

Epigenetika

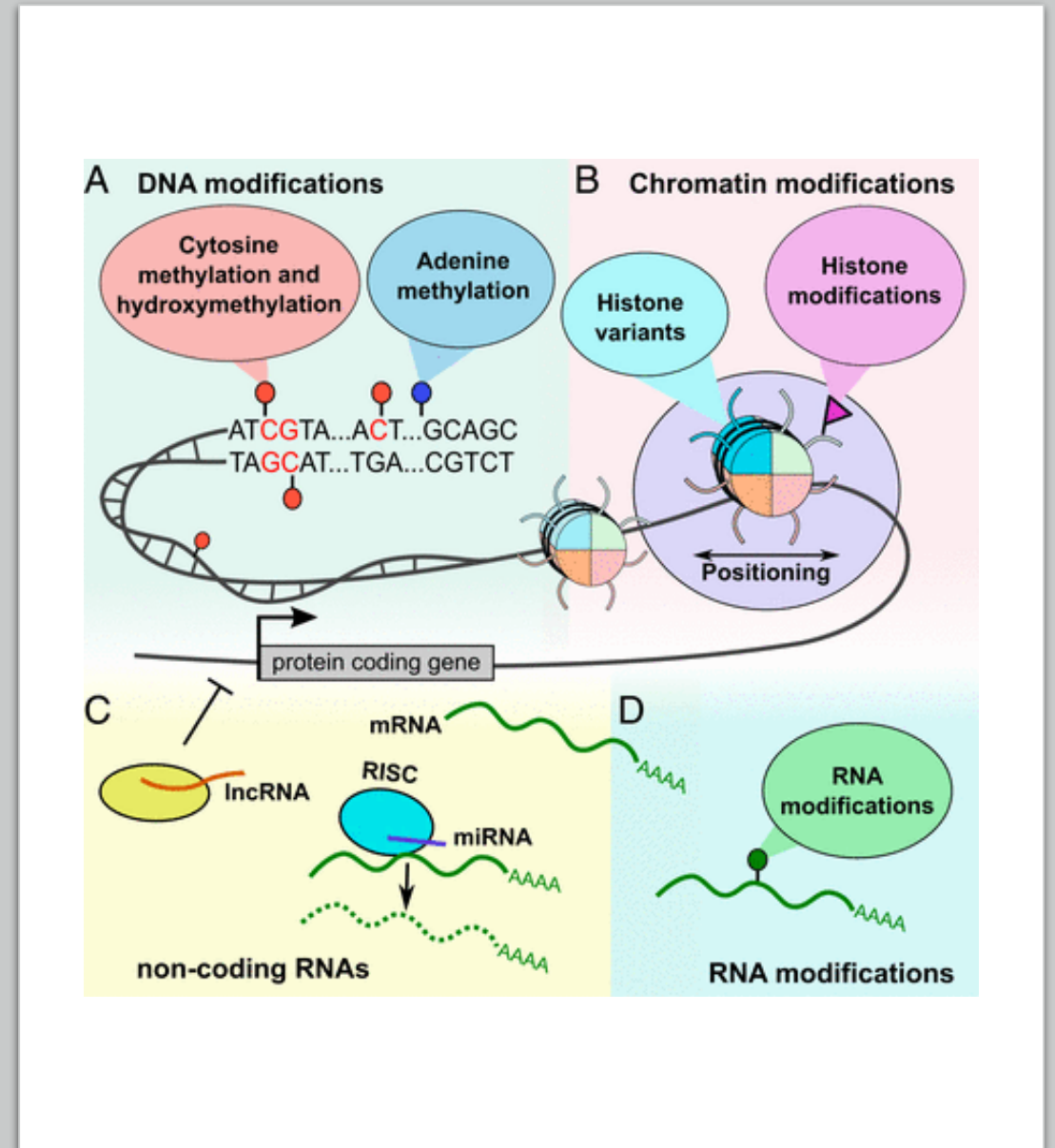
*Pokud jsou všechny buňky vytvořeny ze stejného genetického materiálu,
proč existuje tolik různých typů buněk?*

Epigenetika

- Epigenetika je studium potenciálně dědičných změn v genové expresi, které **nezahrnují změny základní sekvence nukleotidů v DNA**, jde tedy o **změnu fenotypu beze změny genotypu**.
- Epigenomika – studium kompletní sady epigenetických změn.
- Epigenetický kód – soubor epigenetických vzorců, které udržují různé fenotypy v různých buňkách.

Epigenetické mechanismy

- a) Modifikace DNA
- b) Modifikace chromatinu
- c) Nekódující RNA
- d) Modifikace RNA

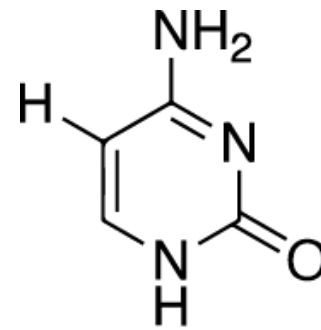


Modifikace DNA

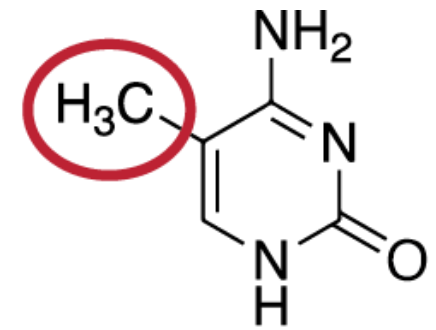
- DNA může být modifikována na cytosinových a adeninových zbytcích přidáním chemických skupin.
- Cytosiny mohou být modifikovány methylací, hydroxymethylací, formylací a karboxylací, zatímco adeniny mohou být methylovány.
- U lidí je nejčastější formou modifikace DNA methylace cytosinu v místech výskytu CpG (cytosin následovaný v sekvenci DNA guaninovou bází). Methylaci lze nalézt také u cytosinů následovaných adeninem, cytosinem nebo thyminem, taková forma methylace je častá v nervových tkáních a kumuluje se během vývoje.

Methylace DNA

- **Methylace** je zavedení methylové skupiny **-CH₃** do molekuly DNA. Methylace může **změnit aktivitu segmentu** DNA beze změny jeho sekvence.
- U lidí je nejčastější formou modifikace DNA methylace cytosinu vedoucí ke vzniku **5-methylcytosinu (5-mC)**.
- **Přidávání methylových skupin** je v buňkách **řízeno** na několika různých úrovních a je prováděno rodinou enzymů nazývaných **DNA-methyltransferázy (DNMT)**.



