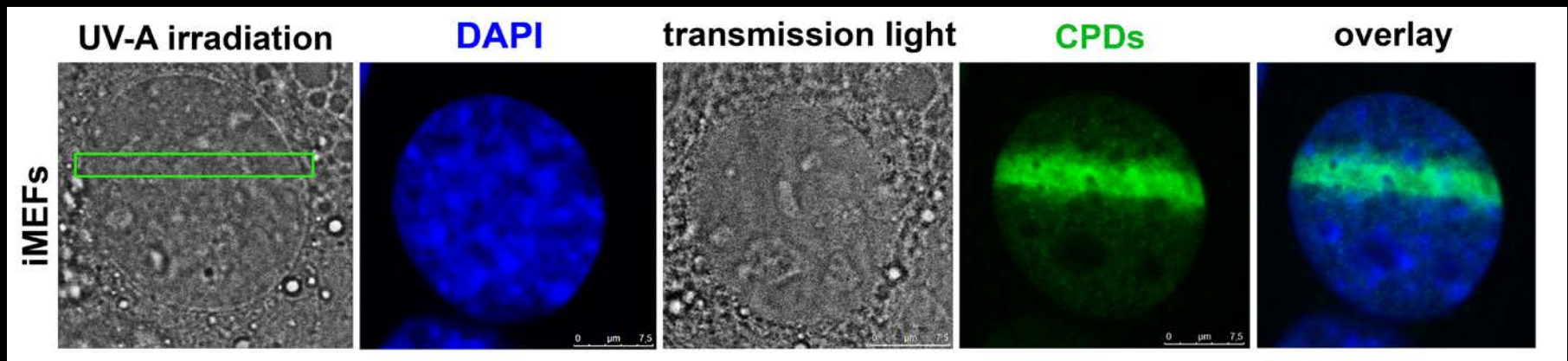
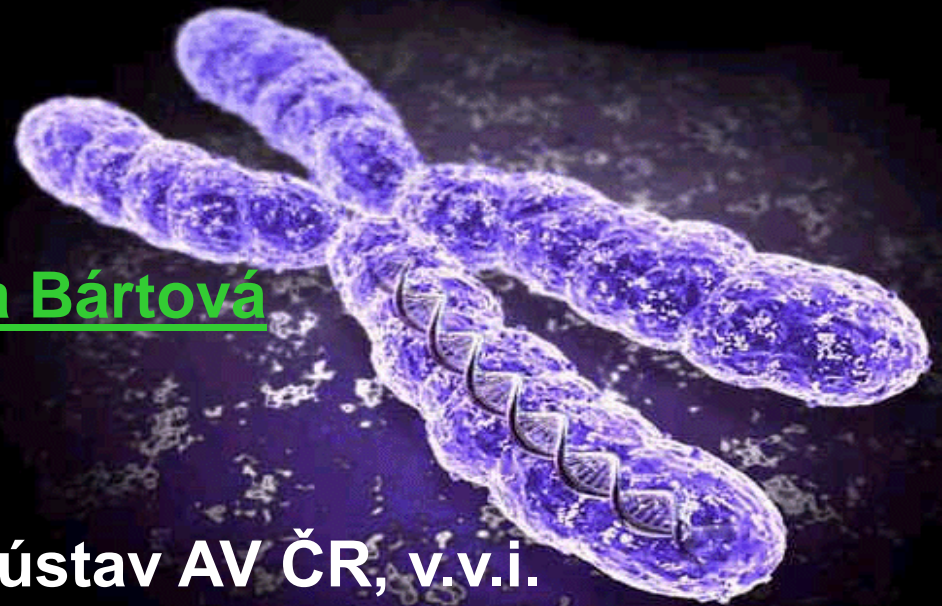


Struktura chromatinu a epigenetické procesy v

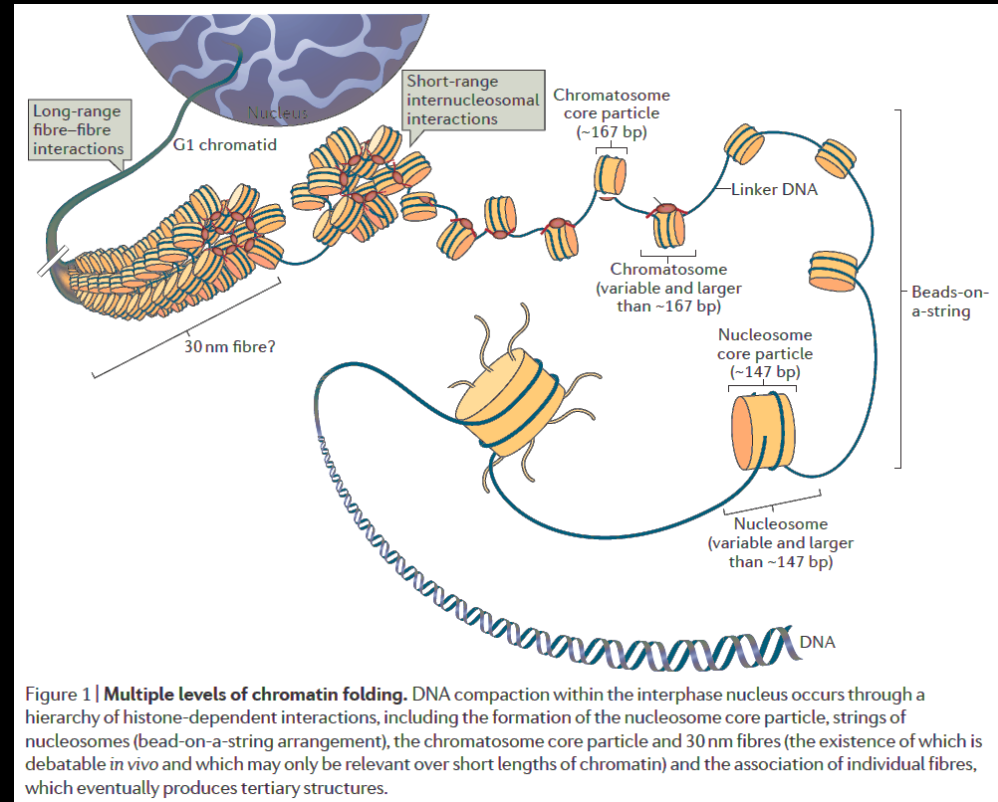
Eva Bártová

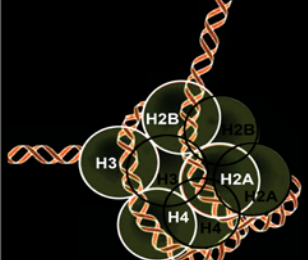
Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.
Brno




Co je epigenetika?

Epigenetika podle Wikipedie: je v moderním slova smyslu vědní podobor genetiky, jenž studuje změny v genové expresi, které nejsou způsobeny změnou nukleotidové sekvence DNA. Epigenetické jevy mohou být děděny z buňky na buňku a z generace na generaci, tedy jak při mitóze, tak při meióze. Genom včetně epigenetických změn se označuje jako epigenom.

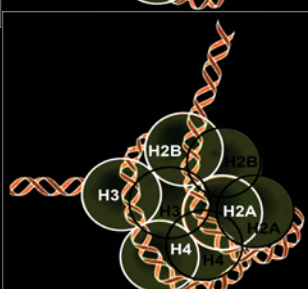






Během posledních 50 let však samotný význam epigenetiky prošel vývojem, a to z důvodů rostoucích znalostí v oblasti molekulární biologie. Epigenetické principy jsou základem regulace exprese genů u eukaryot. Je evidentní, že vzory genové exprese se velmi liší mezi různými typy buněk a tyto vzory mohou být klonálně zděděny (Gary Felsenfeld, Cold Spring Harb. Perspect Biol., 2014)



V roce 1956 zveřejnil britský vývojový biolog Conrad Waddington svůj článek v časopise Evolution (Waddington, 1956), ve kterém se podařilo prokázat dědičnost znaků získaných v populaci v reakci na environmentální podněty.



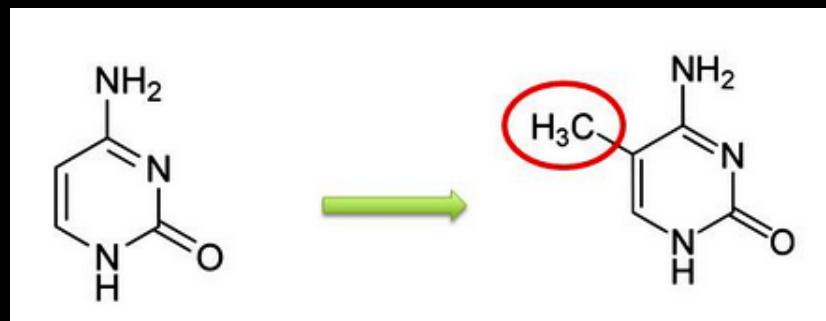
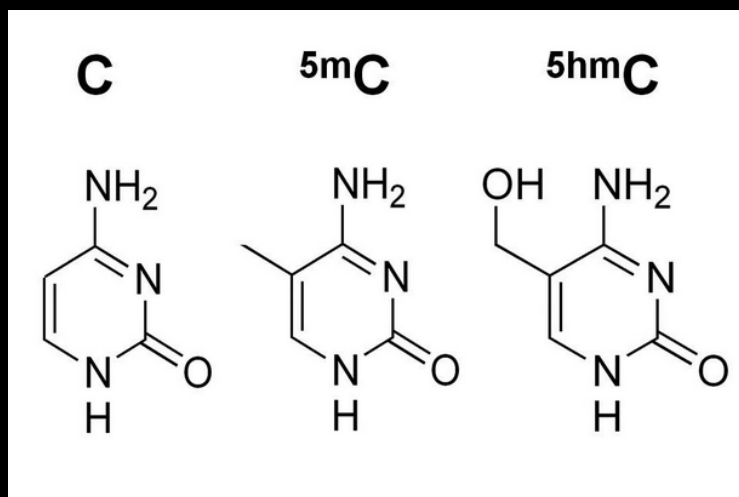
Riggs (1975) a Holliday a Pugh (1975) navrhli, že methylace DNA může působit jako epigenetická značka, zodpovědná inaktivaci X chromosome.



Methylace DNA je pojem, kterým rozumíme modifikaci nukleových bází cytosinu a adeninu kovalentním připojením methylového zbytku.

Přítomnost 5-methyl cytosinu u eukaryot společně s post-translačními úpravami histonů patří mezi epigenetické modifikace DNA, kteréžto bez nutnosti změny genetického kódu regulují genovou expresi v dané buňce.

