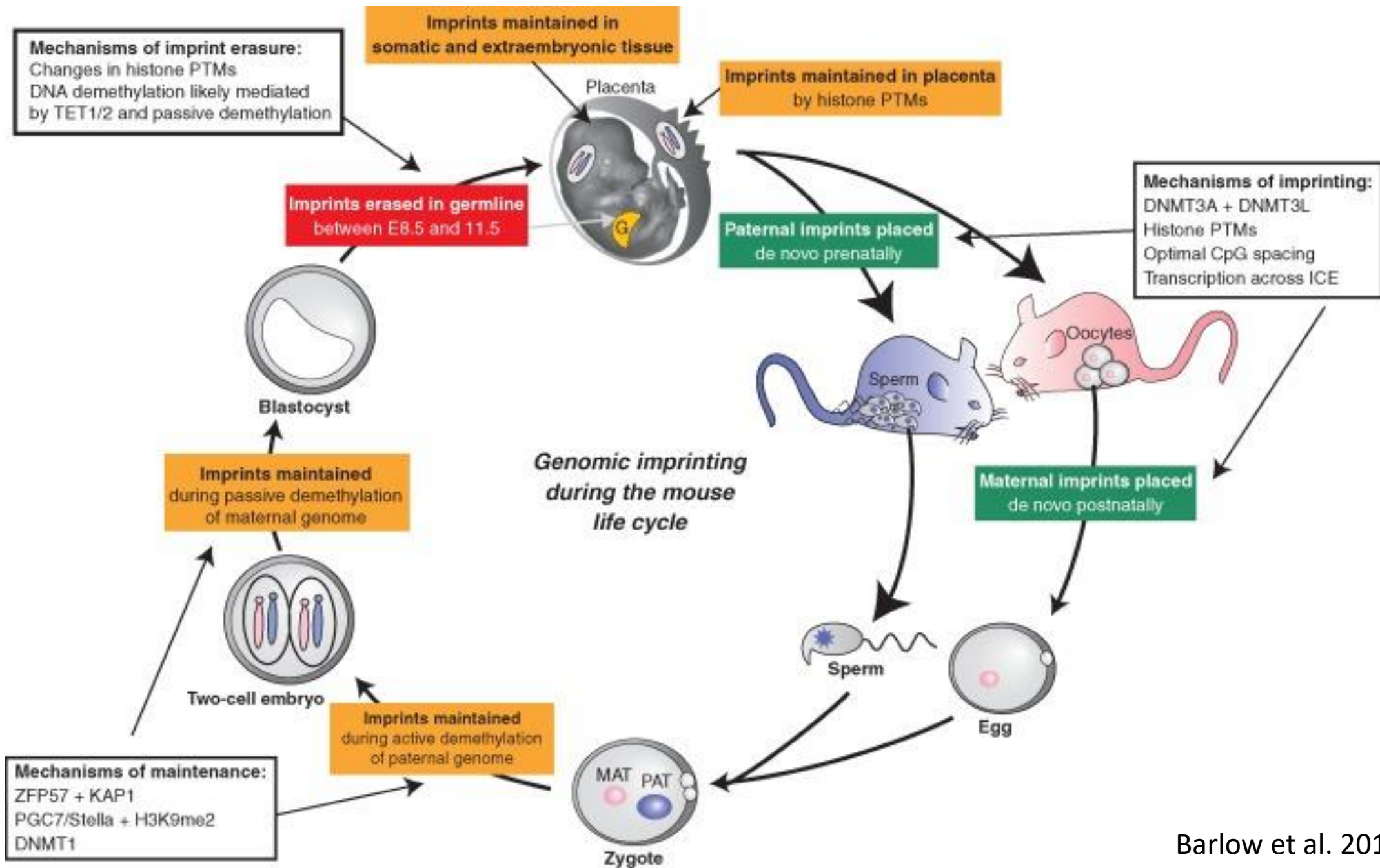
Non - ekvivalence parentálních genomů a důkaz imprintingu u savců



Azim Surani (1984)

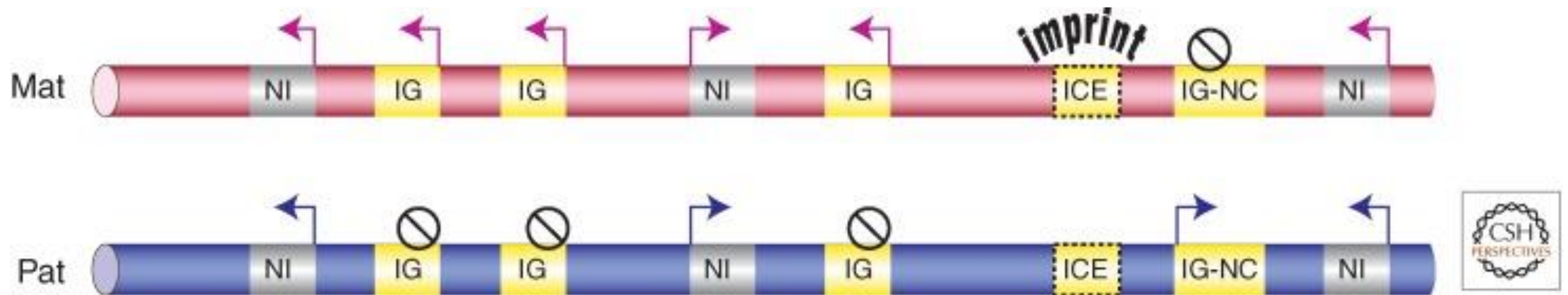
- Odstranění maternálního nebo paternálního jádra v oplodněném vajíčku a jeho vložení do enokluovaného sekundárního vajíčka vede k **androgenezi** nebo **gynogenezi** (obě jsou letální v ranném stádiu)