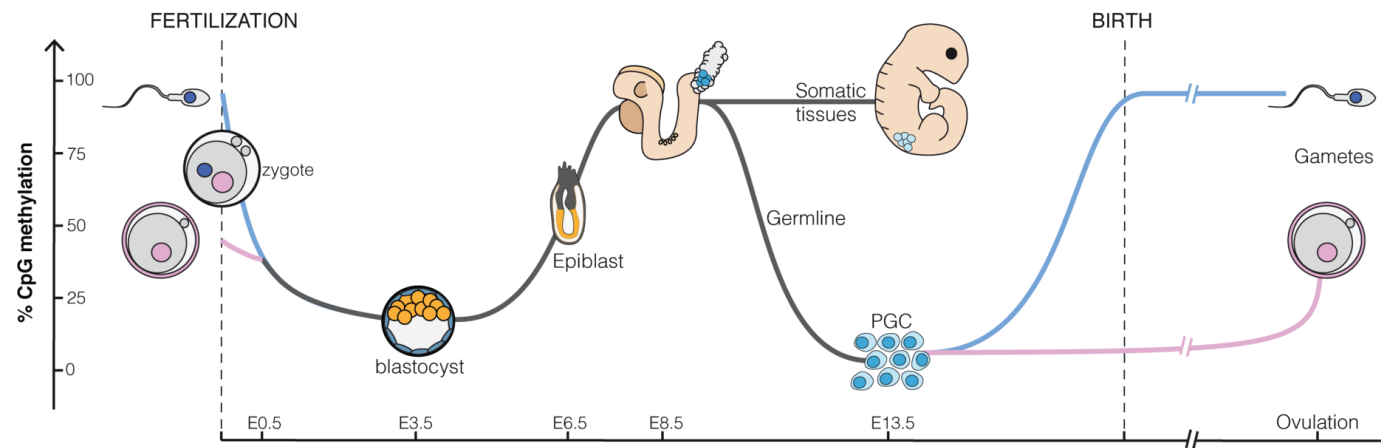
Cytosine



methylated Cytosine

Methylace DNA

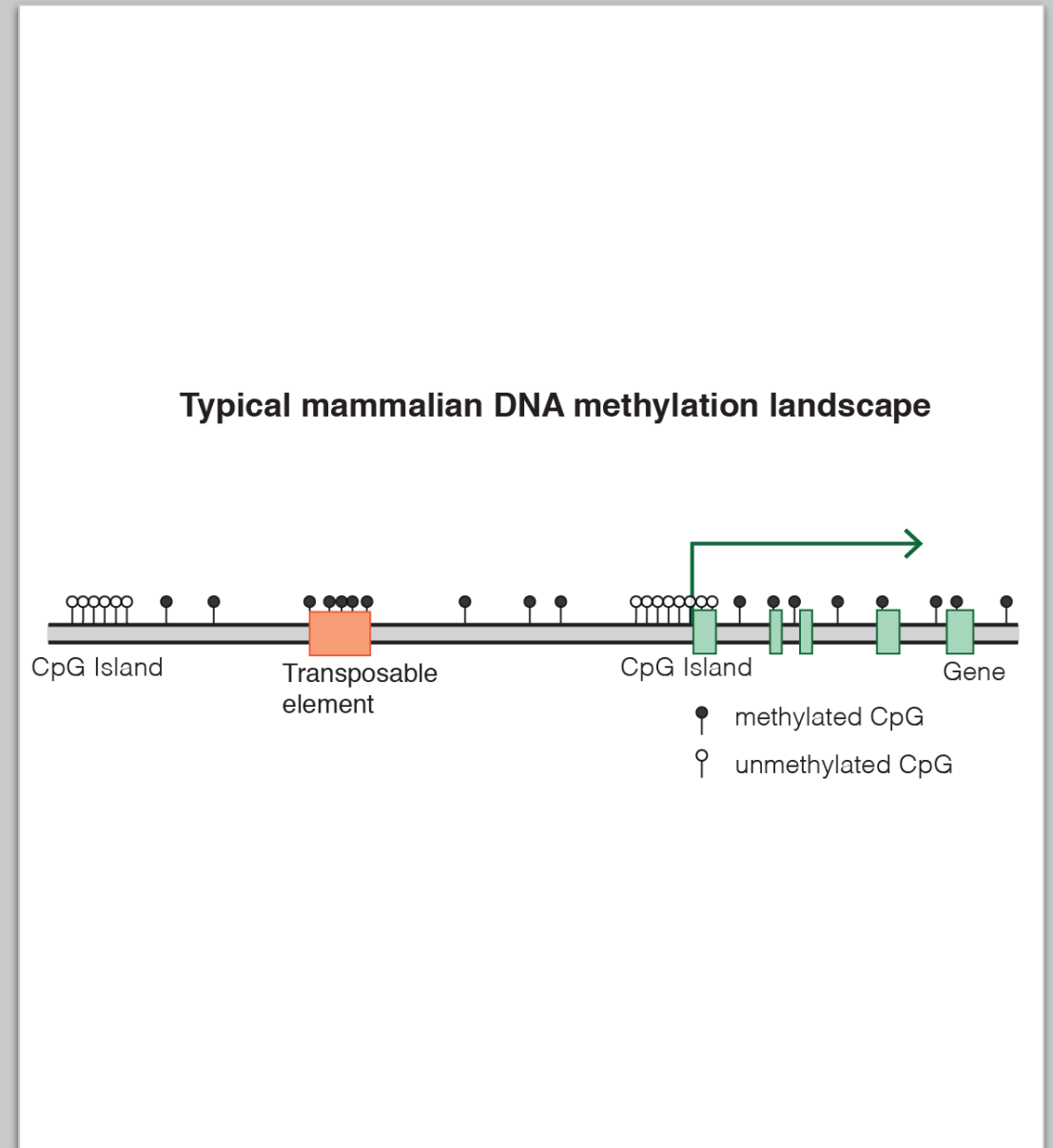
- **DNMT1** je zodpovědná za zachování zavedených vzorců DNA methylace po **replikaci DNA a dělení** buněk.
- Každý typ tkáně a buňky má jedinečný profil methylace DNA.
- Methylační **vzor**ce DNA se mění během ontogeneze.
- Během gametogeneze a v časně embryogenezi jsou téměř všechny rodičovské methylační vzorce vymazány.



Dynamika methylace DNA během embryonálního vývoje myši. E3.5-E6, atd., dny po oplodnění. PGC: primordiální zárodečné buňky.