Methylaci DNA, u savců tedy vznik 5-methyl cytosinu (5mC), katalyzují enzymy zvané methyltransferázy, které přenášejí metyl (alkyl methanu) z S-adenosyl-1-methioninu na pátý uhlík cytosinové báze.



Epigenetické modifikace ve vztahu k inaktivaci X chromosomu

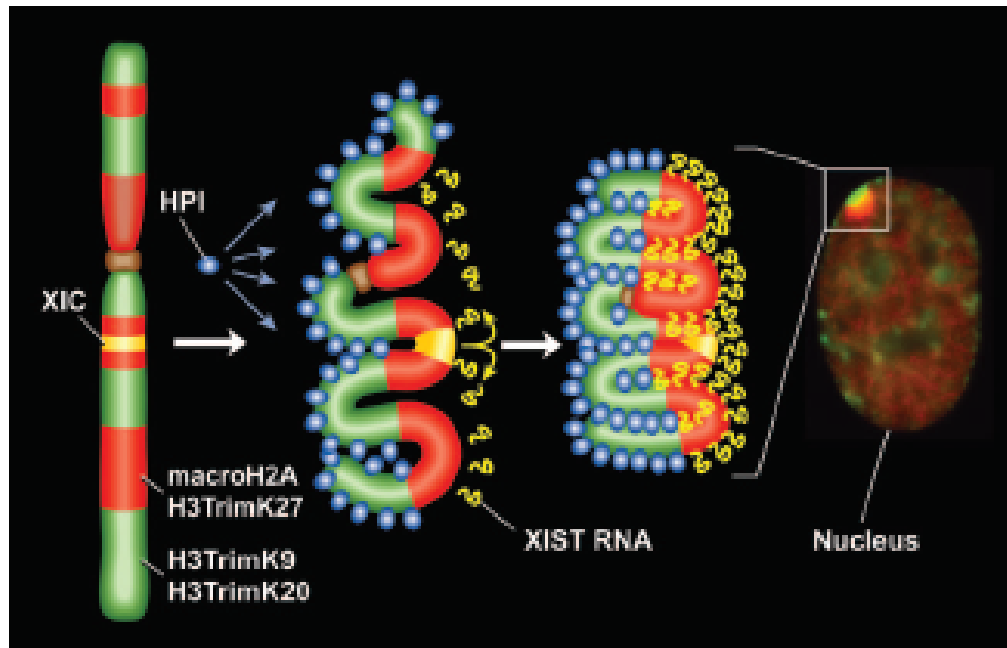
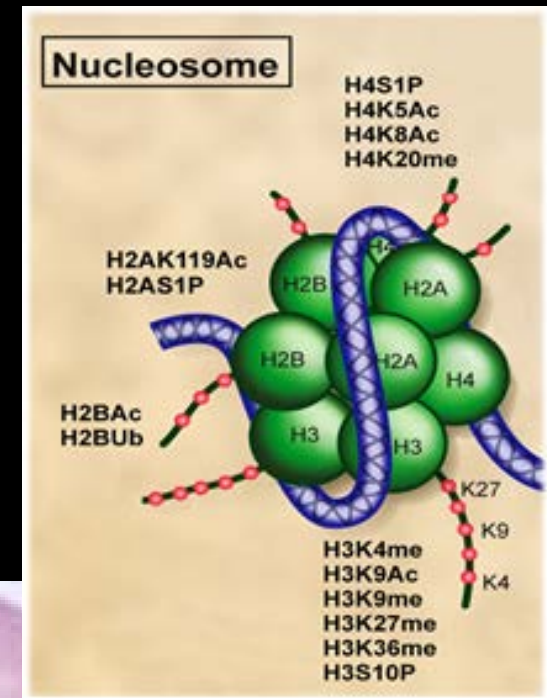
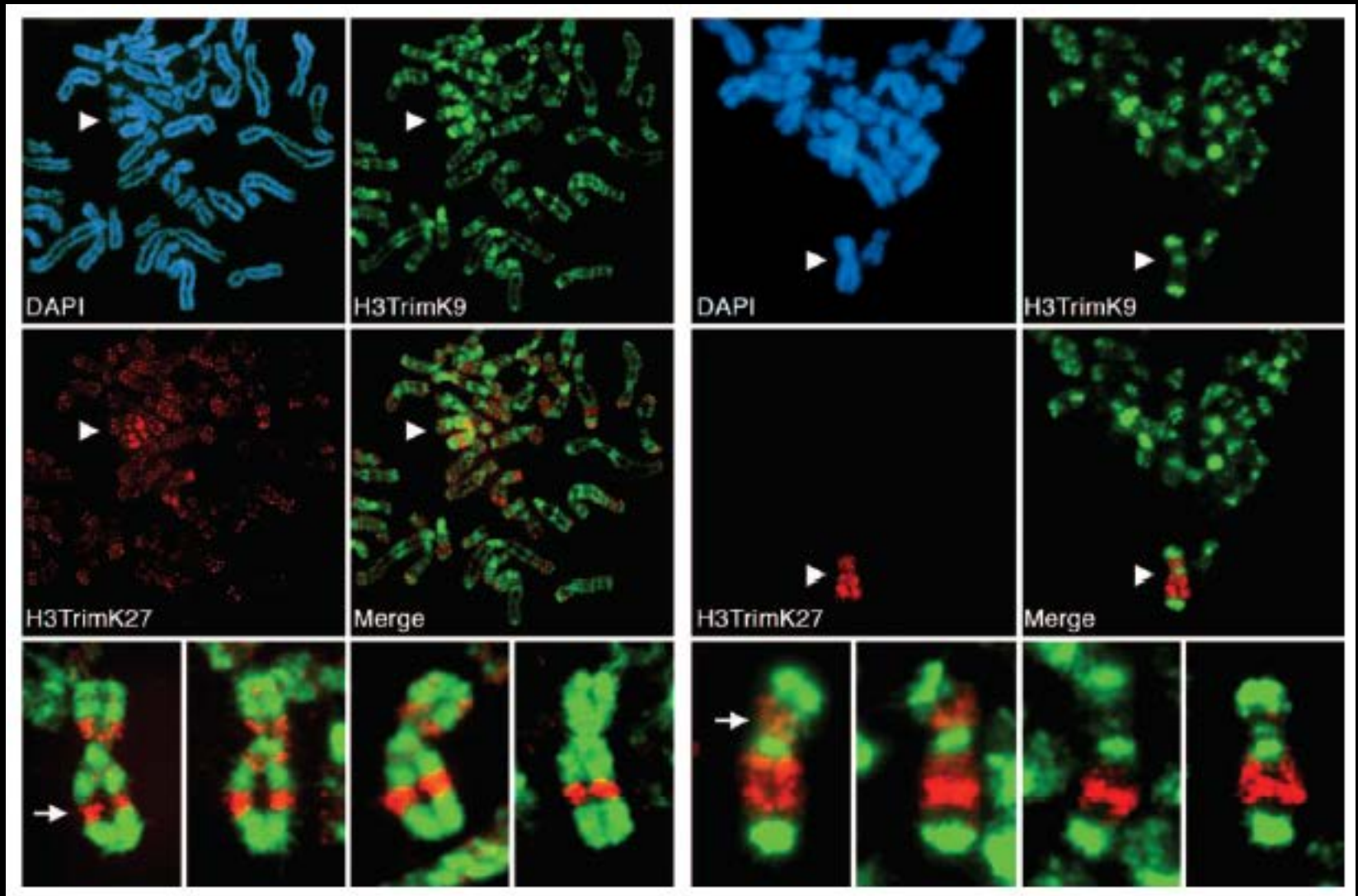


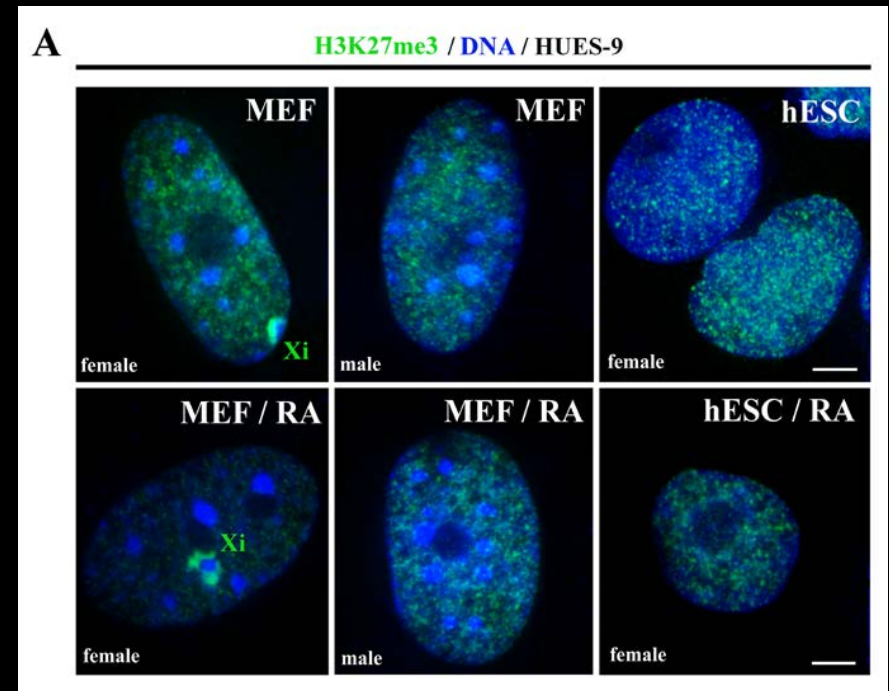
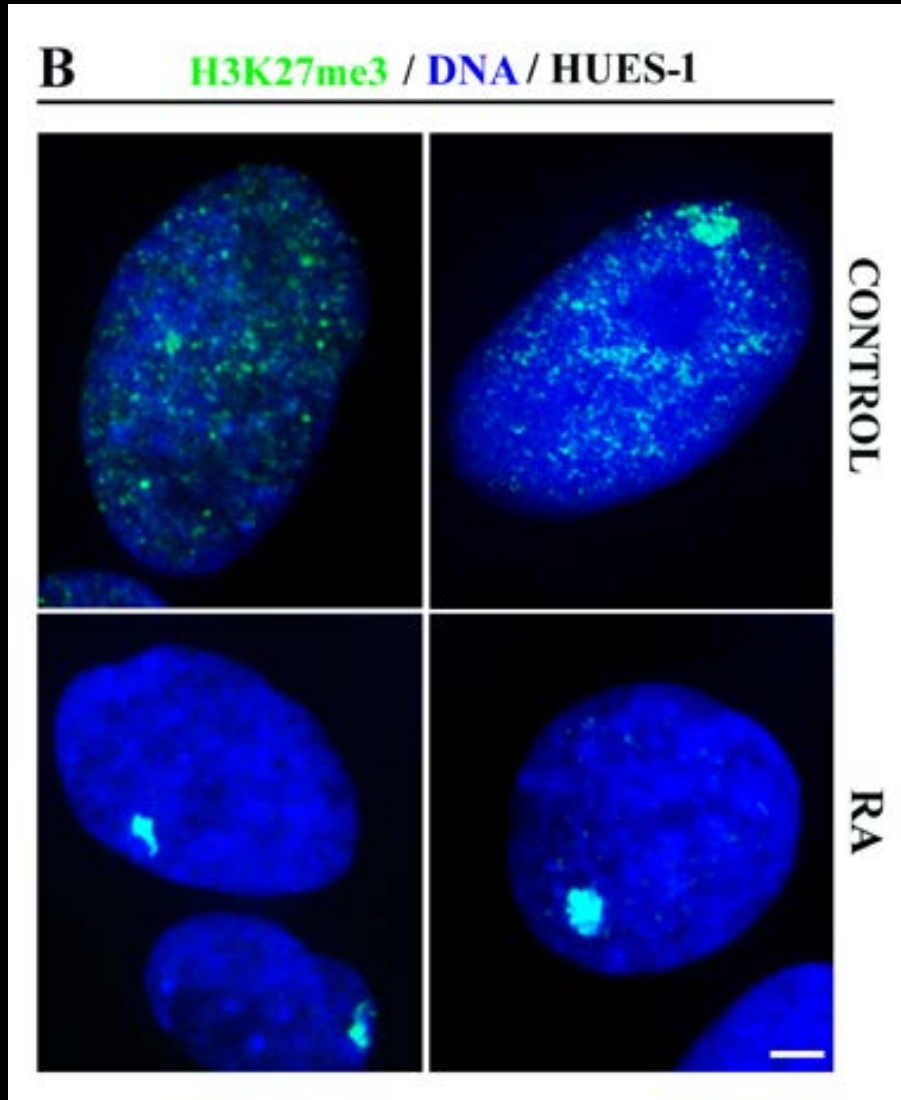
Fig. 4. Schematic model showing how heterochromatin of the Xi could transition between metaphase and interphase to be organized into the two nonoverlapping heterochromatin territories and to explain how XIST RNA could rapidly spread in cis outward from the X inactivation center (XIC) along only part of the Xi. See main text for details.