Struktura imprintovaných oblastí v genomu

- IG – soubor imprintovaných genů zahrnující protein kódující mRNA
- IG-NC – nekódující RNA (alespoň jedna nebo více)
- NI – neimprintované geny
- ICE – kontrolní element imprintingu



Regulace imprintovaných oblastí

- Imprintované geny se vyskytují ve shlucích s uniparentální expresí, mající **několik genů pro mRNA (IG)** a alespoň jednu **nekódující RNA (IG-NC)**
- Imprintovaná genová exprese je regulována *in cis*, kontrolována **imprintovaným kontrolním mechanismem (ICE)**
 - ICE nese epigenetické značky právě po jednom z rodičů

Cis
mechanismus –
model *Igf2* a
Igf2r

„Insulin growth factor 2“ –
iniciace růstu a dělení buněk
různých tkání (esenciální v
růstu plodu před početím)

A Insulator model-*Igf2* cluster



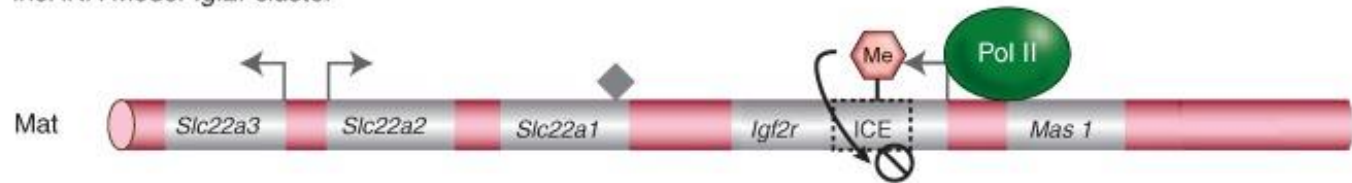
Insulator blocks mRNA activation; enhancers activate ncRNA.

Endoderm



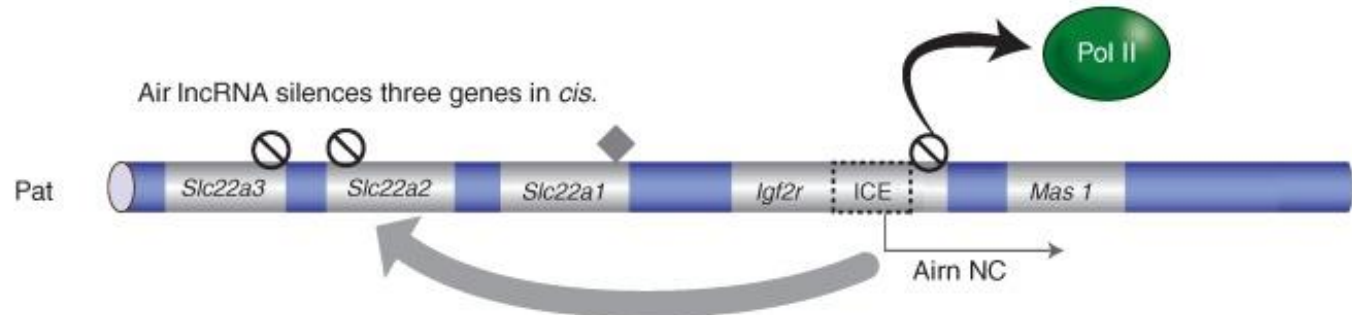
Paternal CH₃ methyl imprint silences ICE and ncRNA; enhancers activate mRNAs.

B lncRNA Model-*Igf2r* cluster



Maternal CH₃ methyl imprint silences ICE; mRNAs expressed.

Placenta



Air lncRNA silences three genes in *cis*.