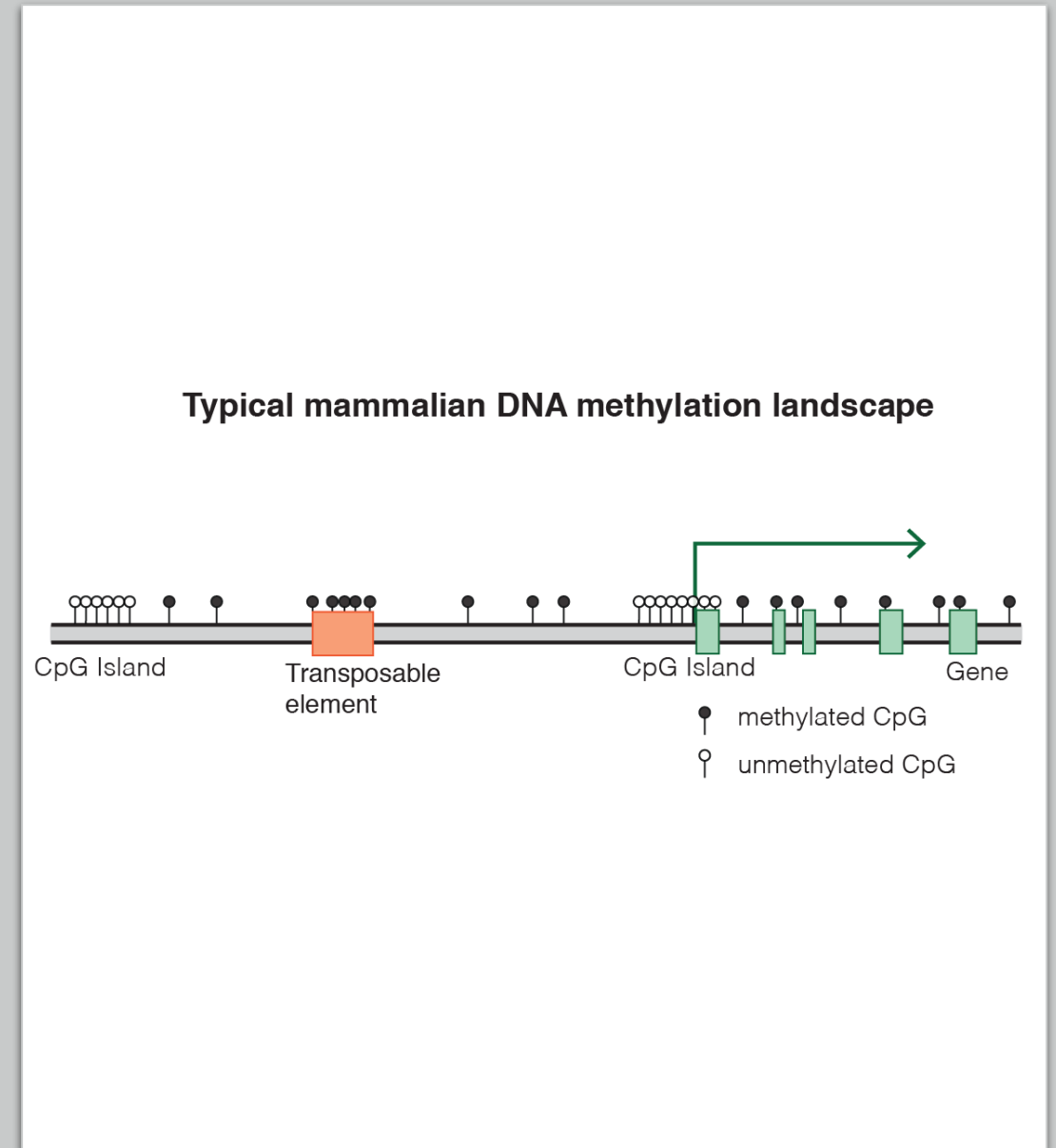
Následky methylace DNA

- Transkripce většiny genů kódujících proteiny je iniciována na promotorech bohatých na CpG sekvence. Tyto úseky DNA bohaté na CpG jsou známé jako **CpG ostrovy**.
- **Když** je CpG ostrov v promotorové oblasti genu **methylován**, **exprese** genu je **potlačena**. Promotory genů, které bývají hojně exprimovány, zpravidla 5-mC neobsahují.
- Methylace DNA může fyzicky bránit vazbě transkripčních faktorů.



Následky methylace DNA

- Methylovaná DNA může být vázána proteiny známými jako proteiny vázající methyl-CpG (**MBD**; methyl-CpG-binding domain proteins). MBD proteiny mohou vázat další proteiny, které mohou **modifikovat histony** a remodelovat chromatin.
- Represe transpozonů.
- Vysoká methylace CpG zvyšuje frekvenci spontánních mutací (methylované zbytky C se mohou spontánně deaminovat na zbytky T).

