

Epigenetika – pojitko mezi geny a prostředím - seminář

Kateřina Straková

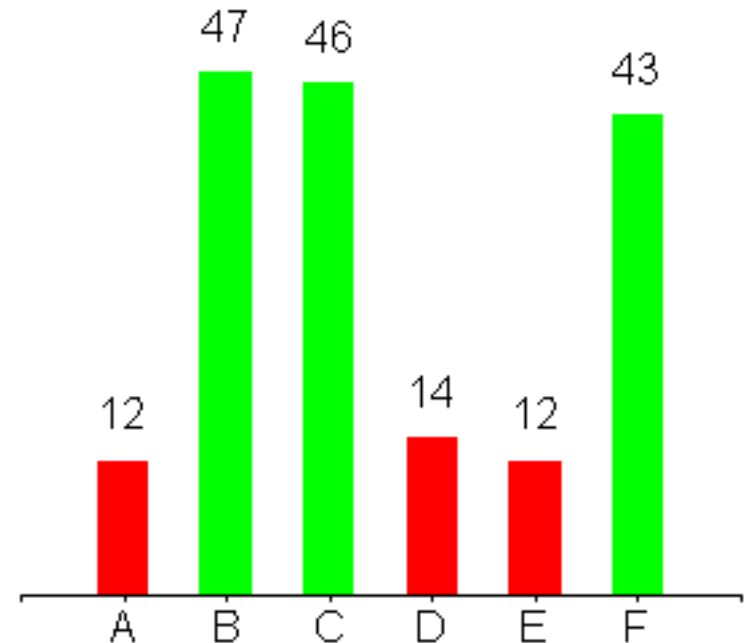
k.strakova@med.muni.cz

Epigenetické značky:

- A. způsobují změnu nukleotidové sekvence DNA
- B. zahrnují přidání $-CH_3$ skupiny na specifické báze v DNA
- C. zahrnují post-translační modifikace histonů, například jejich acetylaci a metylaci
- D. jsou tvořeny kovalentními modifikacemi, a proto je nelze odstranit
- E. mají vždy za následek umlčení genové exprese
- F. se většinou při mitóze dědí do dceřiných buněk

Epigenetické značky:

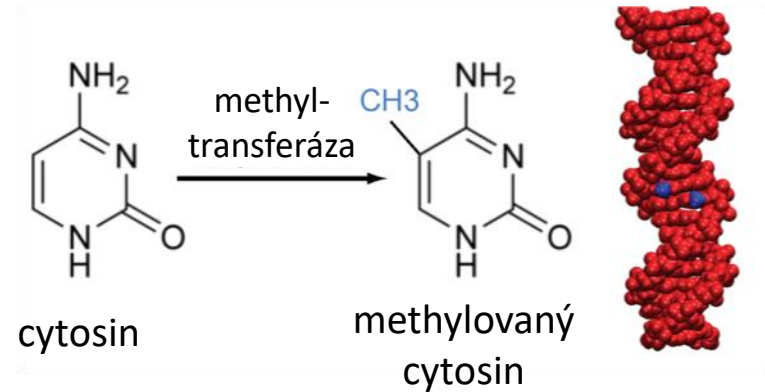
- A. způsobují změnu nukleotidové sekvence DNA
- ✓ B. zahrnují přidání $-CH_3$ skupiny na specifické báze v DNA
- ✓ C. zahrnují post-translační modifikace histonů, například jejich acetylaci a metylaci
- D. jsou tvořeny kovalentními modifikacemi, a proto je nelze odstranit
- E. mají vždy za následek umlčení genové exprese
- ✓ F. se většinou při mitóze dědí do dceřiných buněk



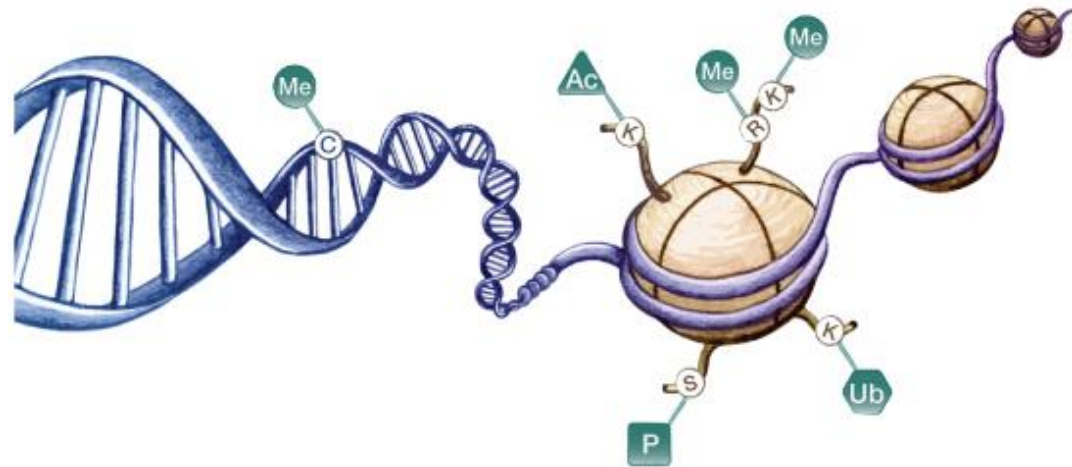
Not Voted:43
(43,0%)

Epigenetické značky

- chemické modifikace DNA a histonů, které nemají vliv na sekvenci DNA
 - methylace cytosinu v DNA
 - modifikace histonů
 - acetylace
 - methylace
 - fosforylace
 - ubikvitinace
 - ...



- existují specializované **enzymy** (*writers*), které katalyzují připojení těchto značek
- stejně tak lze ale tyto značky odstranit (většinou buď aktivně působením jiných enzymů – *erasers*, nebo se to někdy může samo „pasivně vyředit“ při následujících replikacích)
- **ovlivňují prostorové uspořádání chromatinového vlákna, a tím také expresi genů**



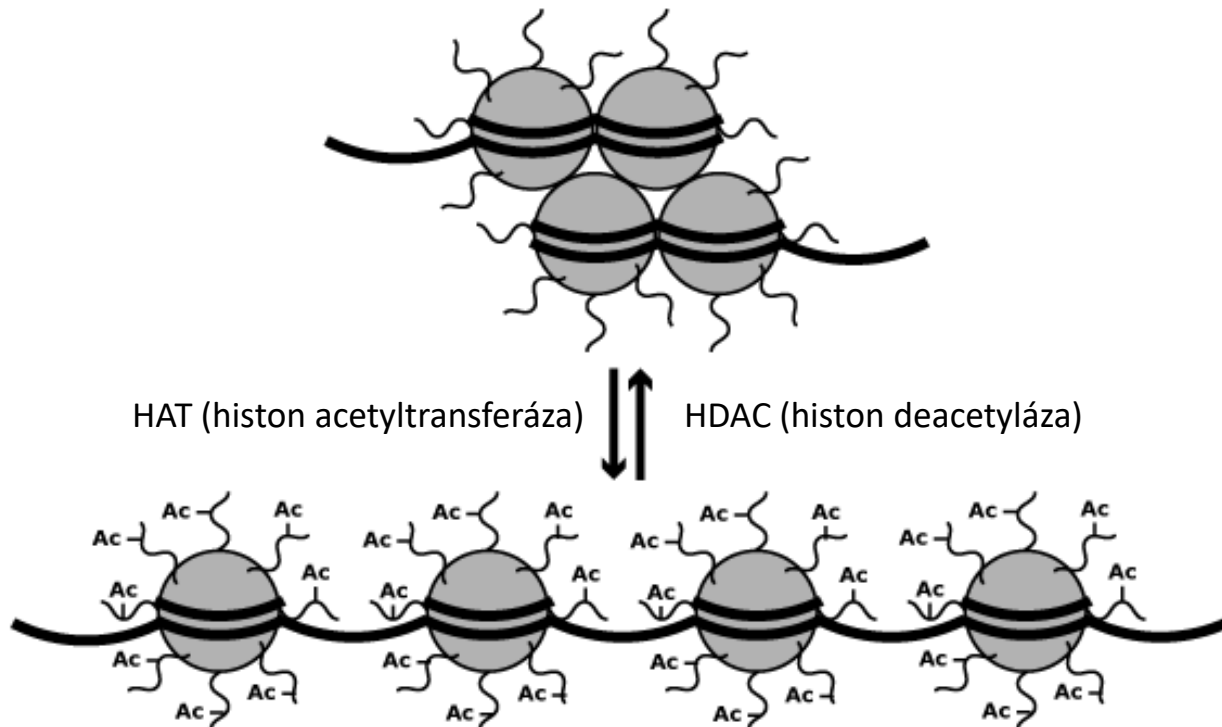
Epigenetické značky a jejich vliv na expresi genů