Air NC



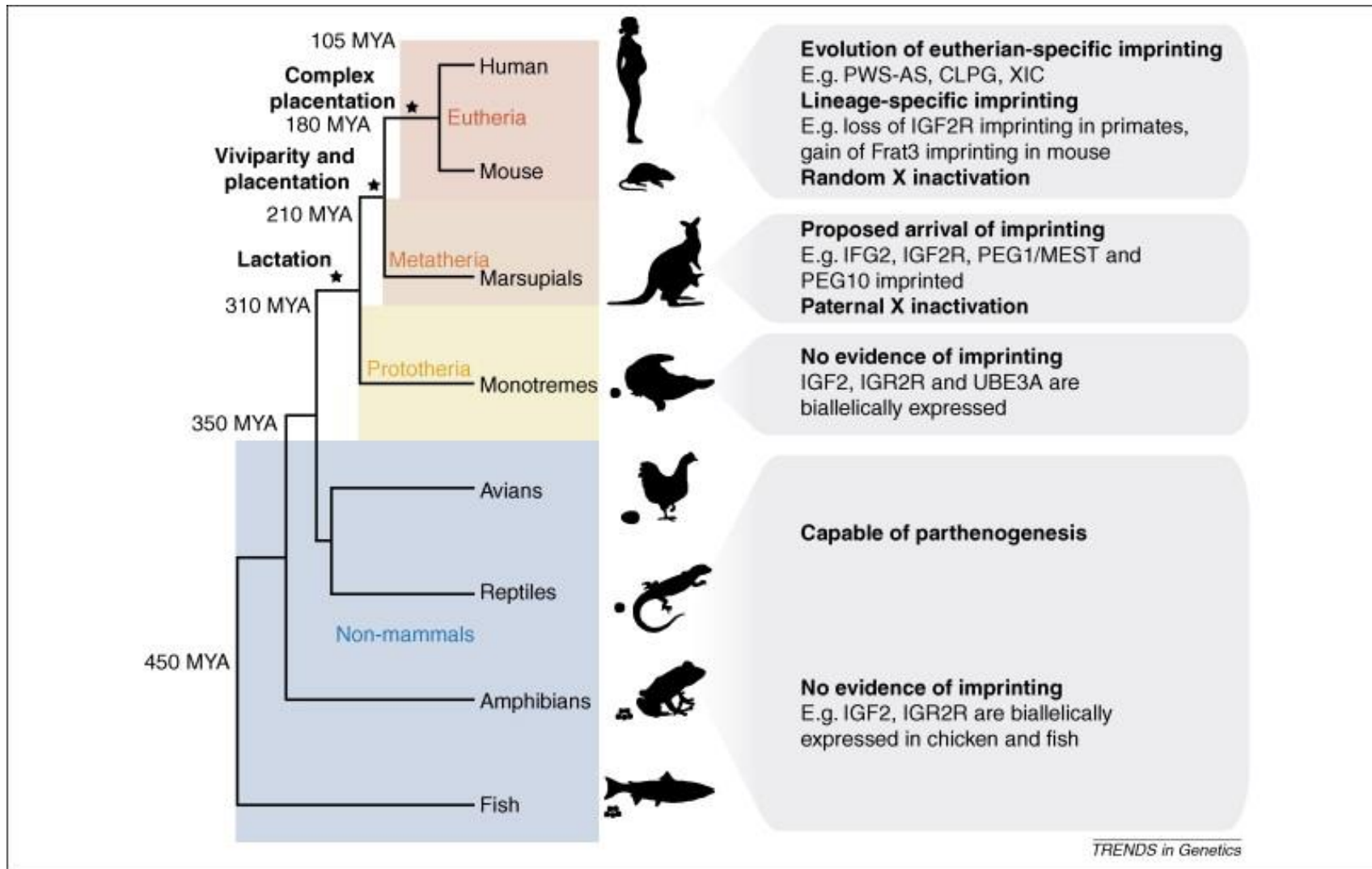
Paternální alelická exprese *Igf2* a *Ins2* genů ve vnitřním zárodečném listu (endoderm)

- Paternálně exprimovaná alela IGF2 nese **methylační signál na ICE** elementu, který tak neumožňuje vazbu CTCF proteinu a umožňuje, aby **enhancer (E) aktivoval expresi *Ins2* a *Igf2*** genů-současně, methylace ICE oblasti je rozšířena pro lncRNA (*h19-NC*) promotor, tvorba lncRNA neprobíhá
- **Maternální alela nemá methylační signál** na ICE oblasti, **CTCF protein** (obsahující motiv zinkové prstu) se váže na ICE a **tvoří insulátor**, který brání enhancerům aktivovat expresi genů *Ins2* a *Igf2* a spouští expresi lncRNA

Maternální alelická exprese *Slc22a2-3* genů v placentě (**cluster *Igf2r***)

- Maternální ICE element obsahuje methylační signál, umlčující promotor lncRNA (*Airn NC*), umožňující expresi genů *Slc22a3*, *Slc22a2* a *Igf2r*
- Paternální chromozom nemá methylační signál na ICE elementu, dochází proto k expresi lncRNA, která brání přístupu RNA Pol2 k maternálně exprimovaným alelám a umlčuje *Igf2r*
- Na obou clusterech *Igf2* a *Igf2r* **DNA methylace umlčuje expresi lncRNA a má pozitivní vliv na expresi mRNA!**

Evolve genomického imprintingu



Děkuji za pozornost!