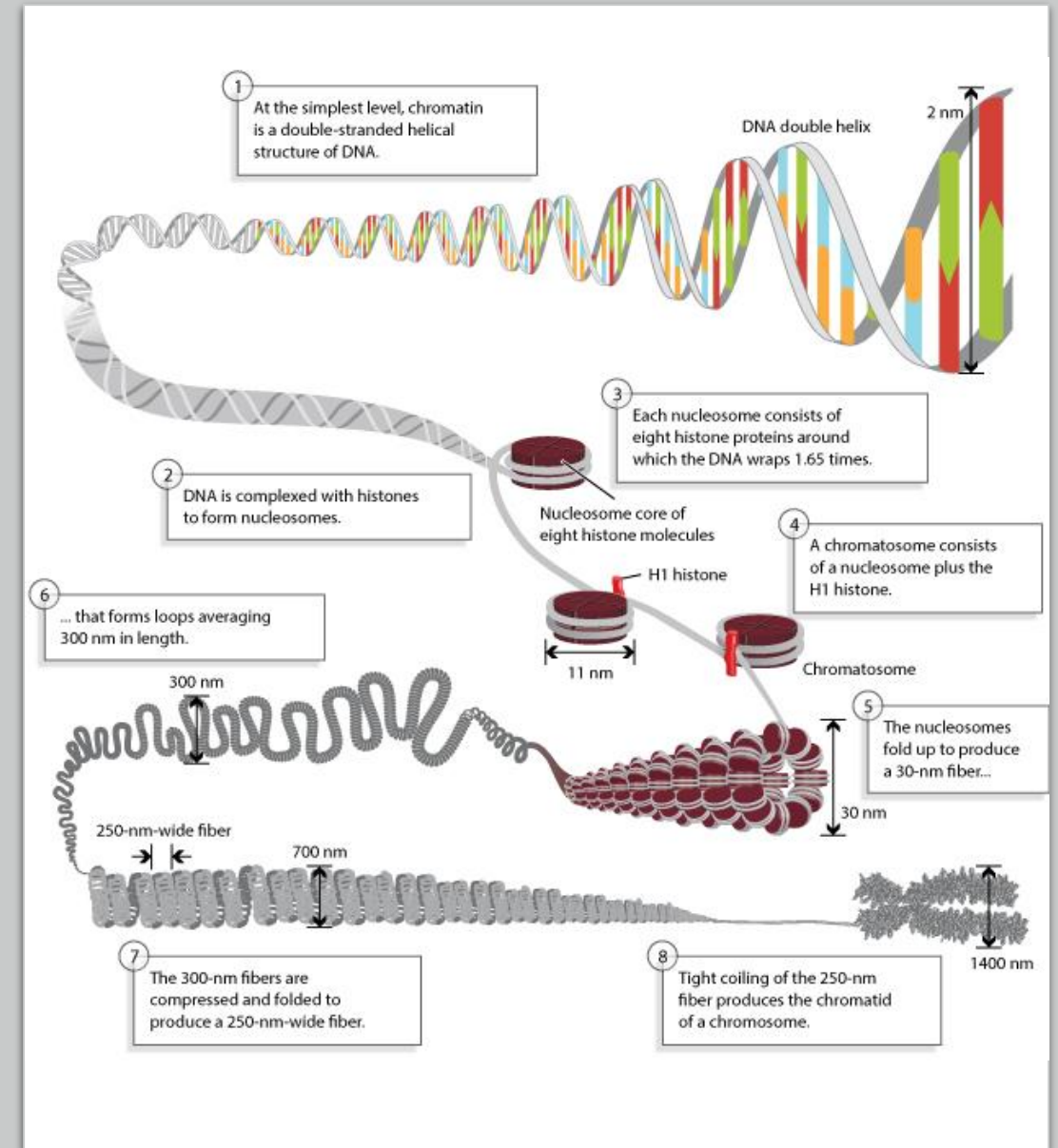


Modifikace Chromatinu

- **Chromatin je komplex** DNA a bílkovin zabalený do jádra savčích buněk. DNA je sbalena kolem jaderných proteinů nazývaných **histony**.
- **DNA-histonový komplex**, který se skládá ze 146 párů bází dvouvláknové DNA zabalené **kolem osmi histonů**, se nazývá **nukleozom**.
- Čím více je chromatin **kondenzovaný**, tím **těžší** je přístup **pro transkripční faktory** a další DNA vazující proteiny.
 - Pokud je chromatin těsně **zabalen** a **není aktivně přepisován**, nazývá se **heterochromatin**.
 - Když je chromatin **rozvolněn**, a tudíž **dostupný pro transkripci**, nazývá se **euchromatin**.

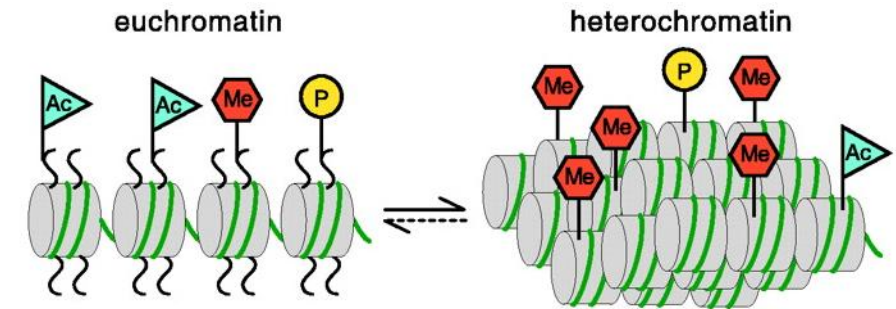
Chromatin

- Chromatinová **struktura není rigidní** a může být modifikována proteinovými komplexy, které specifikují umístění, složení a stav nukleozomů, což nakonec reguluje přístup k dané DNA sekvenci.
- **Kanonické histony** (H3, H4, H2A, H2B a spojovací histon H1) jsou obsaženy **v nově replikovaném genomu**.
 - Později mohou být nahrazeny nekanonickými histonovými variantami, které mění strukturu, stabilitu a dynamiku nukleozomů a tím i dostupnost DNA pro transkripci.