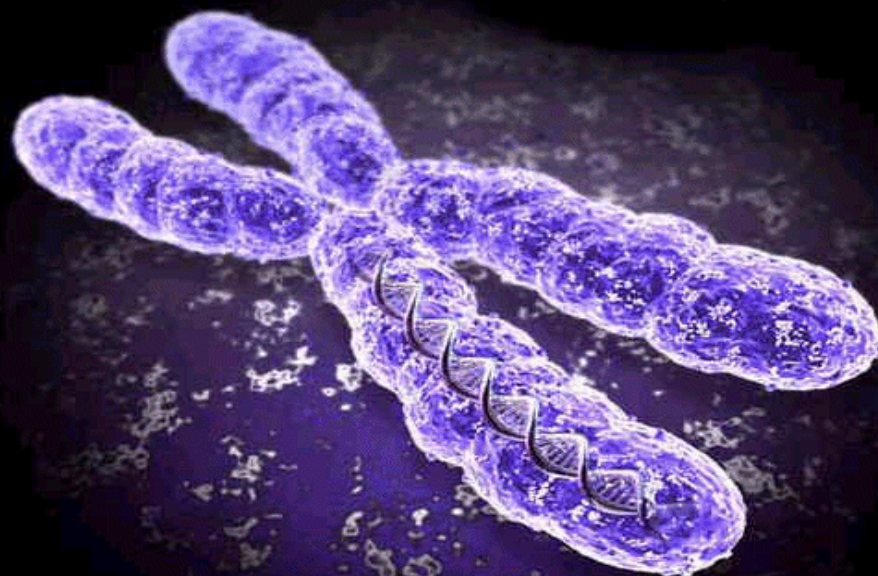
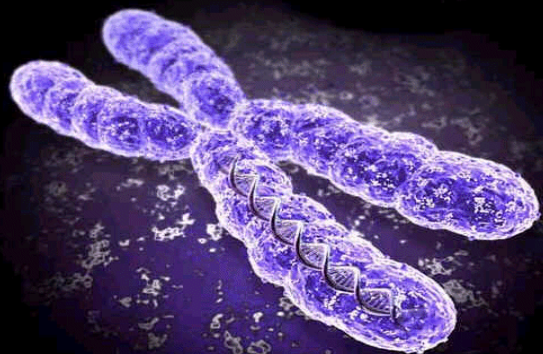
Inaktivace X chromosomu ve vztahu k epigenetickým modifikacím



Inactivation of X chromosome in hESCs in comparison to MEFs



Bártová et al. (2008)



Epigenetika: Reverzibilní procesy v chromatinu, které jsou z velké části dědičné, ale mohou nastat i v důsledku vlivů prostředí (nebo vlivem epi-diety), což se většinou projevuje změnami v procesech probíhajících v buněčném jádře. Nedochozí však ke změnám v sekvenci DNA.

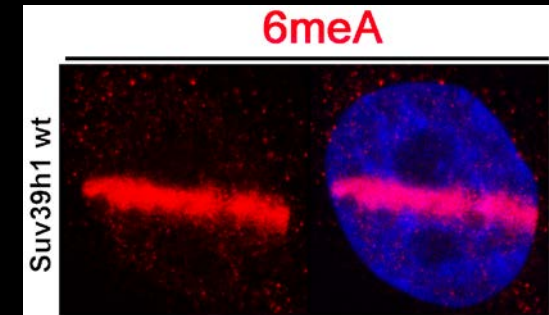
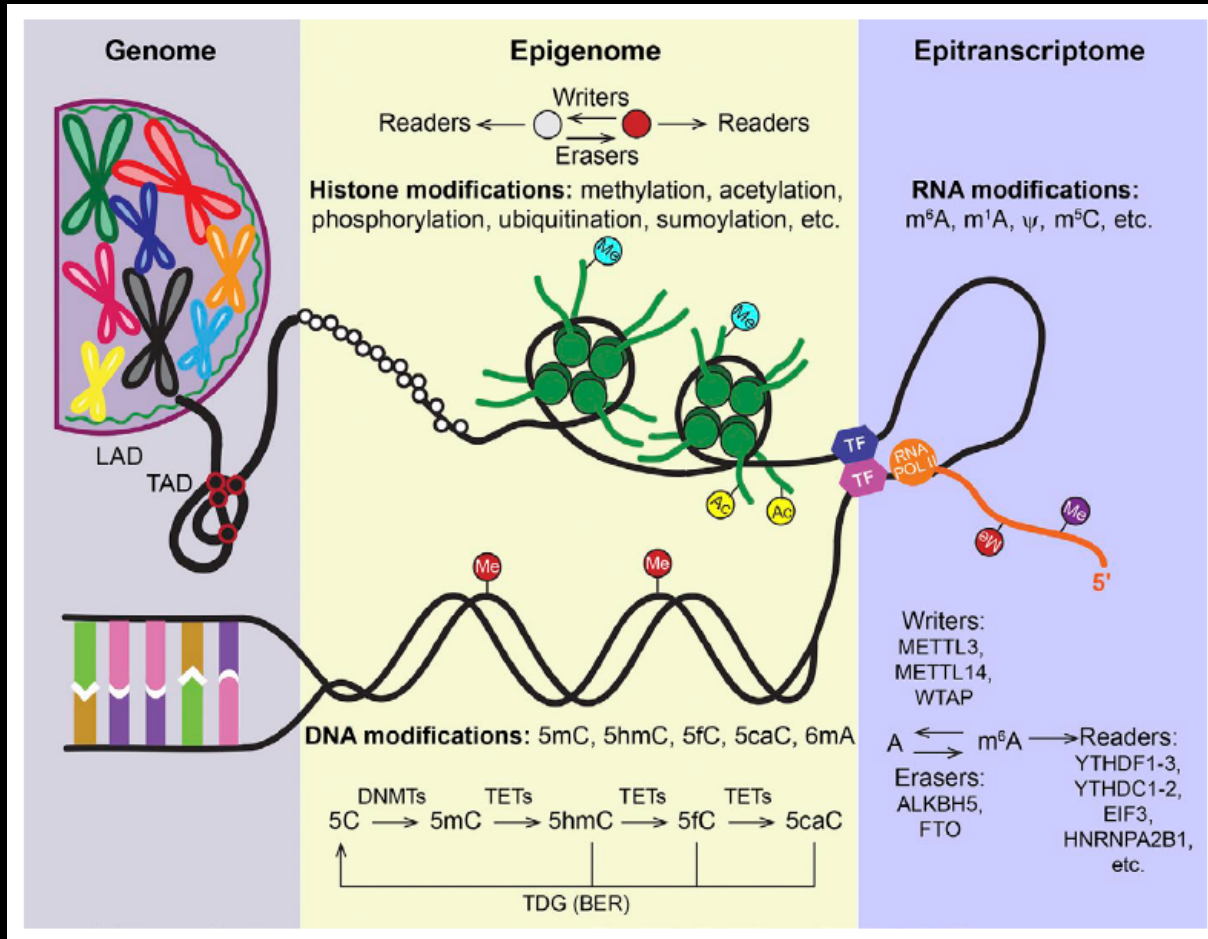
Tyto děje se odráží ve fenotypu organismu.

Epi-dieta - nutrigenetika kombinuje molekulární genetiku s vědou o zdravé výživě.

Nutridieta (epi-dieta): Nově se rozšiřuje poznání v oblasti epigenetiky a zde je důležité zjištění, že vlivy vnějšího prostředí, jako např. výživa, mohou zásadním způsobem změnit aktivitu genů řídících činnost mozku nebo diferenciaci střevních buněk. Je to obecně považováno za jeden z největších objevů ve výzkumu za posledních deset let.