Acetylace histonů

- rozvolňuje strukturu chromatinu (a tím zvyšuje intenzitu genové exprese)

1) tím, že odebírá kladný náboj z histonů

2) tím, že mění tvar a náboj histonů, také indukuje vazbu dalších proteinů (*readers*), které dále ovlivňují expresi

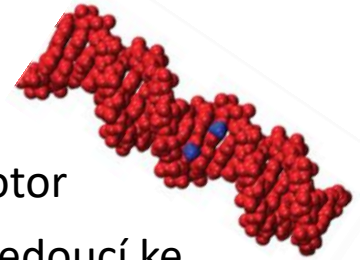


Epigenetické značky a jejich vliv na expresi genů

Methylace cytosinů v DNA

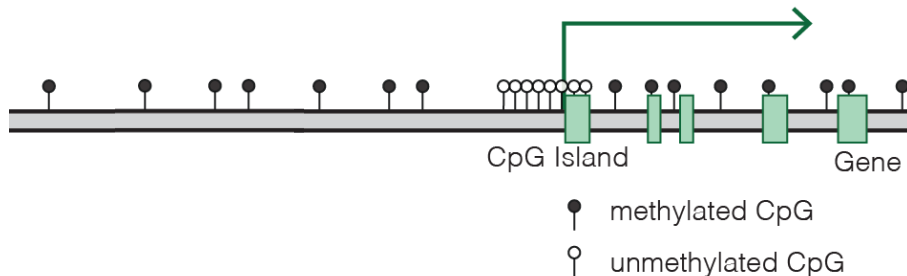
- potlačuje genovou expresi

- 1) tím, že neumožňuje vazbu transkripčních faktorů na promotor
- 2) tím, že methylovaný cytosin indukuje modifikace histonů vedoucí ke kondenzované struktuře chromatinu (např. deacetylaci histonů)



- děje se v **CpG sekvencích** (cytosinový nukleotid vedle guaninového oddělené fosfátem)

- CpG sekvence jsou v lidském genomu nahlučené v místech, kterým se říká „CpG ostrovy“ – ty se vyskytují často v promotorech – u **house-keepingových genů**, jsou aktivně udržovány demethylované a udržují tak stálou expresi těchto genů



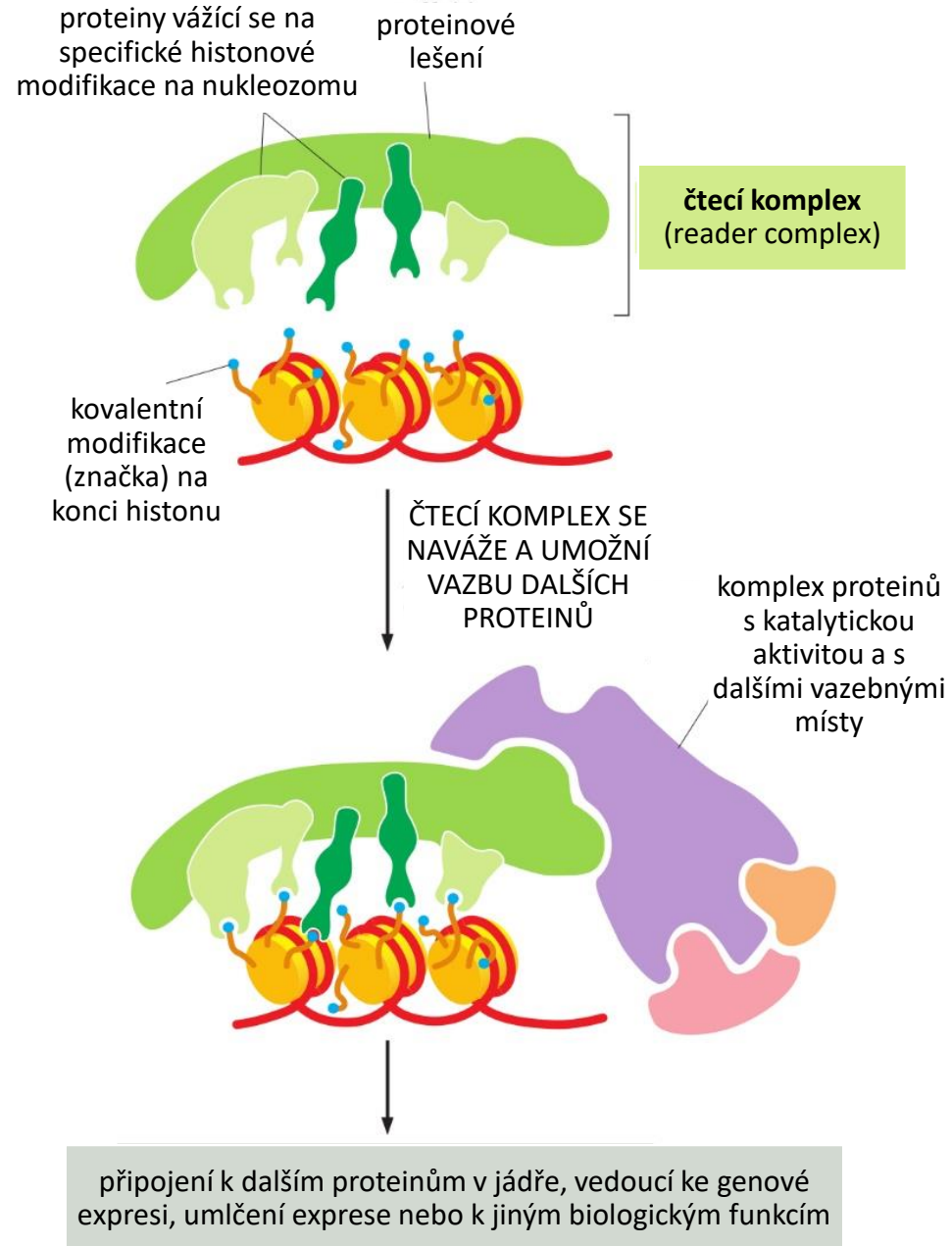
geny kódující proteiny nebo funkční RNA, které jsou potřeba ve všech buňkách našeho těla (například geny pro RNA-polymerázu, rRNA, ...)

(ostatní epigenetické značky mohou mít různé důsledky a nelze je takto zjednodušit)

Epigenetické značky indukují komplexní odpovědi

- jejich připojení/odebrání je katalyzováno na základě buněčné signalizace (vedoucí k aktivaci *writerů/eraserů*)

- výsledná kombinace všech epigenetických značek ovlivňuje tvar a náboj modifikovaného místa a je „čtena“ vazbou proteinových komplexů (*readers*), které mohou vyvolat různé odpovědi (nejenom **změny v genové expresi**, ale mohou také **rozšířit danou modifikaci** na právě vznikající **sesterskou chromatidu** nebo **do sousedních oblastí chromatinu**, či indukovat **opravu DNA**)

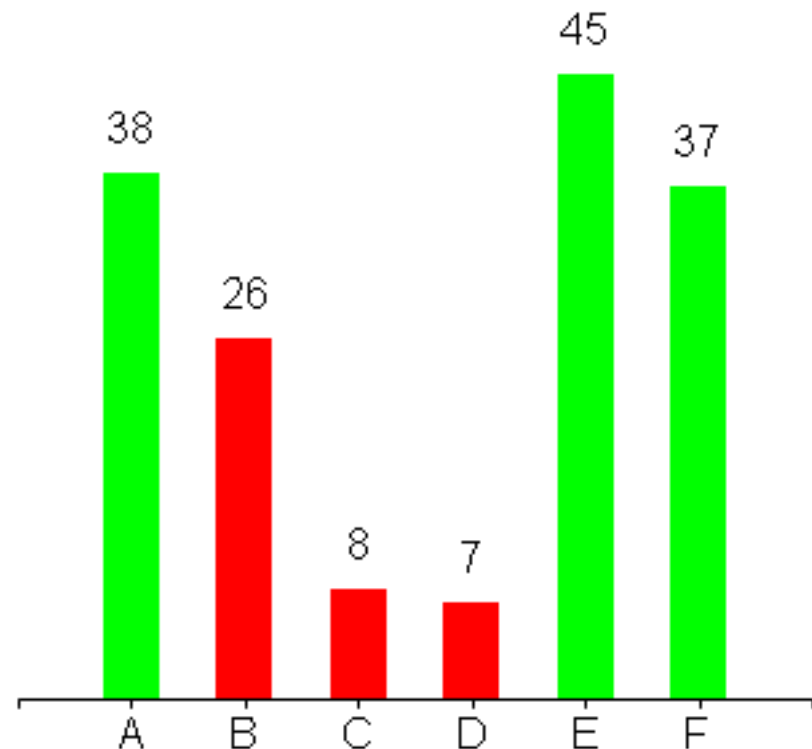


Epigenetické značky:

- A. se mohou měnit řízeně při normálním vývoji organismu
- B. obsažené v gametách rodičů se většinou dědí do somatických buněk jejich dětí
- C. v gametách a v somatických buňkách jednoho člověka jsou stejné
- D. v neuronech a v jaterních buňkách jsou u jednoho člověka stejné
- E. ve vajíčku a ve spermii se liší
- F. se mohou měnit v závislosti na buněčné signalizaci

Epigenetické značky:

- ✓ A. se mohou měnit řízeně při normálním vývoji organismu
- B. obsažené v gametách rodičů se většinou dědí do somatických buněk jejich dětí
- C. v gametách a v somatických buňkách jednoho člověka jsou stejné
- D. v neuronech a v jaterních buňkách jsou u jednoho člověka stejné
- ✓ E. ve vajíčku a ve spermii se liší
- ✓ F. se mohou měnit v závislosti na buněčné signalizaci



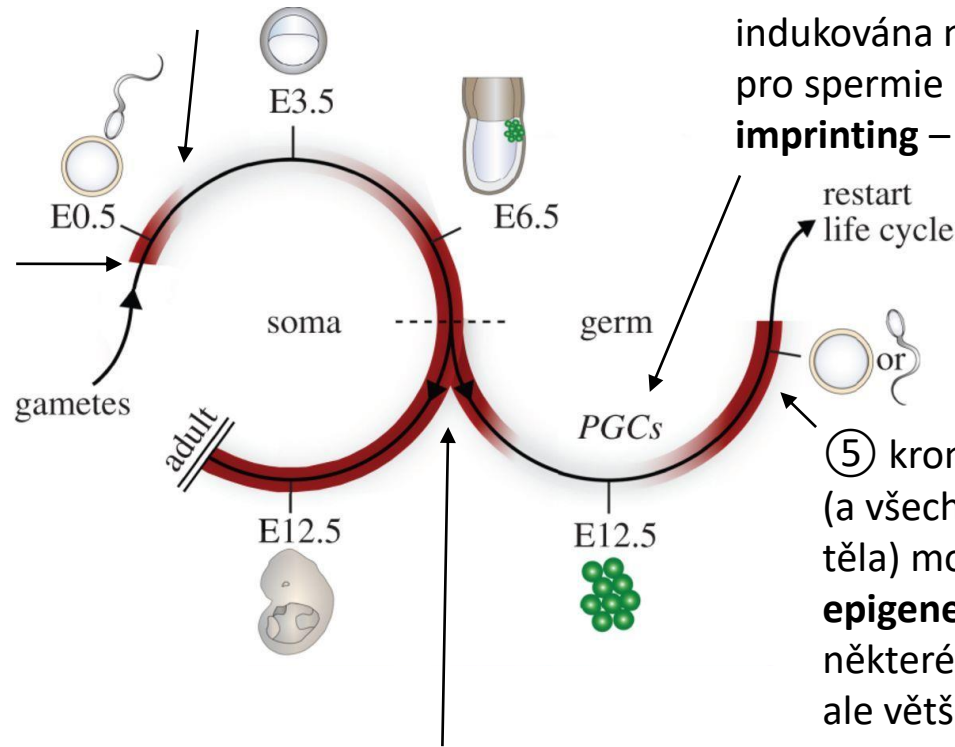
Not Voted:45
(45,0%)

Dynamika methylace genomové DNA

DNA methylation →

② krátce po oplození probíhá rozsáhlá **demethylace genomu** – většina epigenetických značek je vymazána (imprinting ale zůstává a některé geny tak budou nadále exprimovány pouze z jedné alely)

① každá gameta si s sebou přináší **specifické epigenetické značky** (včetně rozdílné methylace genomu specifické pro spermii/vajíčko – **genomický imprinting**)



④ v budoucích zárodečných buňkách proběhne další rozsáhlá **demethylace**, která **odstraní i imprinting** – poté je indukována nová methylace, specifická pro spermie nebo pro vajíčko (**nový imprinting** – gametově specifický)

③ následně probíhá vlna všeobecné **methylace**, která znemožní expresi většiny specializovaných genů (promotory house-keepingových genů ale zůstávají demetylované)

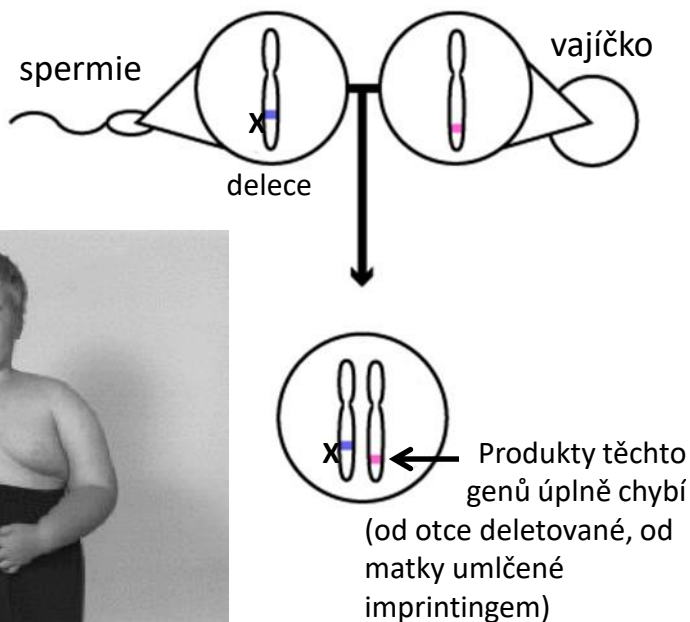
- tato methylace (nebo absence methylace) se dědí při následujících buněčných děleních
- během vývoje organismu se postupně diferencují specializované buněčné linie – diferenciace zahrnuje **změnu epigenetických modifikací**, které v dané buněčné linii zapnou expresi potřebných genů
- ve výsledku mají různé buněčné typy methylované (a jinak modifikované) různé geny

⑤ kromě imprintingu ale gamety (a všechny ostatní buňky našeho těla) mohou získávat **další epigenetické modifikace** – některé se transgeneračně dědí, ale většina ne

Imprinting se po oplození nevymaže, bude tlumit genovou expresi po zbytek života

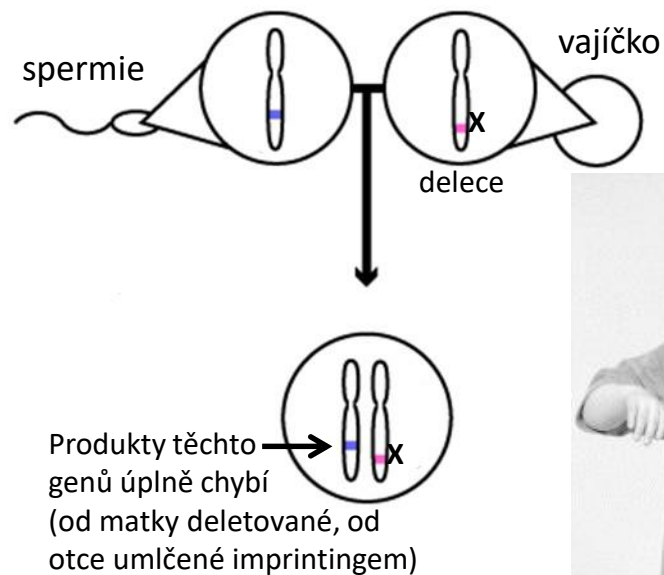
Prader-Williho syndrom

Otcovský chromozom 15 s delecí (zahrnující oba imprintované úseky) spárovaný s **maternálně imprintovaným chromozomem 15** vyústí v Prader-Williho syndrom.