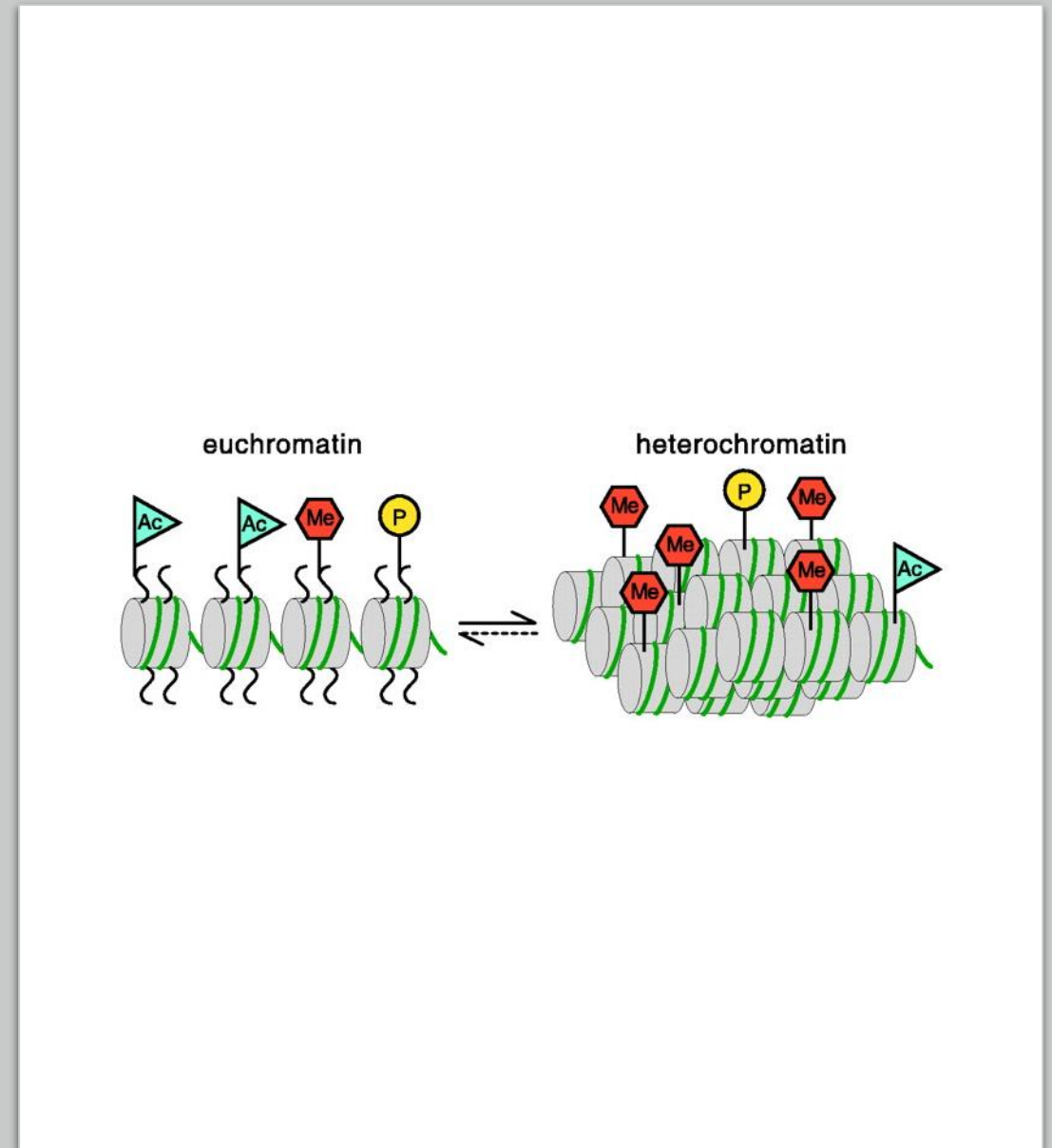
Modifikace histonů

- Posttranslační modifikace histonů mění funkci chromatinu a dostupnost DNA.
- **N-konce** histonů (histonové ocásky) jsou **modifikovány nejvíce**.
- Modifikace histonů zahrnují acetylace, methylace, ubiquitylace, fosforylace, sumoylace, ribosylace a citrullinace. Nejstudovanější jsou **acetylace**.



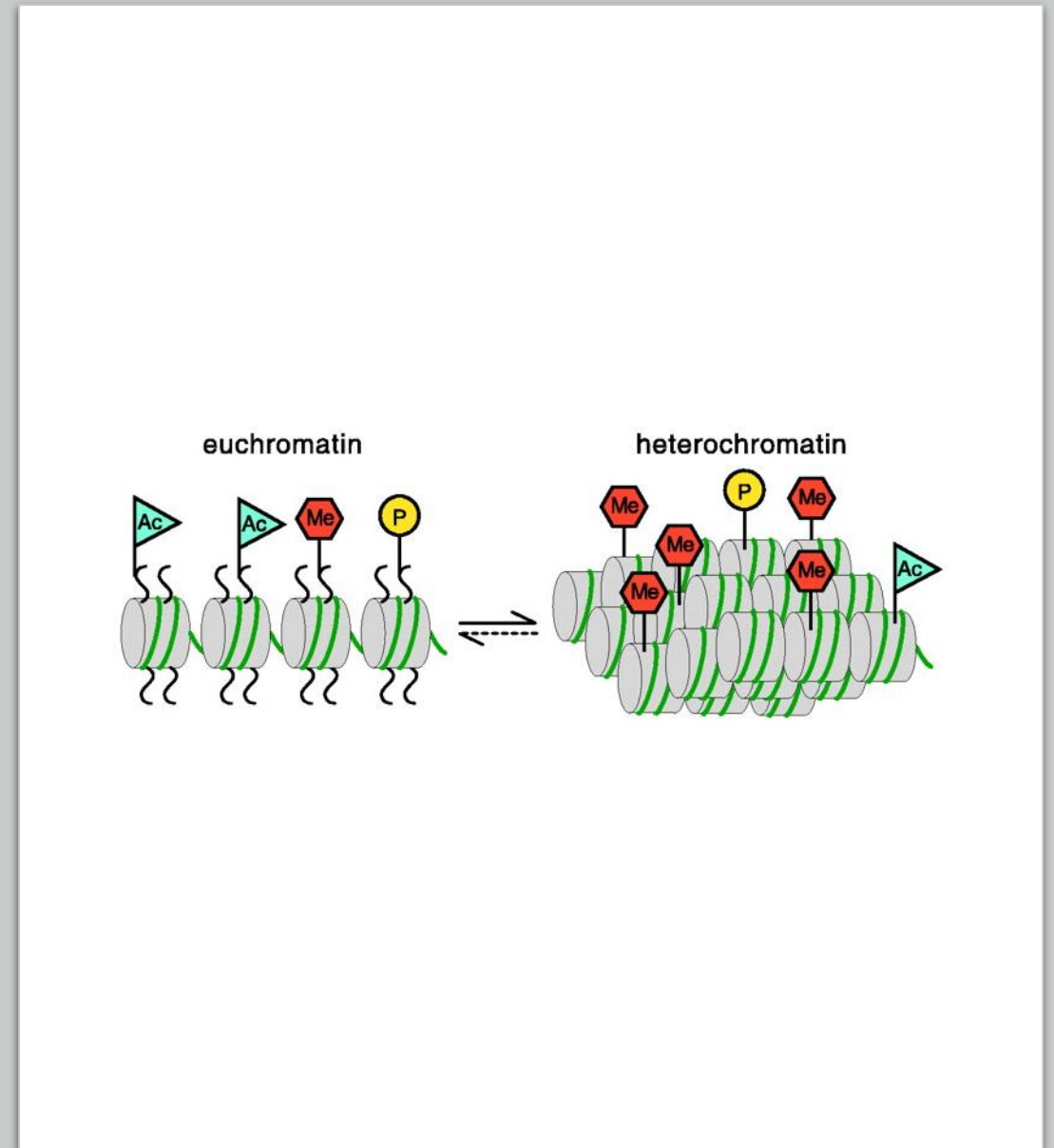
Modifikace histonů

- Enzymy podílející se na acetylaci histonů se nazývají **histonacetyltransferázy (HAT)**. HAT přidávají acetylovou skupinu k lysinům v histonovém ocásku, což maskuje jejich pozitivní náboj, dochází k uvolnění elektrostatické interakce mezi DNA a histony, což způsobuje dekonenzaci chromatinu a umožňuje genovou transkripci.
- **Histondeacetylázy (HDAC)** naopak katalyzují hydrolytické odstranění těchto acetylových značek.
 - Enzymatický komplex obsahující HDAC se váže k methylované DNA skrze proteiny MeCP1 (methyl-CpG binding protein 1) a MeCP2. Metylace DNA a modifikace histonů jsou tedy vzájemně závislými procesy.



Modifikace histonů

- Methylace lysinu 9 histonu H3 je spojována s konstitutivně transkripčně tichým chromatinem (konstitutivní heterochromatin).
- Fosforylace (přidání fosfátové skupiny z ATP) je možná na serinových zbytcích v histonových ocáscích.