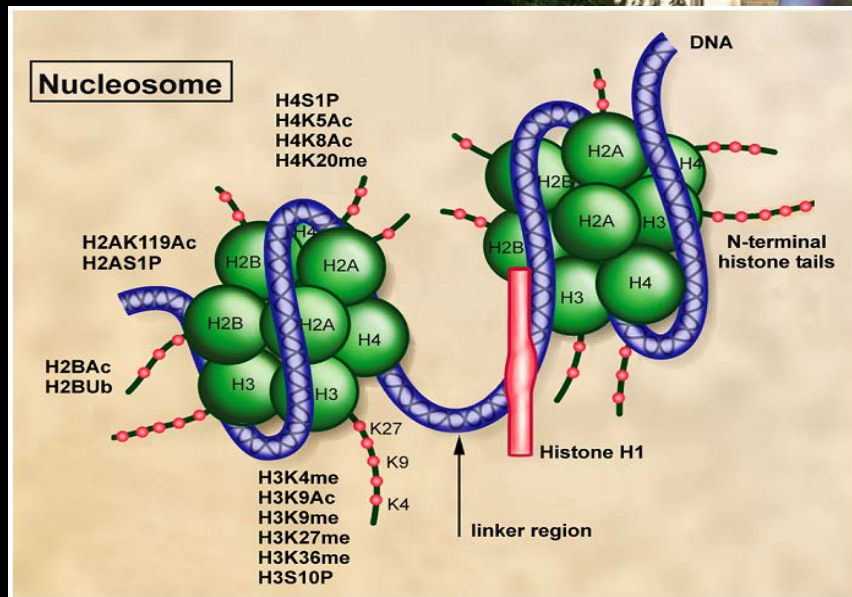
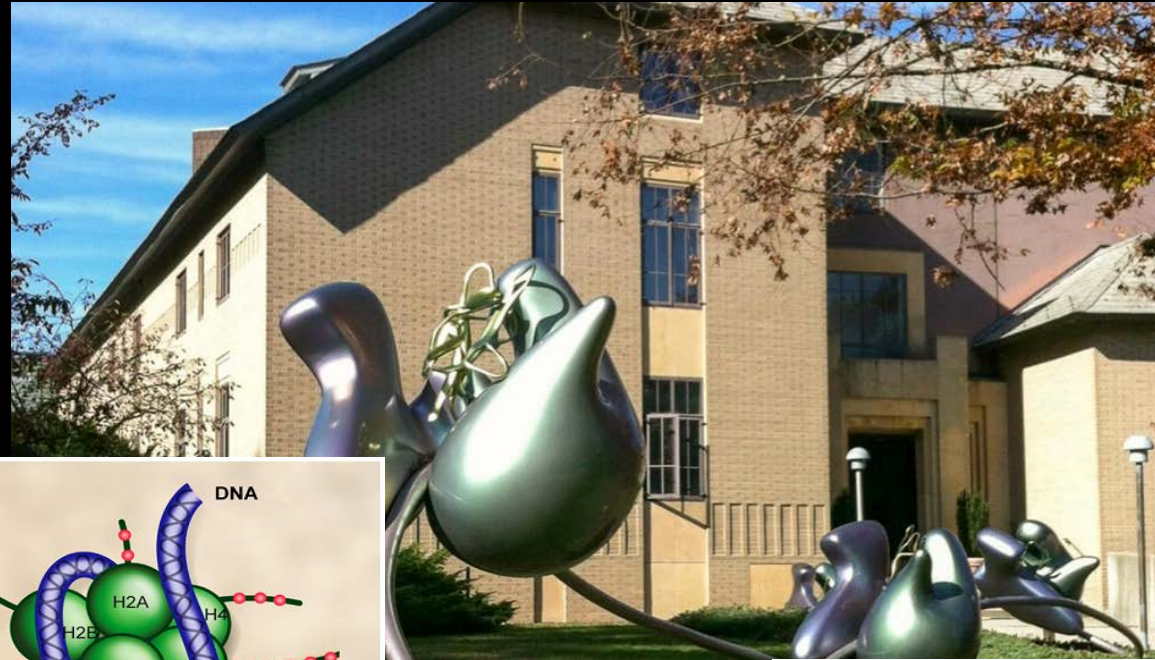
Například kurkumin (nebo látky na bázi HDAC inhibitorů v potravě) nedokáže přímo ovlivnit DNA, ale může ovlivnit genom prostřednictvím zjištěných epigenetických mechanismů, jako je metylace DNA, acetylace, nebo další modifikace histonů, změny v miRNA, a tím ovlivní, který gen se projeví a který nikoliv.

Co označujeme za epigenetické faktory



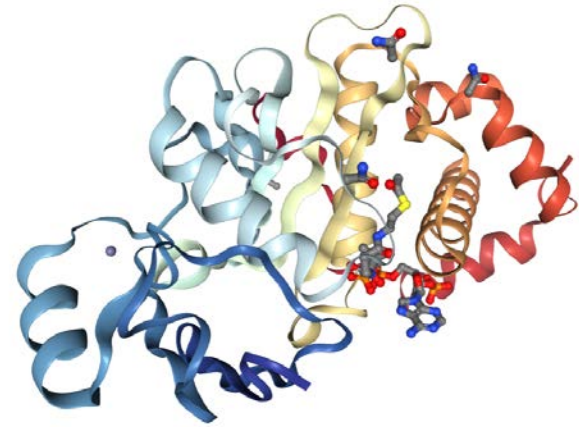
Joon et al., J. Cell Biol. (2018)

- Nomenklatura **modifikací histonů**: Brno nomenclature for histone modifications (Turner, 2005)
- Definice epigenetiky: Cold Spring Harbor Laboratories (CSHL) (2008)



Acetylace histonů je katalyzována histon acetyltransferázami (HATs). K deacetylaci histonů dochází za účasti histon deacetyláz (HDACs). HDACs odstraní acetylskupinu, která je nahrazena methyl skupinou za účasti HMTs (Suv39H1-human, Clr4 – S.pombe)

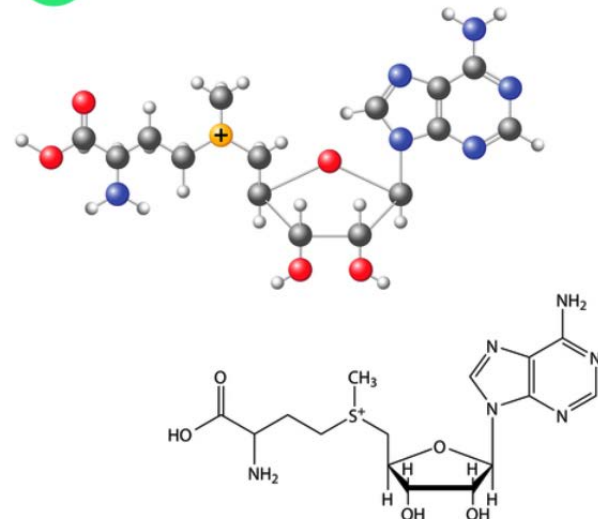
2004: Objev demethylace histonů za účasti aminové oxidasy LSD1 (KIAA0601) (Shi et al., Cell 2004). LSD1 specificky demethyluje H3 (K4), epigenetickou modifikaci zodpovědnou za transkripční aktivitu.



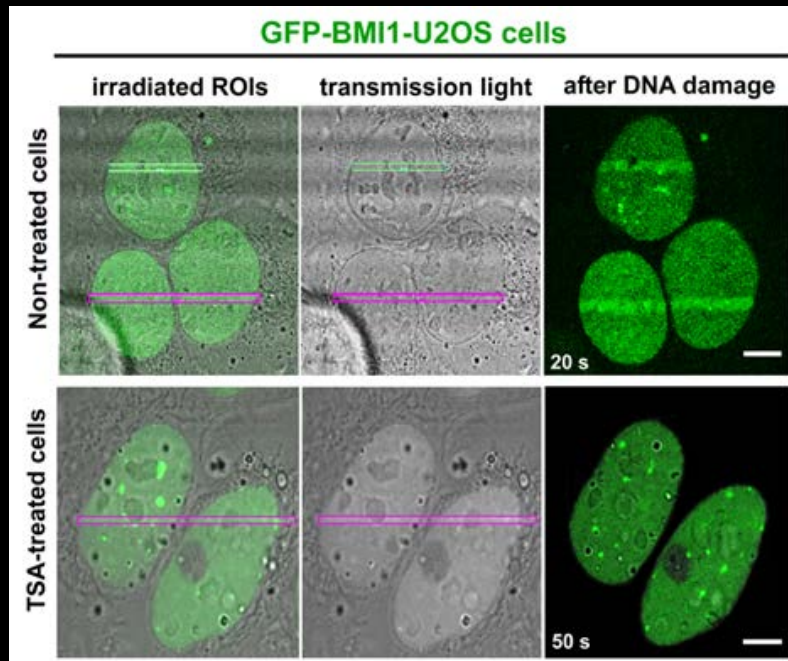
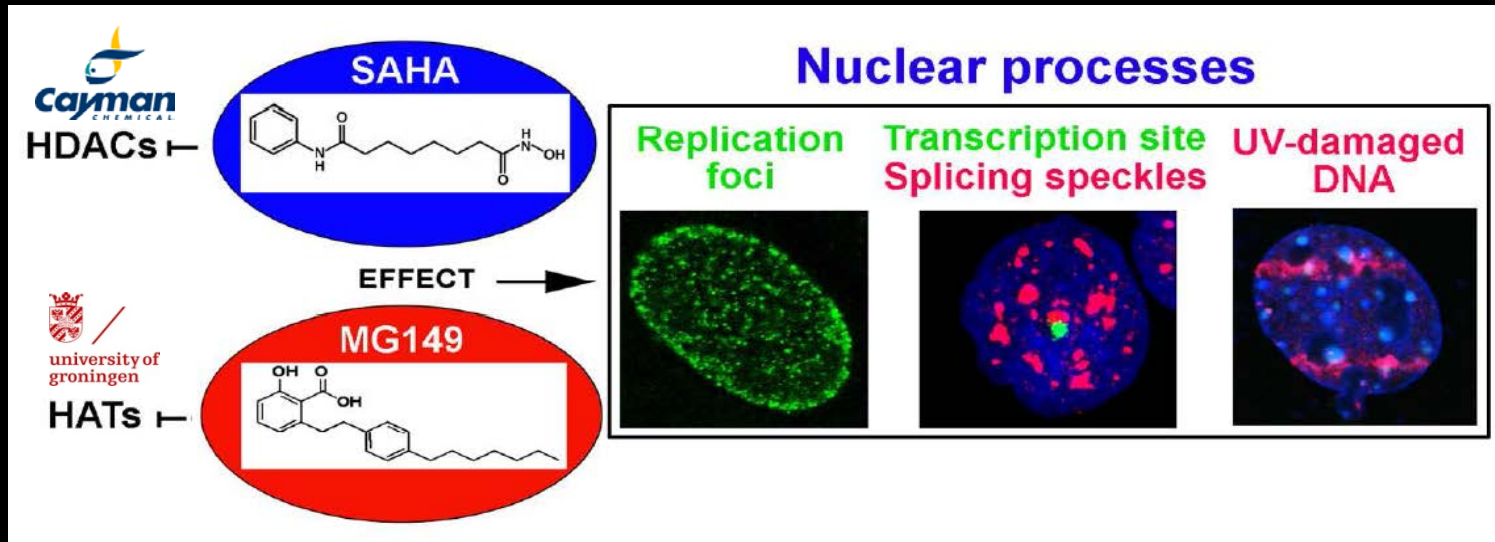
Crystal structure of human MYST histone acetyltransferase 3 in complex with acetylcoenzyme A (Wu, et al. PDB database)