Angelmanův syndrom

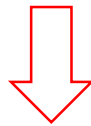
Mateřský chromozom 15 s delecí (zahrnující oba imprintované úseky) spárovaný s **paternálně imprintovaným chromozomem 15** vyústí v Angelmannův syndrom.



<http://medgen.genetics.utah.edu/photographs.htm>

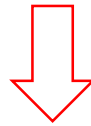
http://missinglink.ucsf.edu/lm/genes_and_genomes/imprinting.html

BUNĚČNÁ SIGNALIZACE

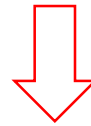


(aktivace *writerů/eraserů*)

ZMĚNA EPIGENETICKÝCH MODIFIKACÍ



ZMĚNA GENOVÉ EXPRESE



DIFERENCIACE

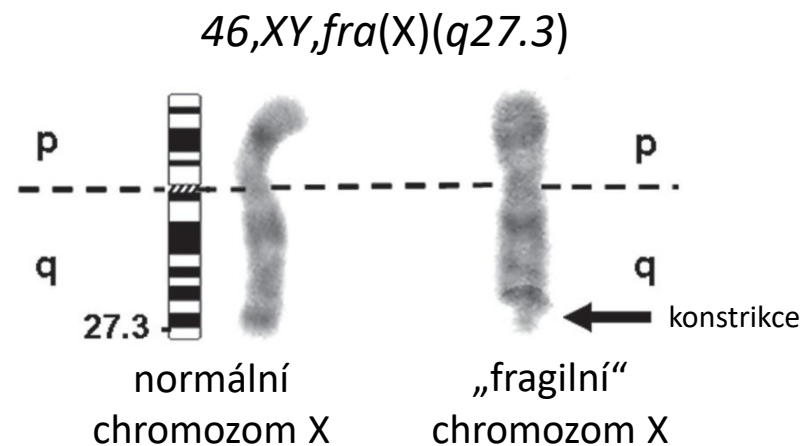
Klinický případ

- chlapec 3 roky
- opožděný psychomotorický vývoj, hyperaktivita
- zvětšené odstáté uši, protáhlý obličej
- má staršího bratra s podobnými symptomy



Co navrhujete vyšetřit?

- karyotyp →
- molekulárně biologická DNA diagnostika (většinou PCR) ↘

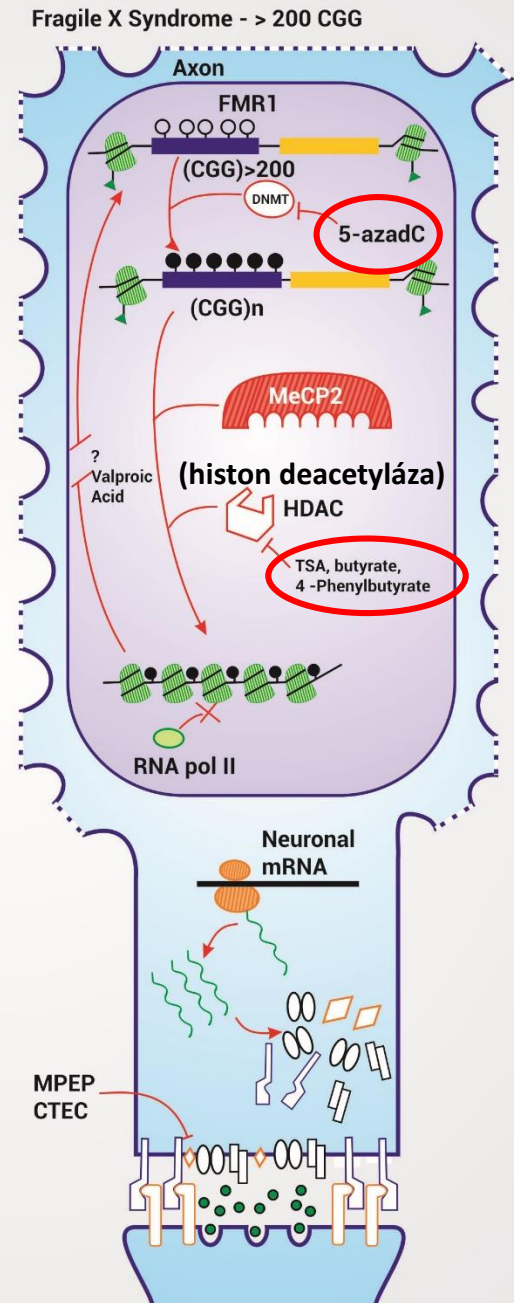
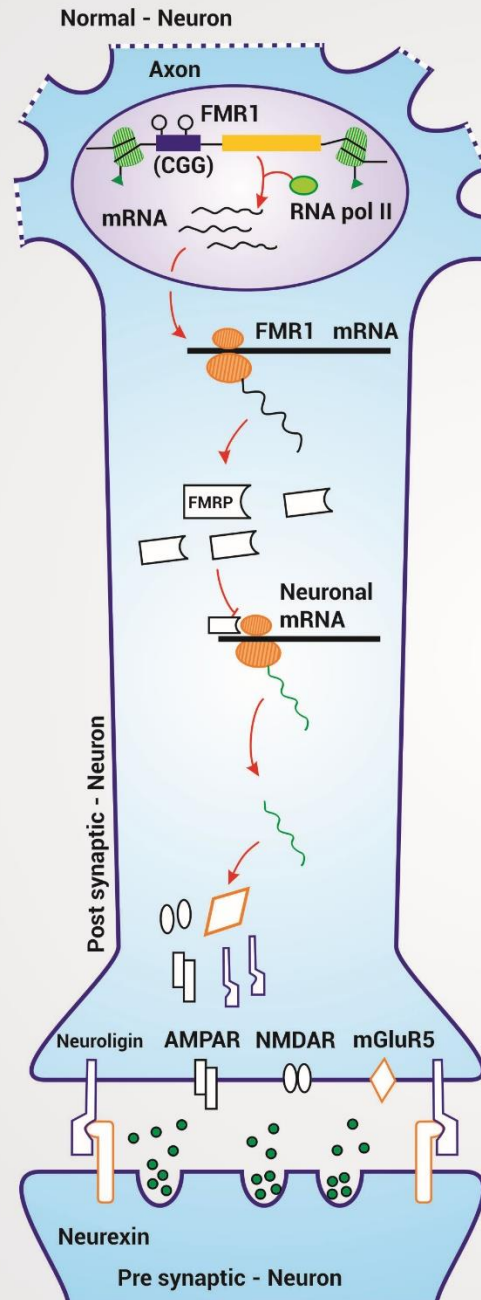


220 kopií repeticie „CGG“ v promotoru genu *FRM1* (standardní počet je okolo třiceti – liší se v různých rodinách)

Diagnóza: Syndrom fragilního X

Syndrom fragilního X

- nejčastější **dědičná forma mentální retardace**
- vzniká z důvodu **expanze repetitivní trinukleotidu CGG** v promotoru genu *FMR1* – díky tomu je **promotor rozpoznán DNA methyltransferázou**, která promotor metyluje a tím **umlcí expresi tohoto genu**
- ve zdravých buňkách vzniká expresí *FMR1* protein **FMRP**, který **potlačuje expresi některých genů** v neuronech
- nevzniká-li funkční **FMRP**, těchto proteinů vznikne **nadbytek** a to **dereguluje** vývoj a fungování nervové soustavy
- čím vyšší **úroveň methylace DNA**, tím **těžší forma syndromu**