Modifikace RNA

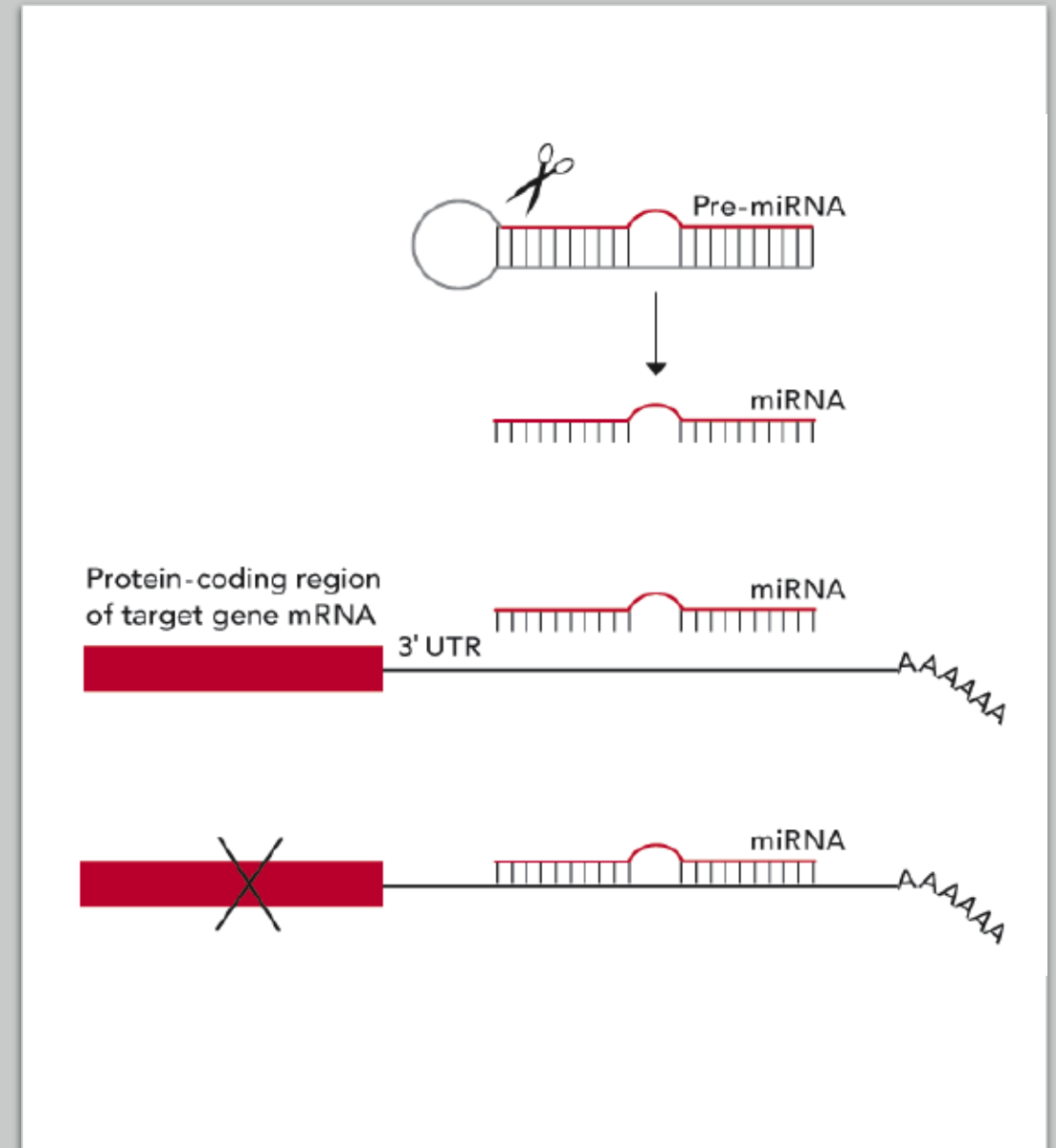
- Epigenetické modifikace se vyskytují také v RNA (**epitranskriptom**).
- Modifikace RNA představují další vrstvu epigenetické regulace genové exprese analogickou s methylací DNA a modifikací histonů.
- mRNA, tRNA, rRNA a nekódující RNA obsahují tisíce post-transcripčních chemických modifikací.
- N⁶-methyladenosin (m6A) je nejčastější modifikací
- m6A je rozpoznáván rodinami proteinů vázajících RNA, které ovlivňují mnoho aspektů funkce mRNA.

Nekódující RNA

- RNA interference je biologický proces, při kterém molekuly RNA inhibují genovou expresi nebo translaci neutralizací cílových molekul mRNA.