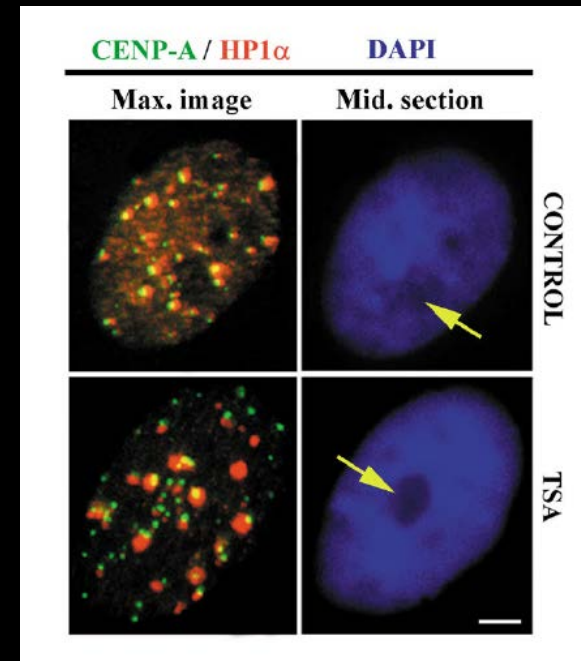
S-Adenosyl methionine



Inhibition of HATs and HDACs

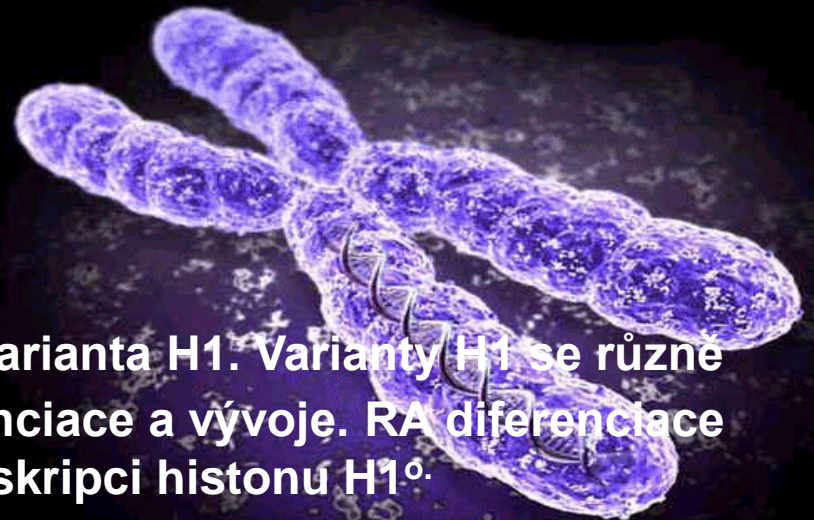


Šustáčková et al. (2012)



Bártová et al. (2005)

Varianty histonů

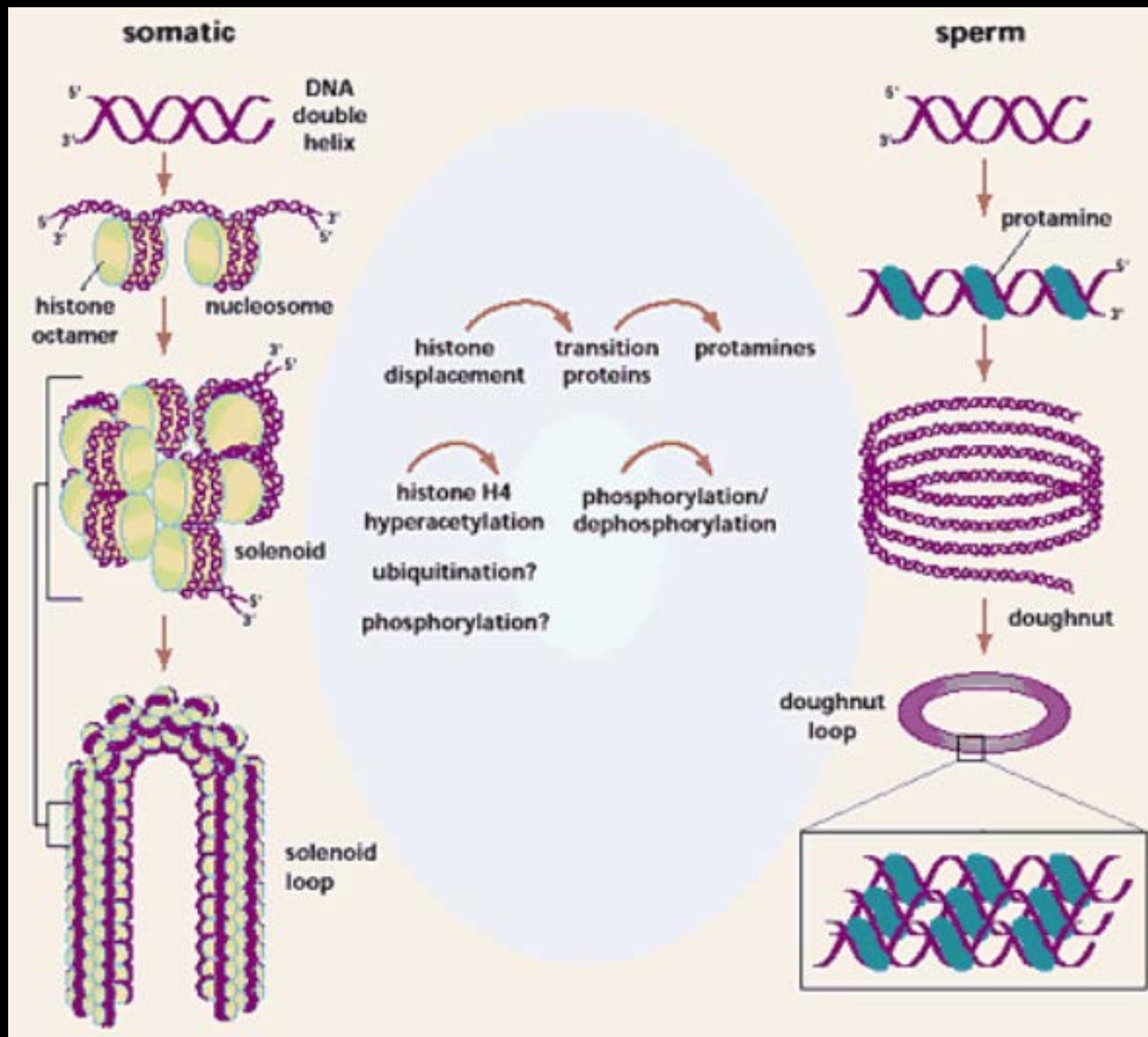


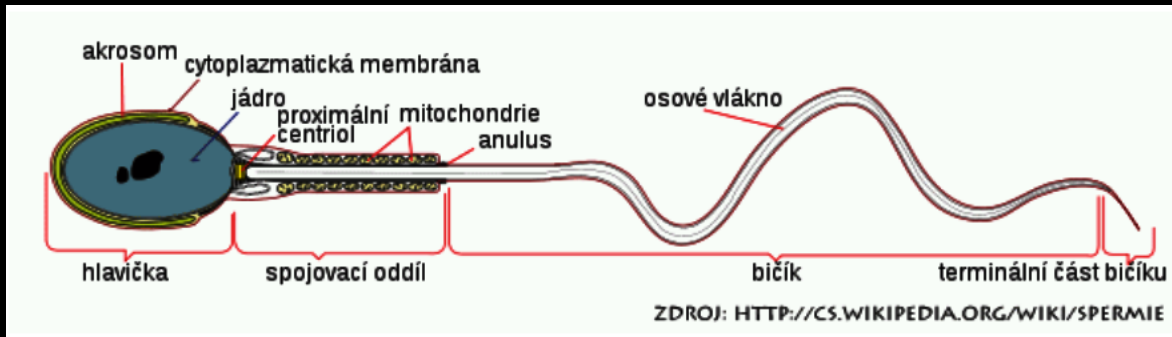
H1: varianty H1^o, H5 a testis-specific varianta H1. Varianty H1 se různě uplatňují během buněčného cyklu, diferenciace a vývoje. RA diferenciace myších F9 je doprovázena zvýšenou transkripcí histonů H1^o.

H2A: H2A.X, H2A.Z, MacroH2A, H2A-Bbd, H2AvD, H2A.X. varianta H2A.Z je konzervativní během evoluce. Macro H2A se vyskytuje u Xi, zatímco H2A-Bbd u Xa chromosomu a autosomů. H2A.Z se vyskytuje v intergenických oblastech.

H2B: nemá varianty, uplatňuje se při regulaci kondenzace chromatinu, represi transkripce a během gametogeneze, H2B je zodpovědný za uspořádání chromatinu u spermií.