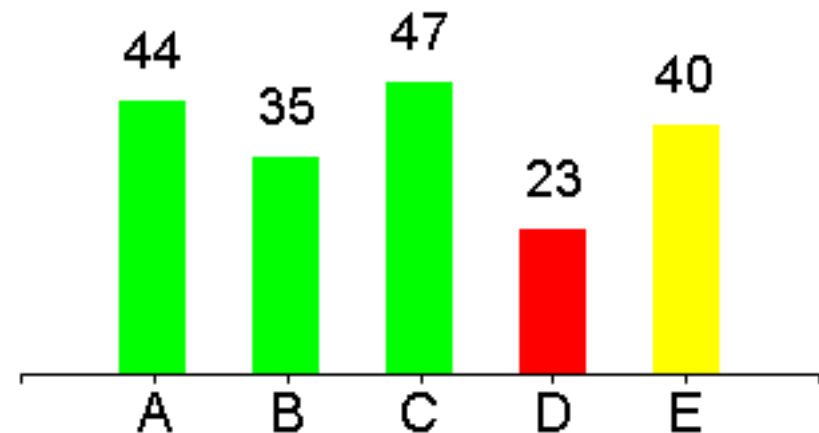


Epigenetické značky:

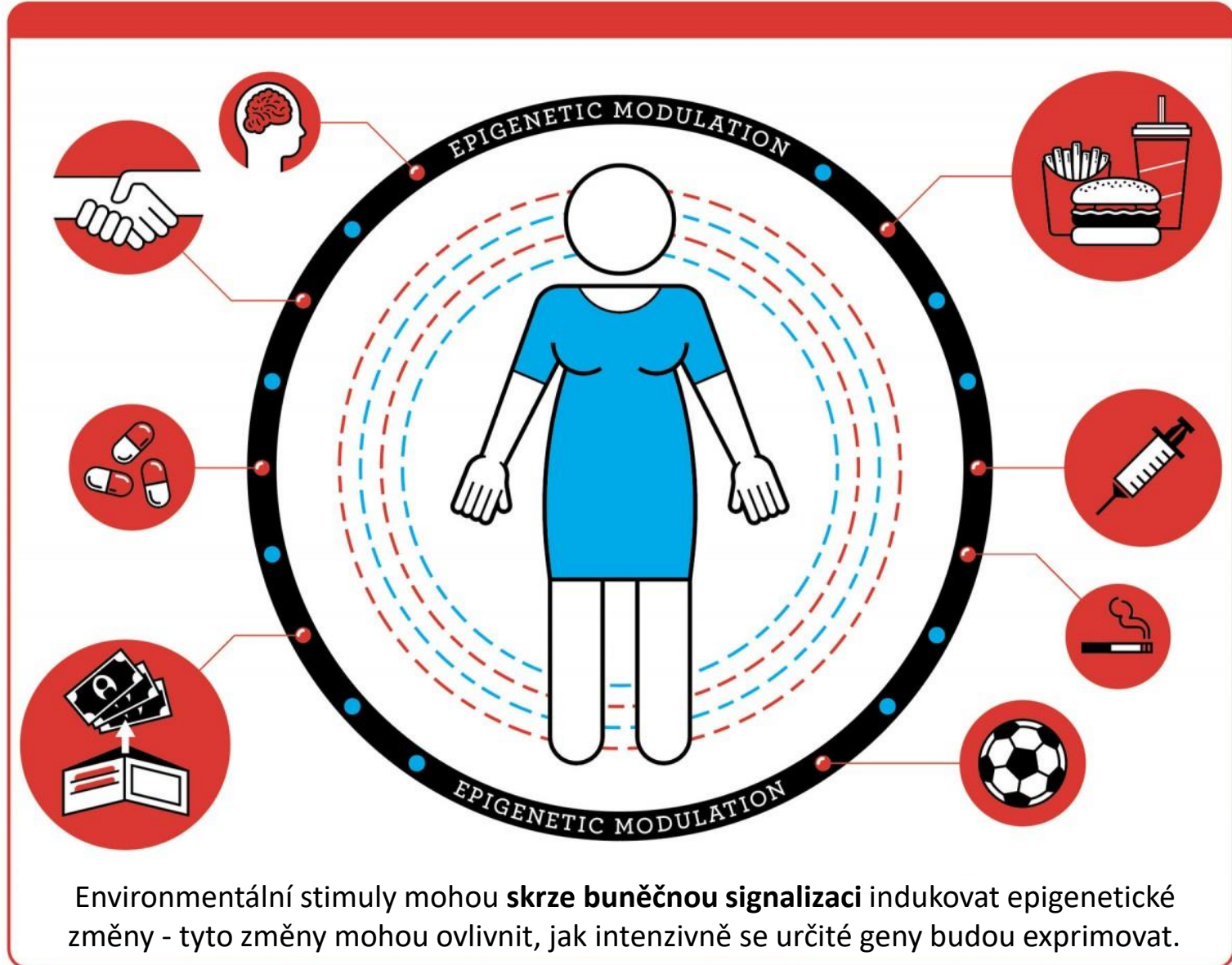
- A. se mohou změnit, pokud jsou buňky vystaveny účinku cizorodých chemických látek
- B. se mohou změnit, pokud je organismus stresován nedostatečnou výživou
- C. se mohou patologicky změnit a tím přispět ke vzniku rakoviny
- D. v buňkách jednovaječných dvojčat jsou všechny stejné
- E. v gametách mohou ovlivnit predispozice k některým onemocněním u následujících generací

Epigenetické značky:

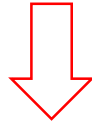
- ✓ A. se mohou změnit, pokud jsou buňky vystaveny účinku cizorodých chemických látek
- ✓ B. se mohou změnit, pokud je organismus stresován nedostatečnou výživou
- ✓ C. se mohou patologicky změnit a tím přispět ke vzniku rakoviny
- D. v buňkách jednovaječných dvojčat jsou všechny stejné
- ✓ E. v gametách mohou ovlivnit predispozice k některým onemocněním u následujících generací



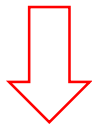
Epigenetické modifikace se mohou měnit v důsledku vnějších vlivů



CHEMICKÉ LÁTKY (přijaté zvenčí nebo vytvořené naším tělem na základě našeho chování)

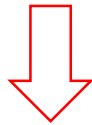


BUNĚČNÁ SIGNALIZACE

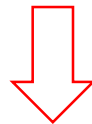


(aktivace *writerů/eraserů*)