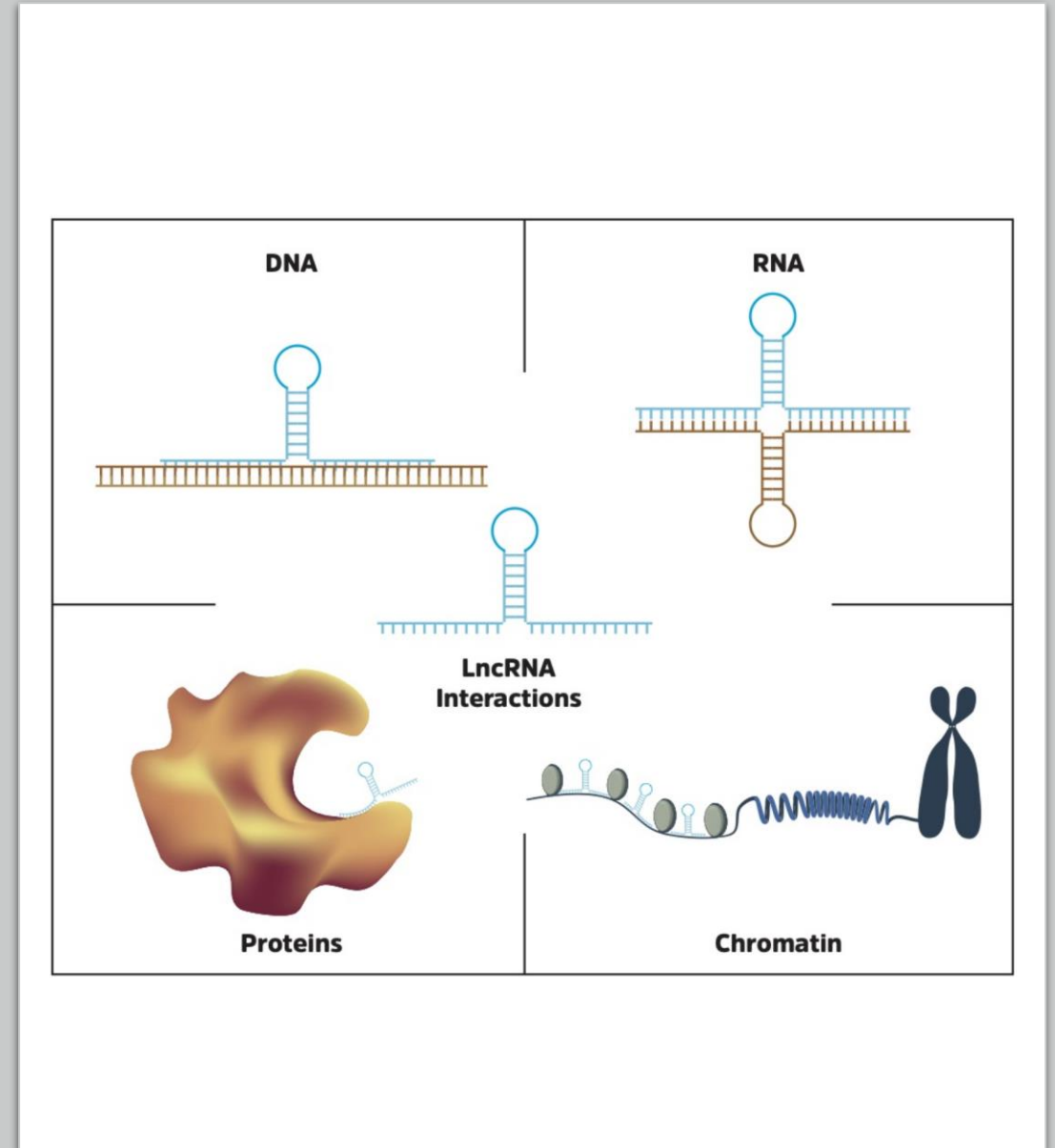
miRNA

- **MicroRNA** (*miRNA*) jsou krátké (asi 22 nukleotidů), jednovláknové, nekódující RNA, které regulují mRNA pomocí jejich degradace nebo inhibicí jejich translace na proteiny.
 - Každá miRNA může cílit přibližně na 100 až 200 různých mRNA. Mnoho miRNA je epigeneticky regulováno.
 - Asi 50% genů kódujících miRNA se nachází v oblastech CpG ostrovů, které mohou být methylovány a umlčeny.



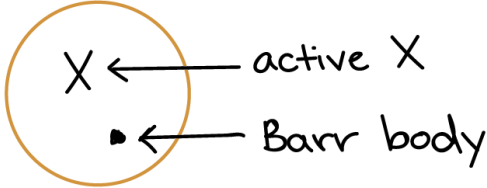
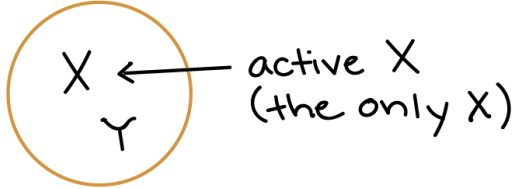
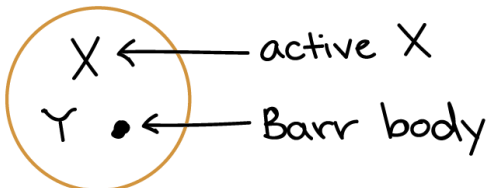
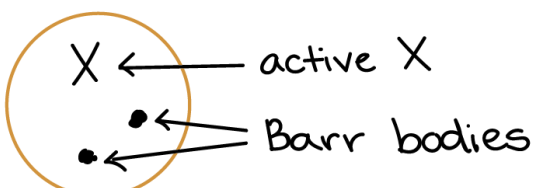
lncRNA

- **Dlouhé nekódující RNA** (*lncRNA*) jsou velkou rodinou RNA (přibližně 50 000 v lidském genomu), jejichž délka přesahuje 200 párů bází. lncRNA jsou hojné v nervových tkáních.
 - lncRNA regulují transkripci a ovlivňují aktivitu miRNA.
 - lncRNA jsou schopné hybridizovat s pre-mRNA a blokovat tak některá jejich sestřihová místa, může dojít k alternativnímu sestřihu.



Inaktivace chromozomu X

- V ženských somatických buňkách je jeden ze dvou chromozomů X inaktivován, aby se vyrovnala dávka genových produktů vázaných na pohlaví mezi ženskými a mužskými buňkami.
- Cílem inaktivace je, aby byl v každé buňce aktivní pouze jeden chromozom X.
- Pravděpodobně nejznámějším reprezentantem lncRNA je XIST (**X Inactivation Specific Transcript**), který se uplatňuje v procesu inaktivace chromozomu X.

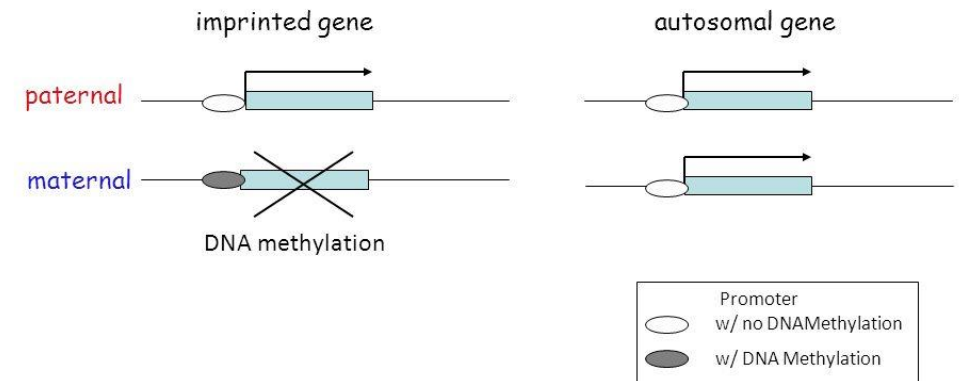
XX female	
XY male	
XXY male (Klinefelter)	
XXX female (triple X)	

Imprinting

- **Imprintované geny** jsou transkribovány pouze z **jedné alely**, a to z alely určitého rodičovského původu. **Některé lokusy** jsou **exprimovány** pouze **paternálně**, to se označuje jako maternální imprinting, tj. maternální umlčení. Jiné lokusy jsou exprimovány výhradně maternálně, což značí paternální imprinting. Druhá alela genu je neaktivní, tj. imprintovaná.
- Odhaduje se, že tento jev ovlivňuje několik stovek lidských genů.
- V případě imprintovaných alel neplatí identita reciprokých křížení, kterou zjistil Gregor Mendel, protože paternální a maternální informace nejsou ekvivalentní.

Genomic Imprinting

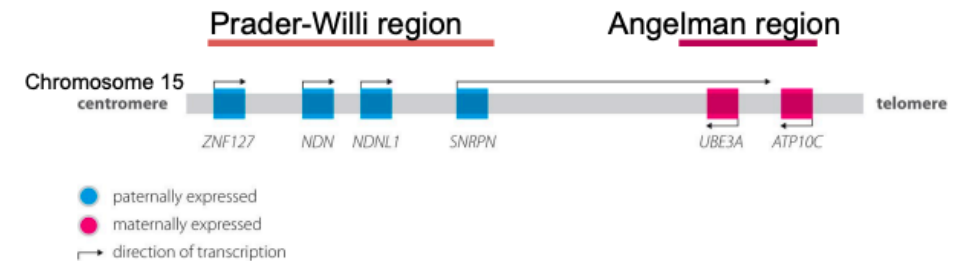
- Preferential expression (or repression) of one parental allele
- Epigenetic modification mechanism (CpG methylation)



Imprinting

- **Genomický imprinting** se vytváří **během gametogeneze**, přechází na zygotu prostřednictvím oplodnění, udržuje se po celý vývoj a dospělý život, ale **v primordiálních zárodečných buňkách je vymazán**.
- Nejznámějším případem vlivu imprintingu jsou **Angelmanův** a **Prader-Williho** syndromy
 - Oba jsou způsobeny stejnou genetickou mutací (částečná delece chromozomu 15q). Konkrétní syndrom, který se vyvine, závisí na tom, zda je mutace zděděna od matky nebo otce.
 - Delece na chromozomu matky souvisí s Angelmanovým syndromem a ztráta příspěvku otce souvisí s PWS.