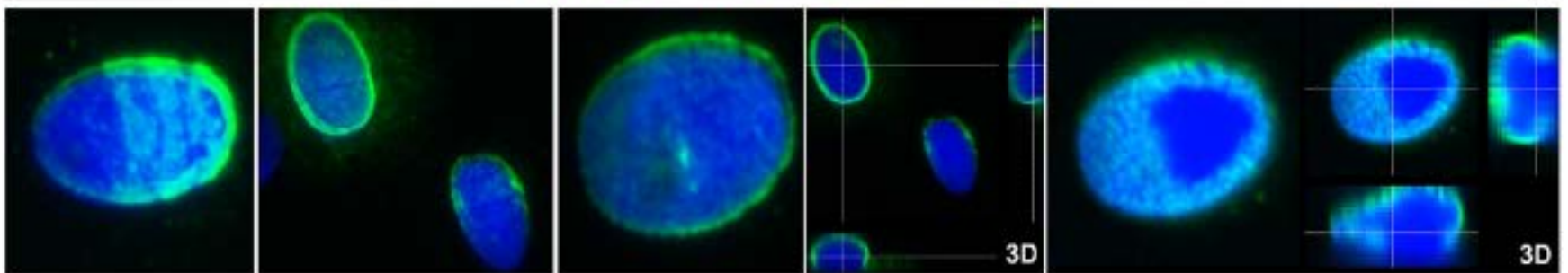
Uspořádání chromatinu u somatických buněk a spermii





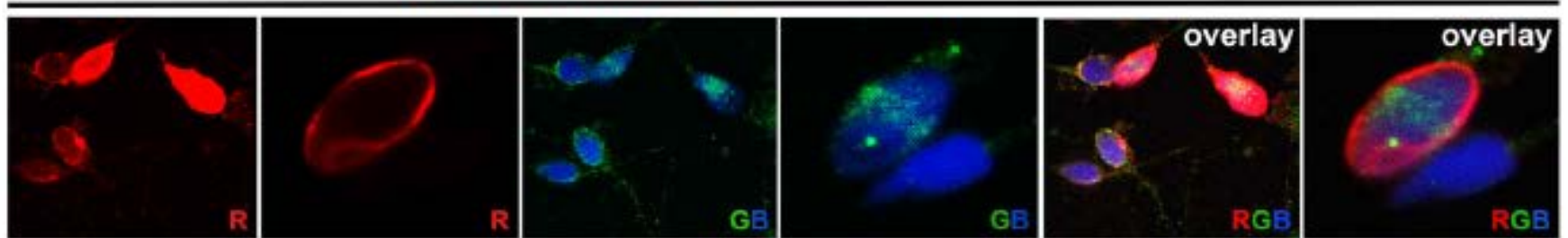
A

protamine P2 / DNA

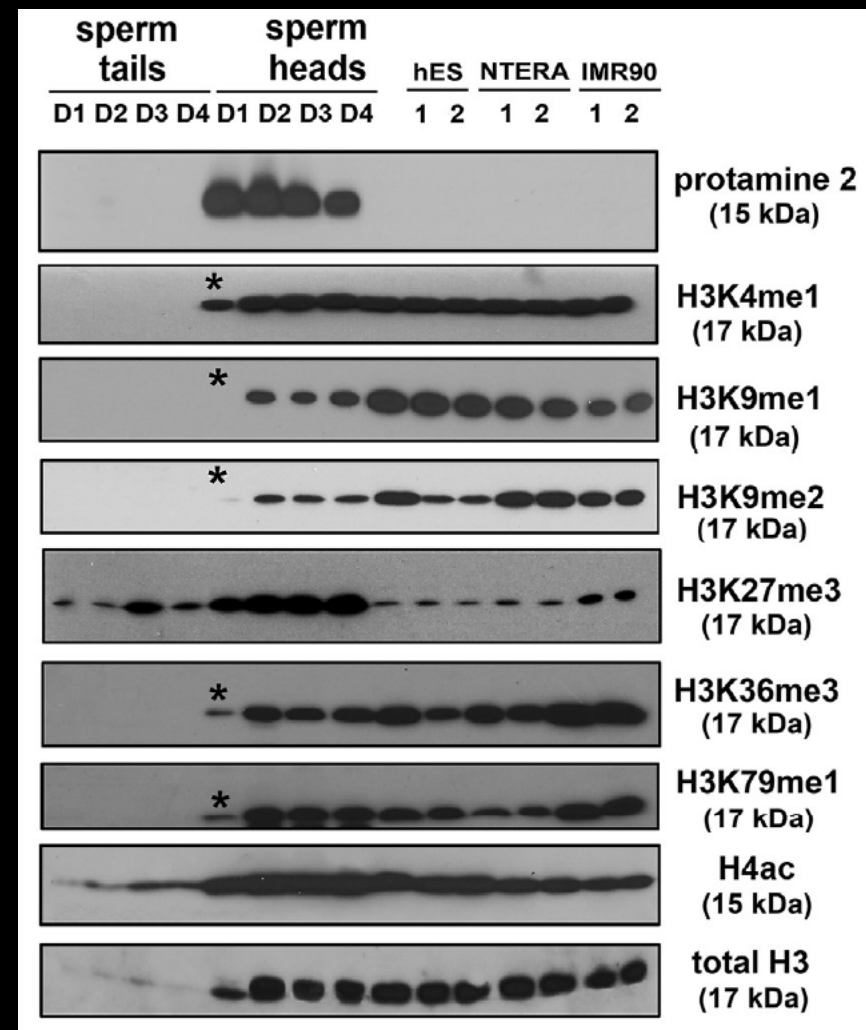
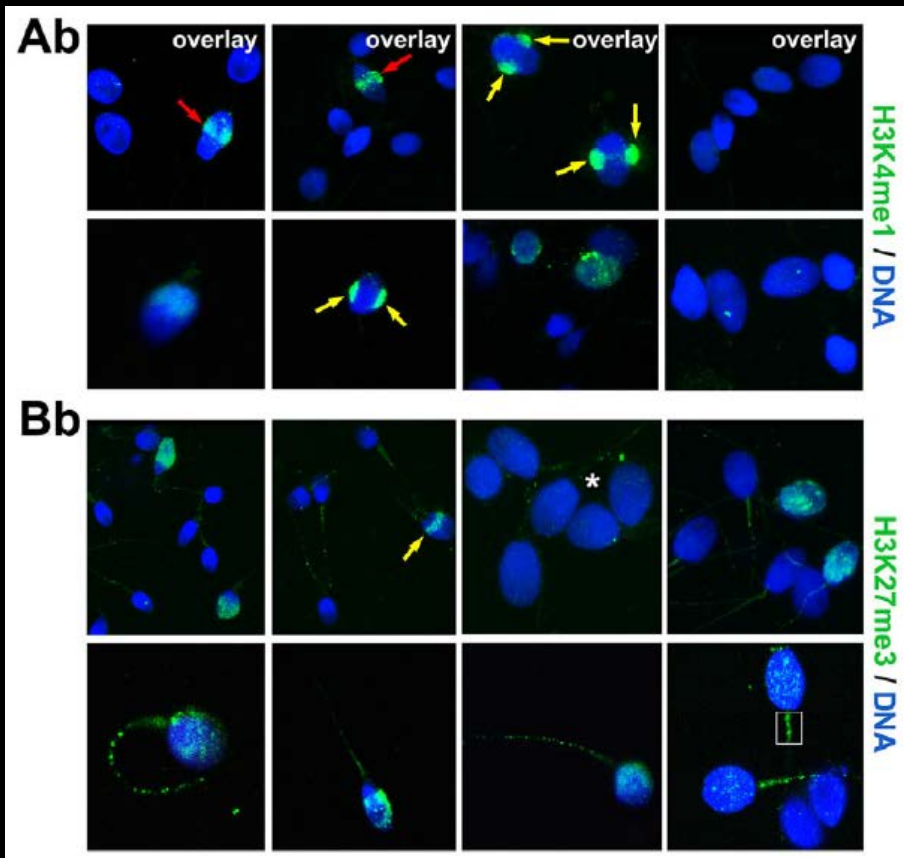


B

protamine P2 / histone H3 / DNA

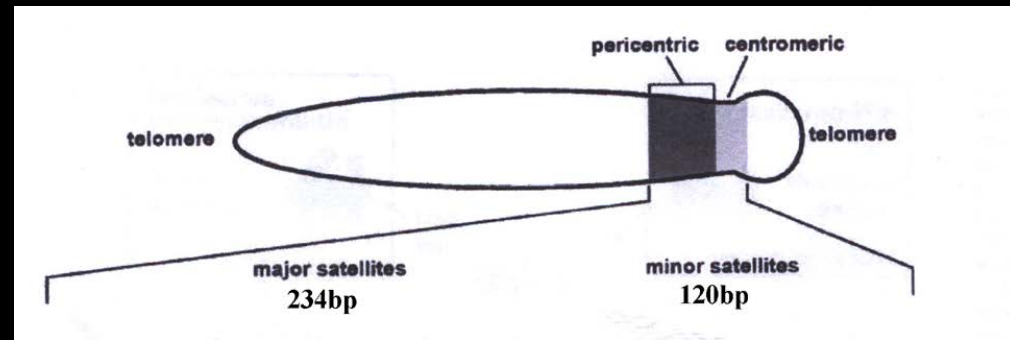
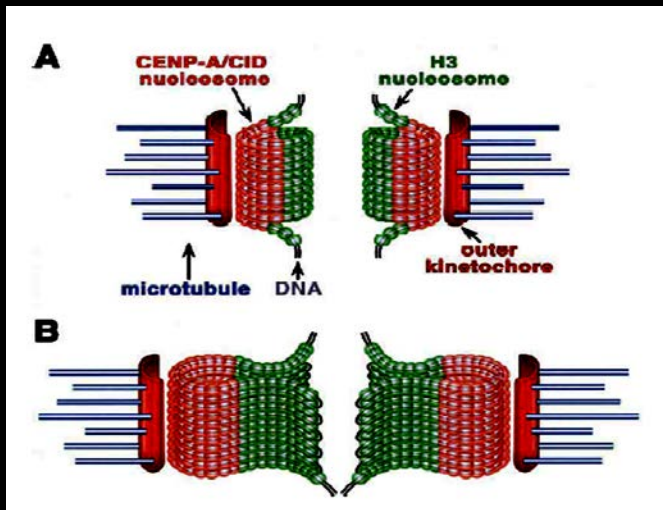


Krejčí et al., (2015)



Krejčí et al. (2015)