ZMĚNA EPIGENETICKÝCH MODIFIKACÍ



ZMĚNA GENOVÉ EXPRESE

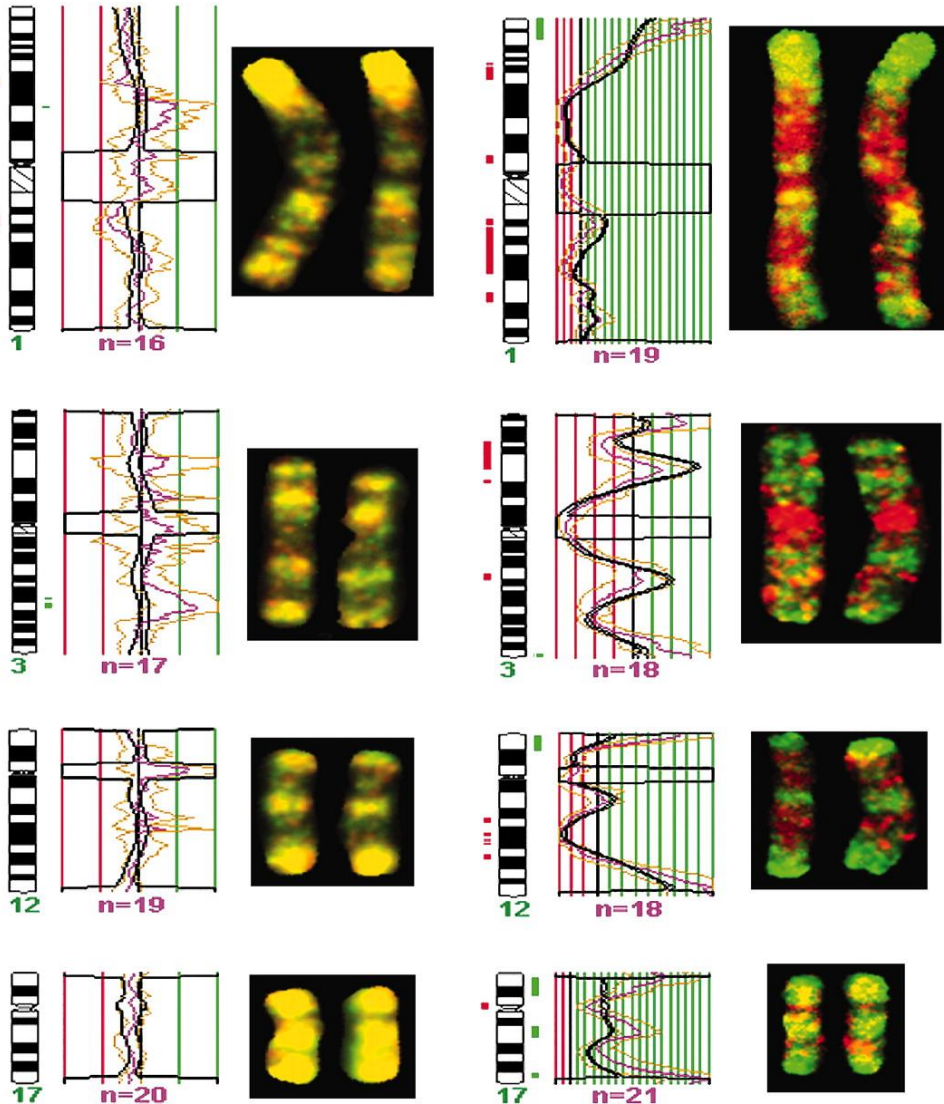


DIFERENCIACE



**změna fenotypu
predispozice k chorobám
rakovina**

S věkem se zvětšují rozdíly v epigenetických modifikacích v buňkách jednovaječných dvojčat



Dvojčata ve věku 3 let

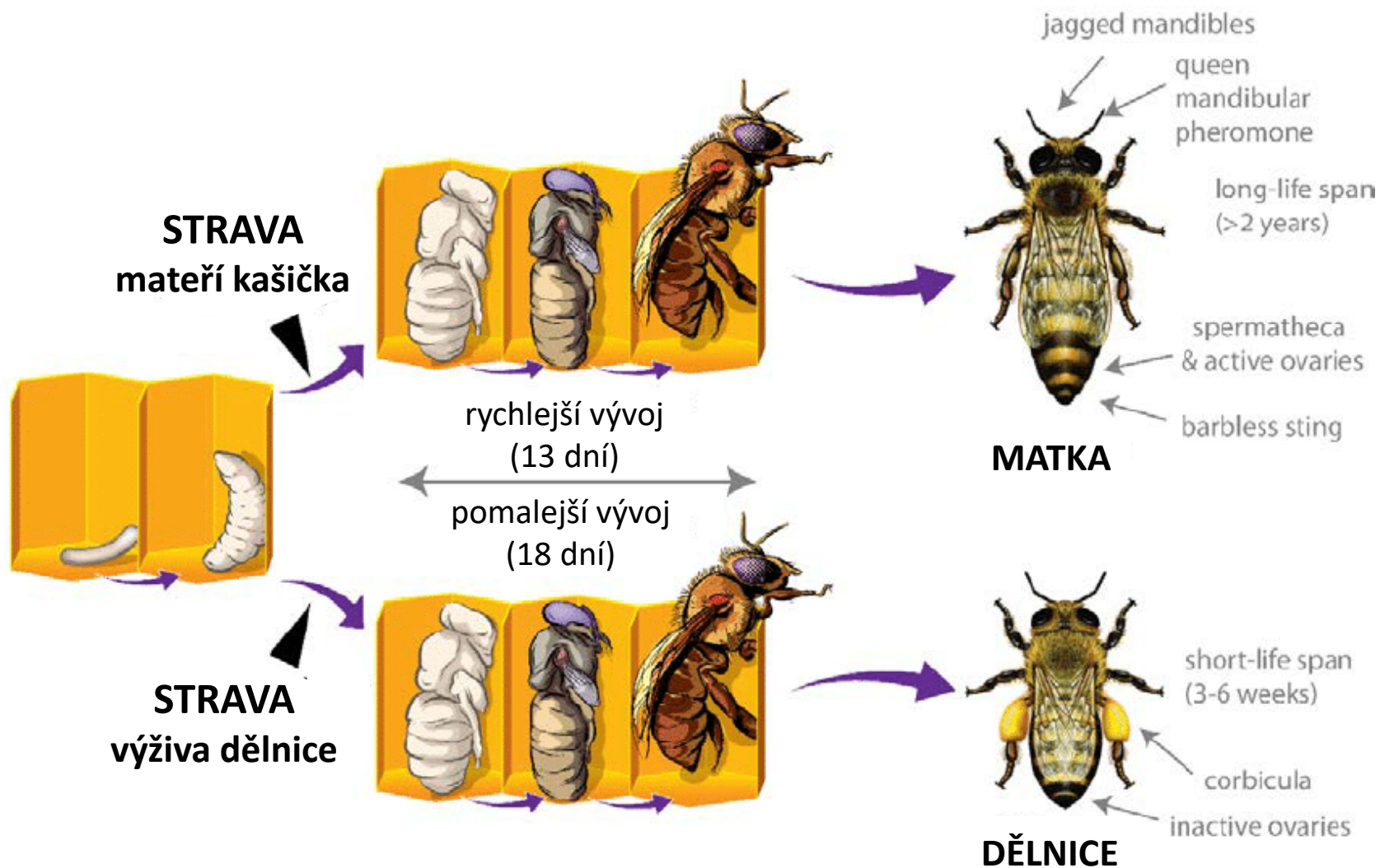
Dvojčata ve věku 50 let



Vlevo: V chromozomech (1, 3, 12 a 17) jednovaječných dvojčat byla analyzována intenzita methylace DNA metodou komparativní genomové hybridizace. Žluté regiony jsou sekvence, které jsou methylovány stejně intenzivně u obou dvojčat. Zelené a červené regiony jsou sekvence, které jsou methylovány s různou intenzitou.

Epigenetické modifikace získané během vývoje nás mohou ovlivnit po zbytek života

Vliv výživy plodu na fenotyp včely

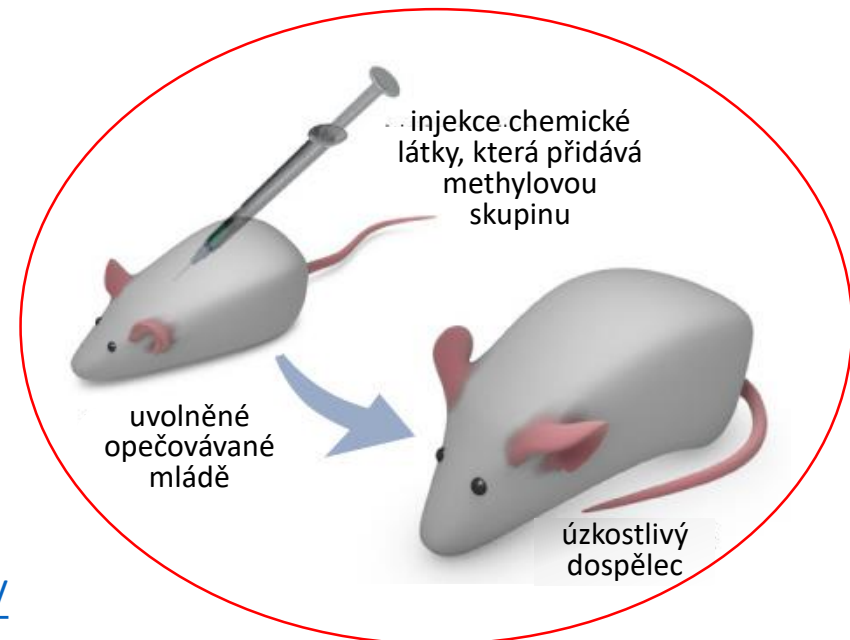
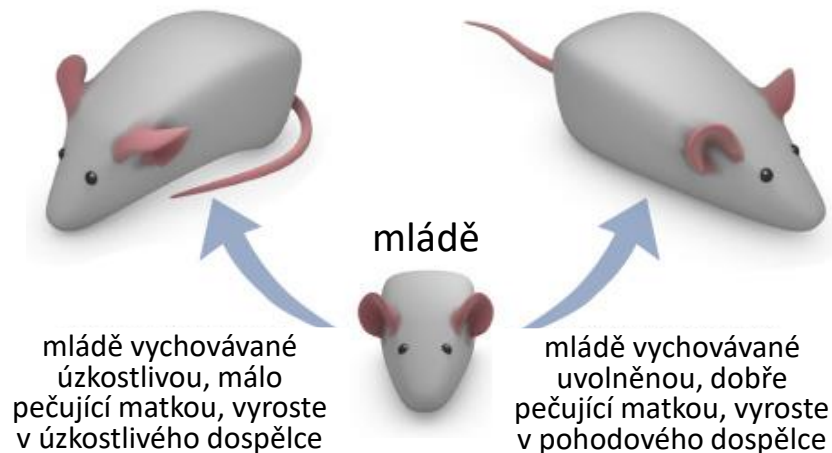