Genes in the Prader-Willi/ Angelman syndrome region



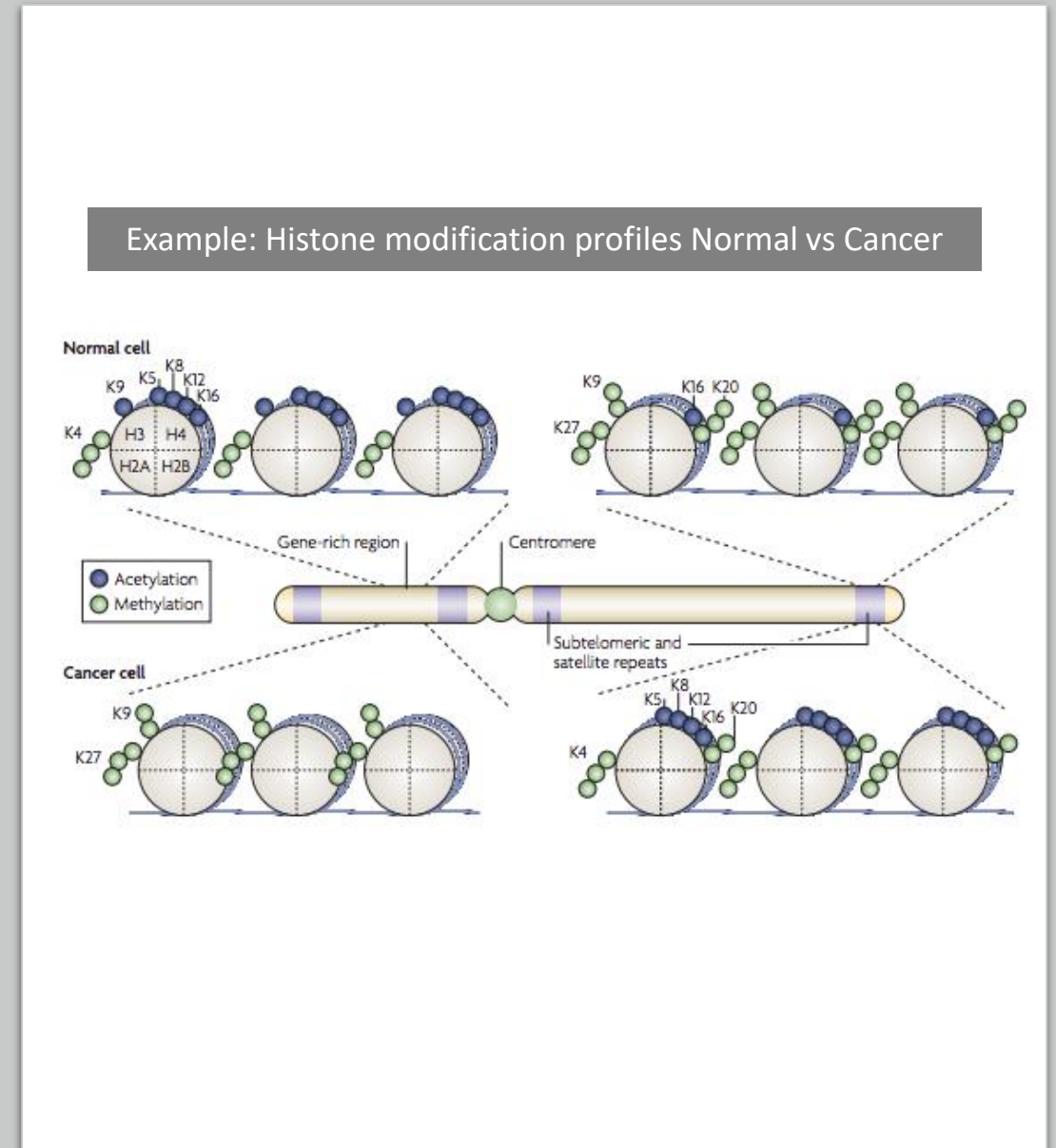
Most deletions span both the Prader-Willi and Angelman regions

Epigenetika a choroby

- Mnoho environmentálních expozic může vyvolat změny v epigenomu, které mění vzorce genové exprese, aniž by přímo měnily základní sekvenci DNA. Tyto změny mohou být spouštěčem chorob.
- Ukázalo se, že kombinace epigenetických znaků předurčuje jednotlivce k určitým chorobným stavům, jako je cukrovka, nádory, kardiovaskulární onemocnění a obezita.
- Například prostředí, kterému jste byli vystaveni v děloze (špatná strava, kouření, vysoká úroveň stresu, znečištění atd.), přímo ovlivňuje váš výsledný epigenom.
- Epigenetické modifikace působí jako mediátoři nebo rizikové faktory a poukazují na vzájemně propojený vztah mezi prostředím a nemocí.

Nádorová onemocnění

- U různých typů nádorů může být narušena celá řada různých epigenetických mechanismů.
- U sporadických nádorů jsou velmi časté epigenetické změny genů pro opravu DNA nebo genů pro kontrolu buněčného cyklu
- Epigenetické změny jsou důležité při maligní transformaci a jejich manipulace je velkým příslibem pro prevenci, detekci a terapii nádorů.



Psychologie a psychiatrie

- DNA-metyltransferáza 1 (DNMT1) je nadměrně exprimována v GABAnergických interneuronech v mozcích schizofreniků.
- U schizofrenie a bipolární poruchy byla prokázána hypermethylace potlačující expresi Reelinu (protein požadovaný pro normální neurotransmisi, tvorbu paměti a synaptickou plasticitu) v mozkové tkáni.
- Aberantní metylace byla též detekována jako faktor podílející se na vzniku Alzheimerovy choroby.
- Martinův-Bellové syndrom (syndrom fragilního chromozomu X) je známou X-vázanou mentální retardací. Jde o poruchu proteinu FMR1, který je zásadní pro správné fungování mozku. V promotorové oblasti genu FMR1 se nachází opakující se sekvence tripletu CGG (20 až 50 opakování). Pokud je počet opakování tripletu neúměrně navýšen (amplifikace tripletu), může dojít k inaktivaci genu FMR1 v důsledku metylace amplifikovaných CpG sekvencí.

Děkuji za pozornost