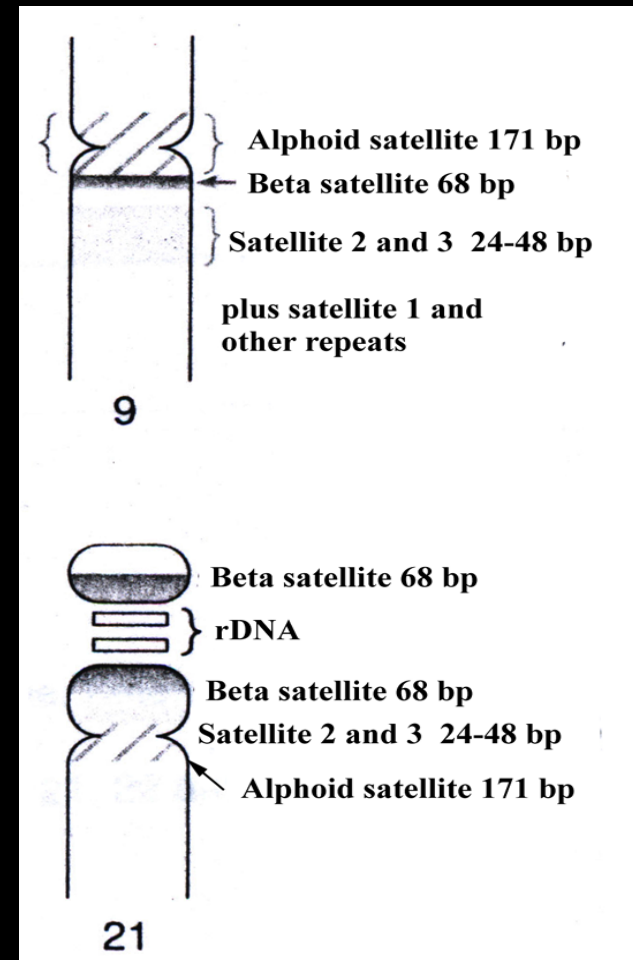




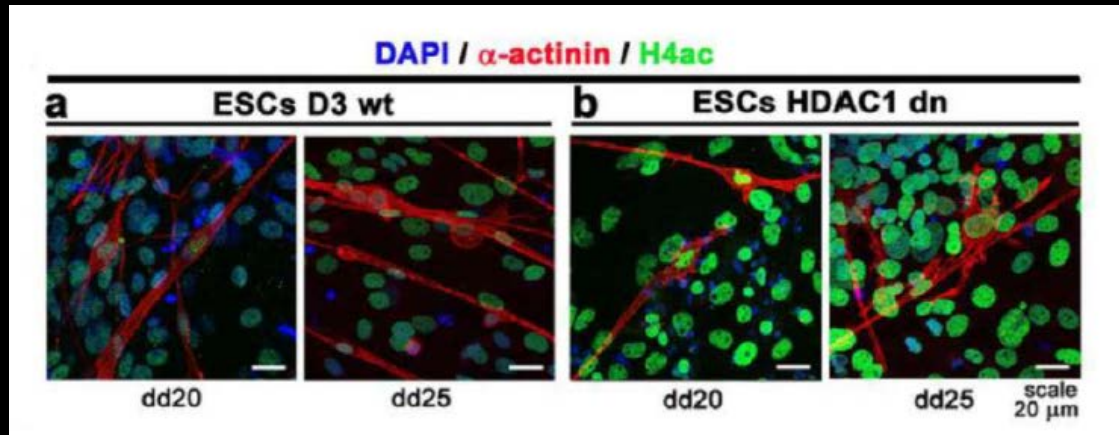
Varianty histonu H3:

H3: existují dvě hlavní varianty H3.3 a centromerické varianty H3 (cenH3) = CENP-A: jsou zodpovědné za vazbu kinetochoru a segregaci sesterských chromatid u eukaryot.

Phosphorylace CENP-A na Ser-7 je nezbytná pro funkci kinetochoru.



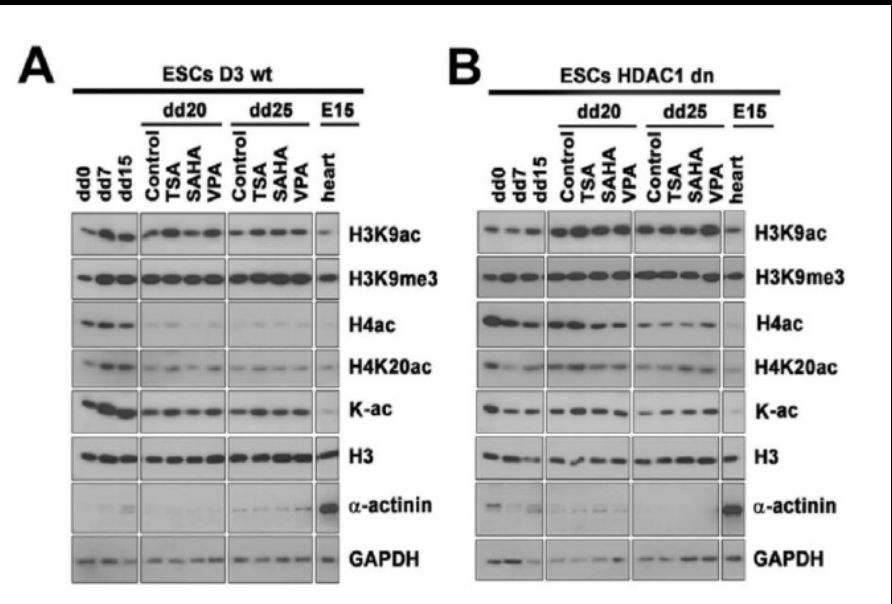
Histon H4

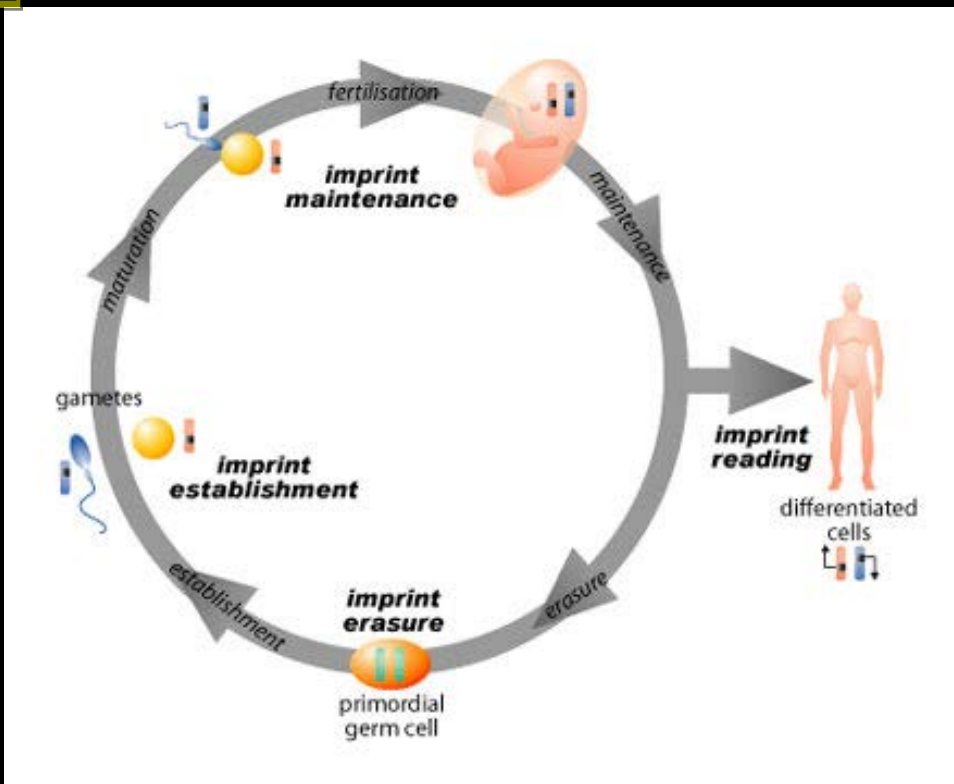


Variety histonů H4: většina genů kódujících hlavní histonové proteiny jsou exprimovány během S fáze buněčného cyklu. V případě H4, geny jsou konstitutivně exprimovány během buněčného cyklu. Pro H4 nejsou známy žádné variety.

Deacetylation of Histone H4 Accompanying Cardiomyogenesis is Weakened in HDAC1-Depleted ES Cells

Orazio Angelo Arcidiacono ^{1,2,†}, Jana Krejčí ^{1,*,†}, Jana Suchánková ¹, and Eva Bártová ^{1,*}