Epigenetické modifikace získané během vývoje nás mohou ovlivnit po zbytek života

Vliv mateřské péče na hladinu stresu u potkanů

Glukokortikoidový receptor (GR) v neuronech snižuje hladinu stresu (stresový hormon kortizol se váže na GR a spouští signalizaci, která utlumí tvorbu dalšího kortizolu)

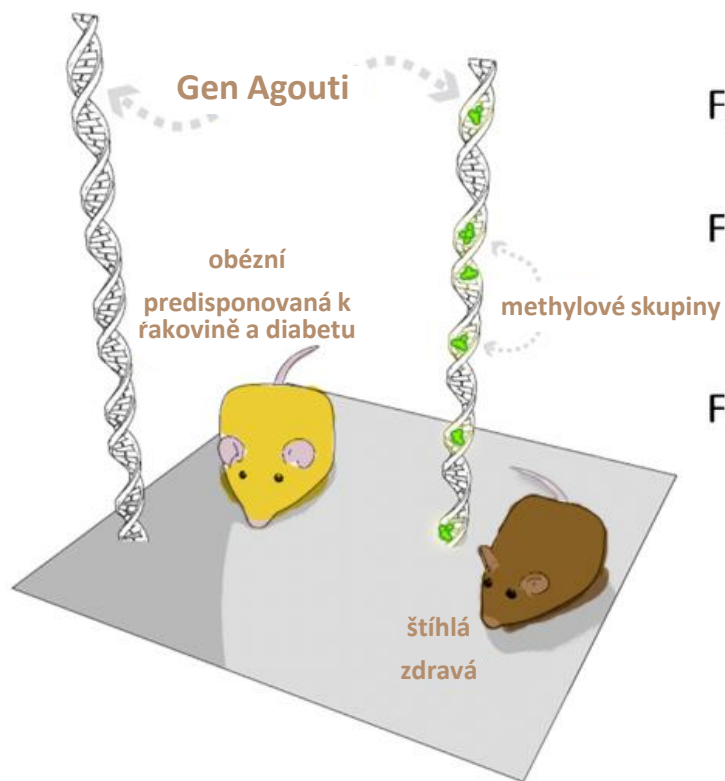
- ⇒ mateřská péče v prvním týdnu života vede k **demethylaci promotoru** genu pro GR
 - ⇒ po celý život vzniká v neuronech více glukokortikoidového receptoru
 - ⇒ při setkání se stresem se daný potkan rychleji "uklidní"
- ⇒ málo péče na začátku života vede k většímu množství stresu v dospělosti
- ⇒ ovlivnění exprese stovky dalších genů



Některé modifikace se mohou dědit do následujících generací

Vliv maternální diety v těhotenství

- význam stravy bohaté na donory methylové skupiny (vitamín B12, methionin, kyselina listová)



F₀ matka krmena
bisfenolem A

F₁ posun ke žluté
barvě srsti

F₂ barva srsti
přetrvává

geneticky identické myši



F₀ matka krmena
folátem (donor
methyly)

F₁ posun k barvě
srsti pseudo-
agouti

F₂ barva srsti
přetrvává

žlutá

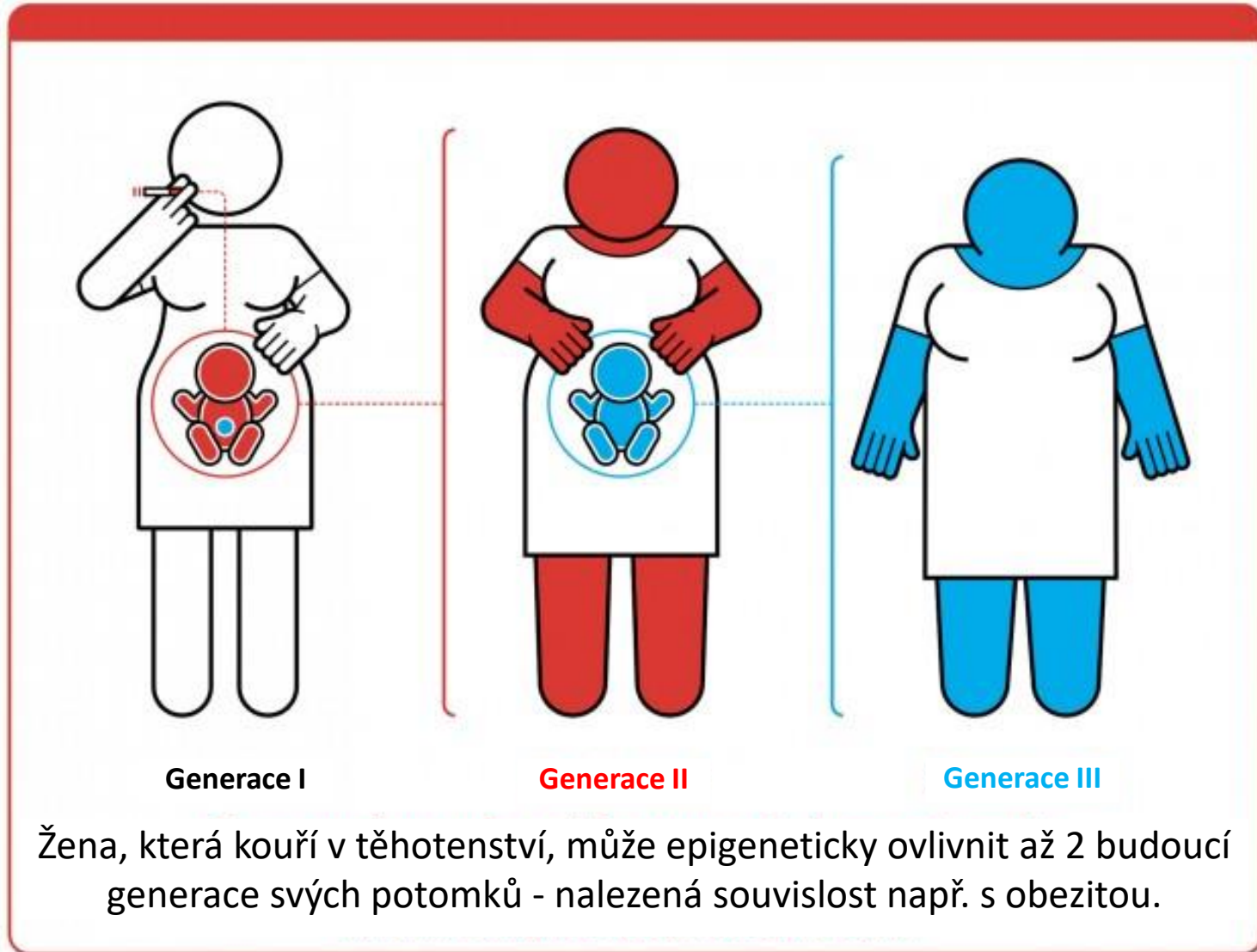
skvrnitá

pseudo-
agouti

0% → 100%
methylace DNA v lokusu agouti u potomstva

F₀, F₁, F₂ – 3 po sobě jdoucí generace

Některé modifikace se mohou dědit do následujících generací



Žena, která kouří v těhotenství, může epigeneticky ovlivnit až 2 budoucí generace svých potomků - nalezená souvislost např. s obezitou.