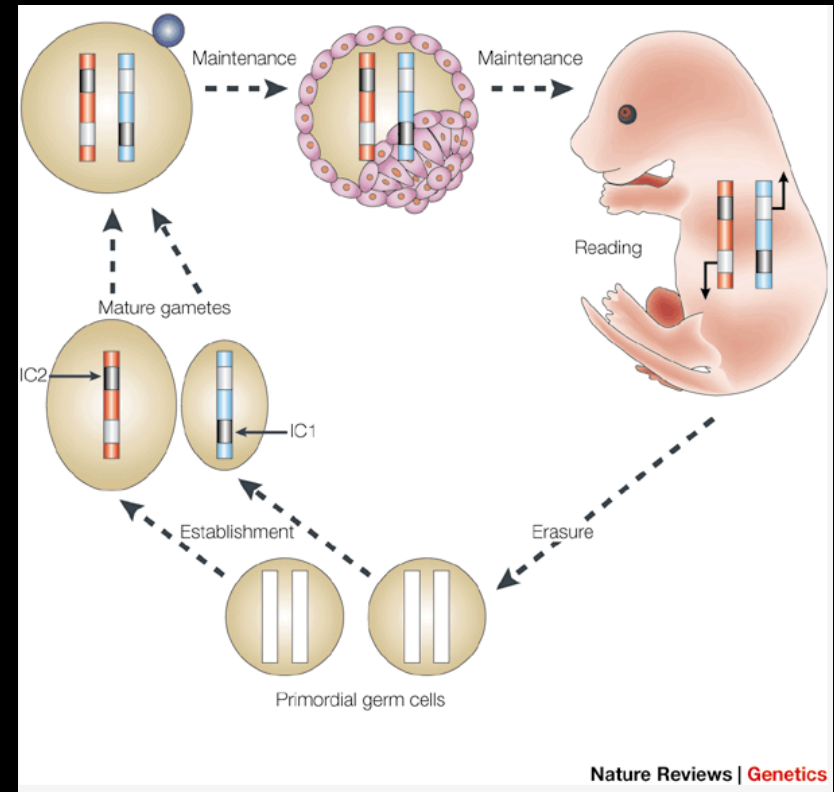
ISSN1471-0056

IMPRINTING

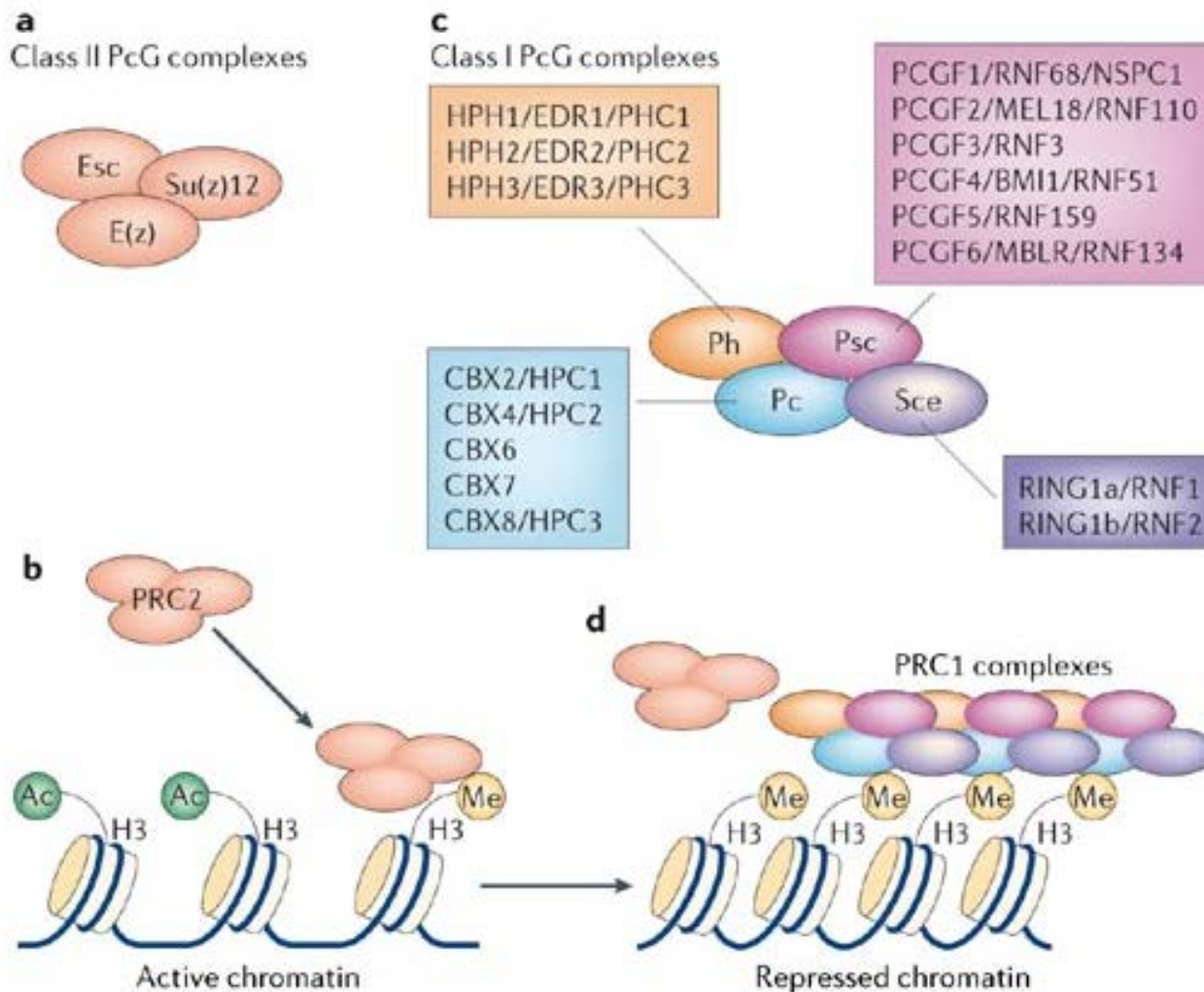
Myší embryo: samičí alela je zamethylována, nevyjadřuje se

Dospělý jedinec: obě alely jsou demethylovány

Gametogeneze: se obnoví původní stav. Platí pro gen IGF II.



Polycomb group proteins



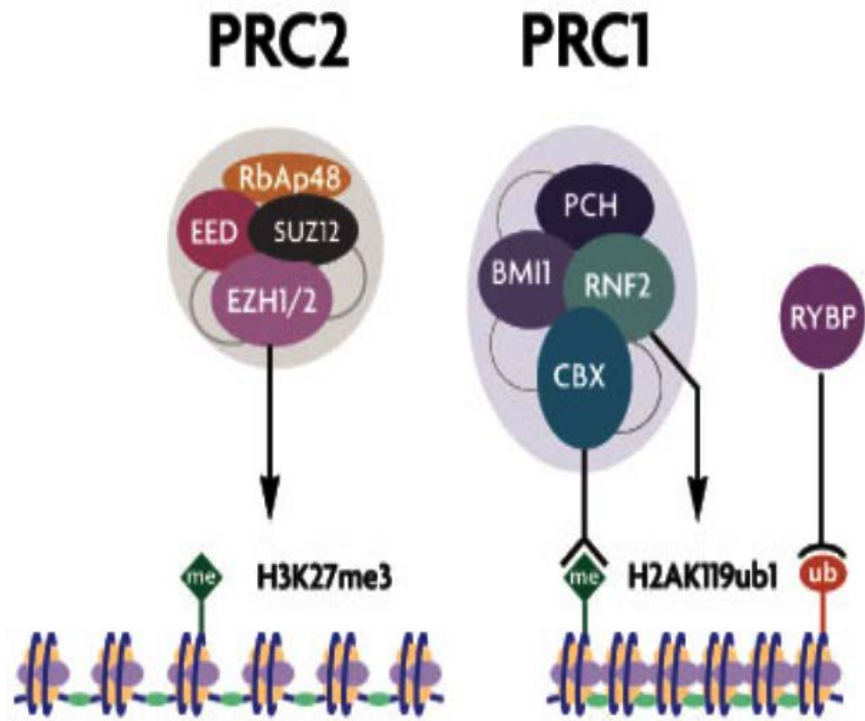
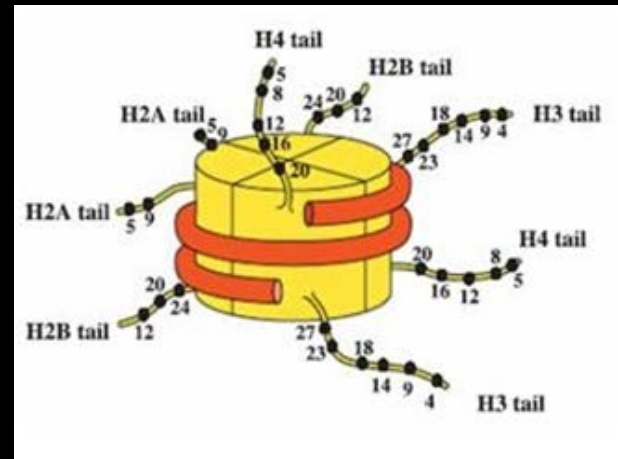


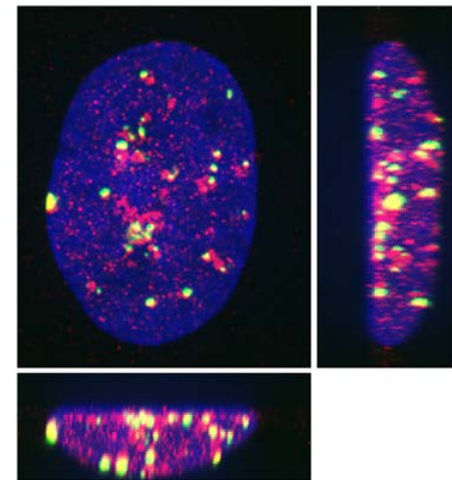
Figure 1: Simplified model of Polycomb Group (PcG)-mediated repression.



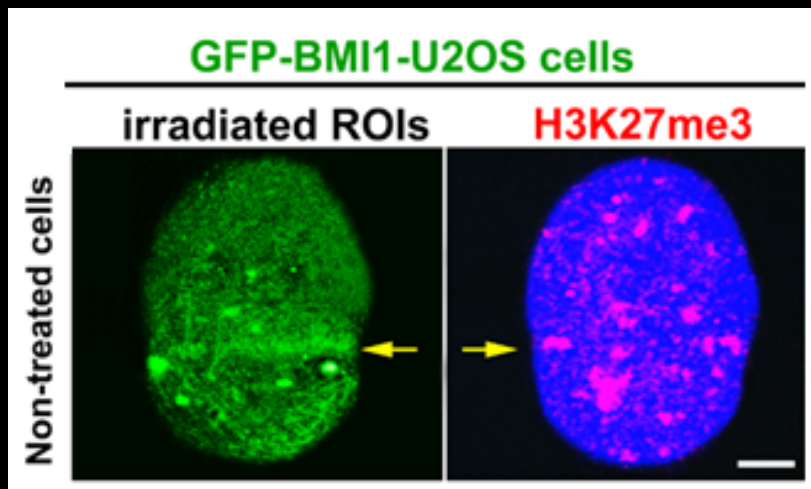
H3K27me3 / BMI1

CONTROL

maximum image

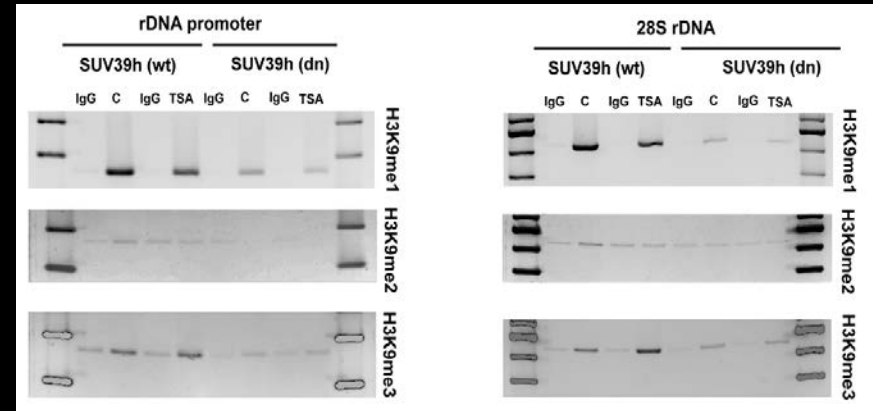
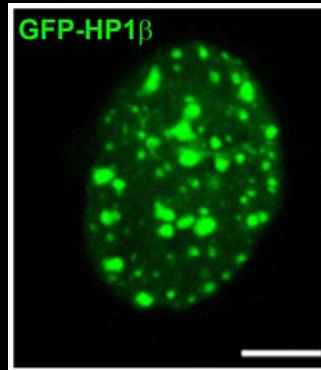


Experiments of Gabriela Šustáčková



Metody vhodné ke studiu histonového kódu

1. imunofluorescence-konfokální mikroskopie
2. GFP-technologie
3. ChIP-PCR
4. ChIP-on-chip



Photoconversion by UV laser
 H4-Dendra2 CPDs / Nucleus