→ životní styl může ovlivňovat genovou expresi následujících generací

Některé modifikace se mohou dědit do následujících generací

Hladomor v Holandsku v zimě 1944/1945 (Dutch famine, Hongerwinter)

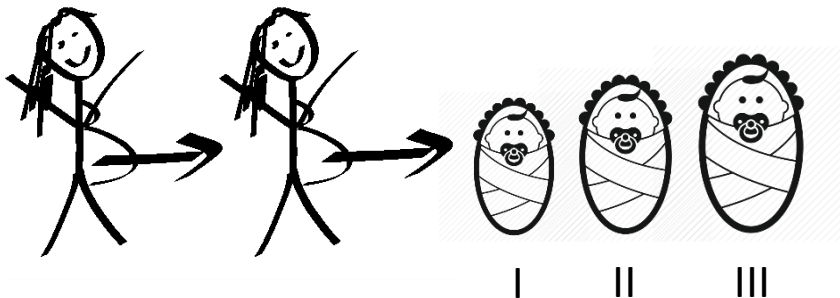
- moderní, rozvinutá země, přesné záznamy, follow-up pacientů => jedinečná kohorta

U **sourozenců**, kteří zažili hladomor *in utero* (ve srovnání s ostatními sourozenci):

vyšší prevalence obezity a diabetu II. typu
změny v metabolismu glukózy
změny v lipidovém profilu
defekty neurální trubice
schizofrenie

horší pokud k expozici
došlo během 1. trimestru
vývoje plodu

Ale i **transgenerační vliv**:



vs.



Změny v methylaci IGF2? (insulin-like growth factor 2, ovlivňuje růst embrya; maternálně imprintovaný)

Ale na potomstvo se přenášejí i epigenetické modifikace ve spermiích

...pokud nejsou po oplození vymazány

Vlivy paternální prekoncepční expozice

alkohol (chronická i akutní expozice)

=> méně potomstva, menší porodní váha, hyperaktivita, menší mozek i další orgány, kognitivní a behaviorální defekty, náchylnost k infekcím

vysokotučná dieta

=> deregulace β -buněk slinivky u samičích potomků => vyšší BMI, poruchy metabolismu glukózy, insulinová rezistence (lze upravit cvičením otce)

nízkoproteinová dieta

=> změny v metabolismu lipidů a cholesterolu

kokain

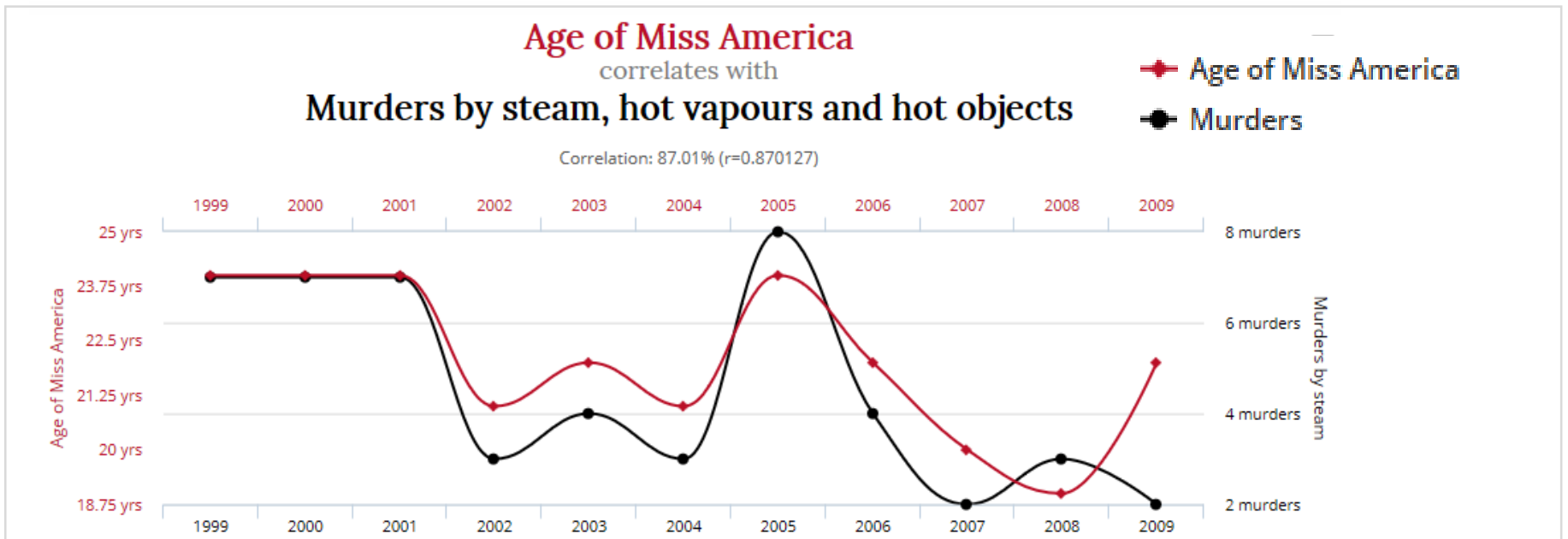
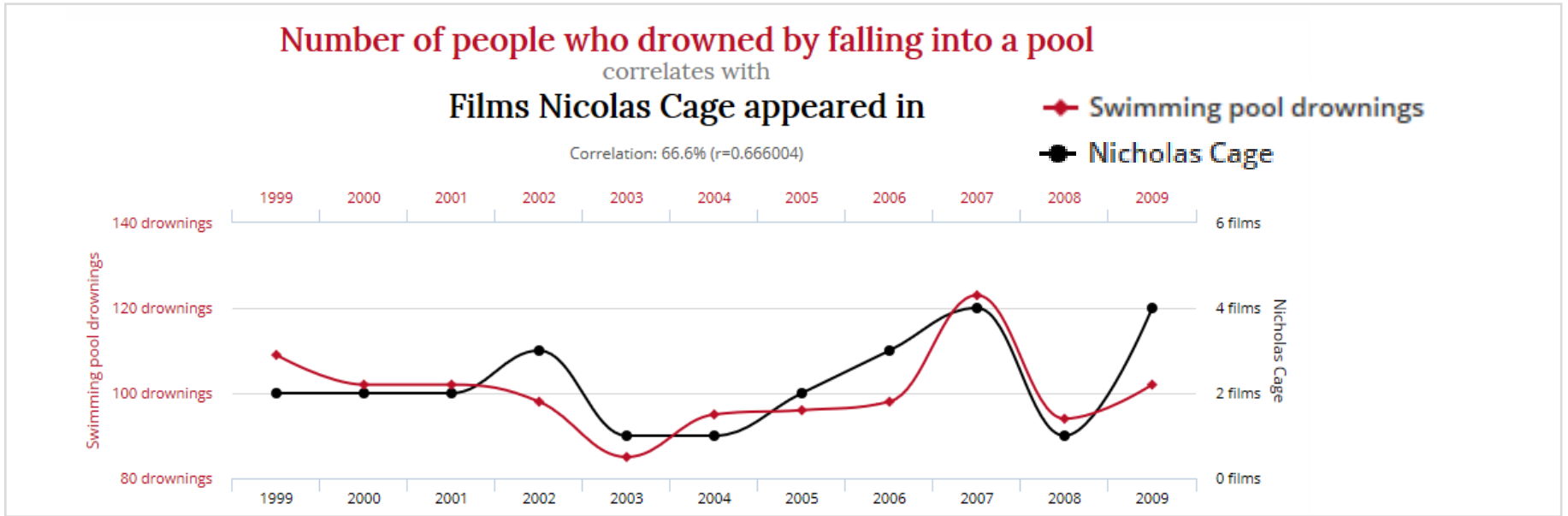
=> poruchy učení a paměti

stres

=> behaviorální defekty

častá souvislost se sníženou aktivitou DNA methyltransferáz
=> **hypomethylace** a aktivace běžně „vypnutých“ genů

Korelace nezaručuje kauzalitu ☺



K čemu je epigenetika dobrá? Proč se evolučně vyvinula?

- obecně **aby se mohla různými způsoby regulovat genová exprese**
 - **dynamicky** v závislosti na akutní potřebě buňky, ale i **stabilně** pro vytvoření nějaké formy buněčné paměti (diferenciace)
 - také **ve specifických případech** jako je mateřsky-otcovská kompetice při růstu embrya (genomický imprinting) nebo kompenzace genové dávky (inaktivace X)
- abychom mohli **přizpůsobit svoje chování a metabolismus měnícím se podmínkám prostředí**
 - **rychlejší adaptace** než skrze klasické evoluční adaptační strategie (variabilita potomstva, mutace a následná selekce)
 - někdy nás mohou tyto modifikace sloužící zřejmě primárně k adaptaci ve výsledku znevýhodnit (ostatně stejně jako variabilita a mutace)

Transgenerační přenos epigenetických značek u lidí je stále velmi kontroverzní

That moment when you open
your exam paper....

