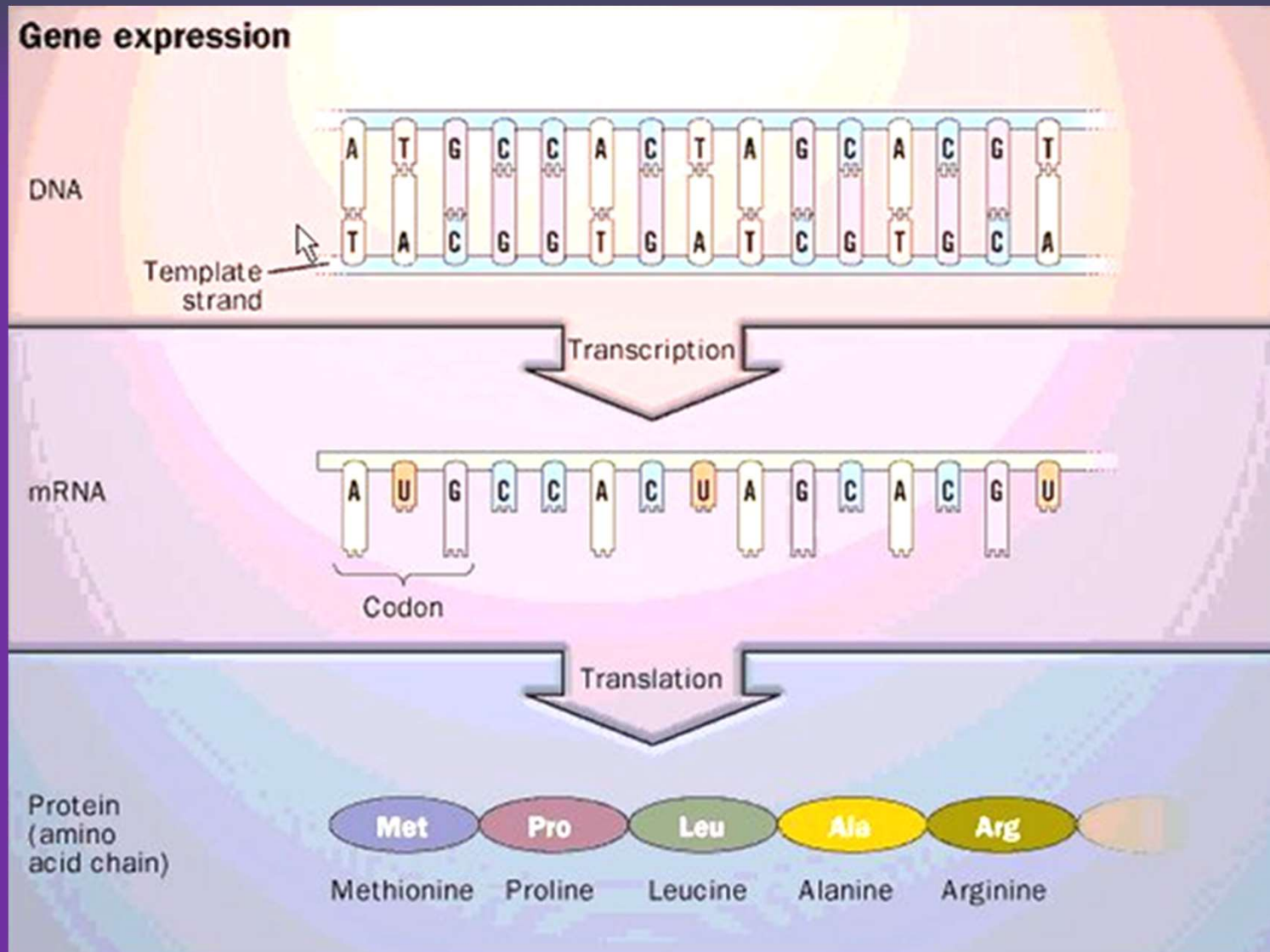


# Regulace exprese lidského genomu

# Genetický kód a tok genetické informace



# Skladba lidského genomu

## *Jaderný genom*

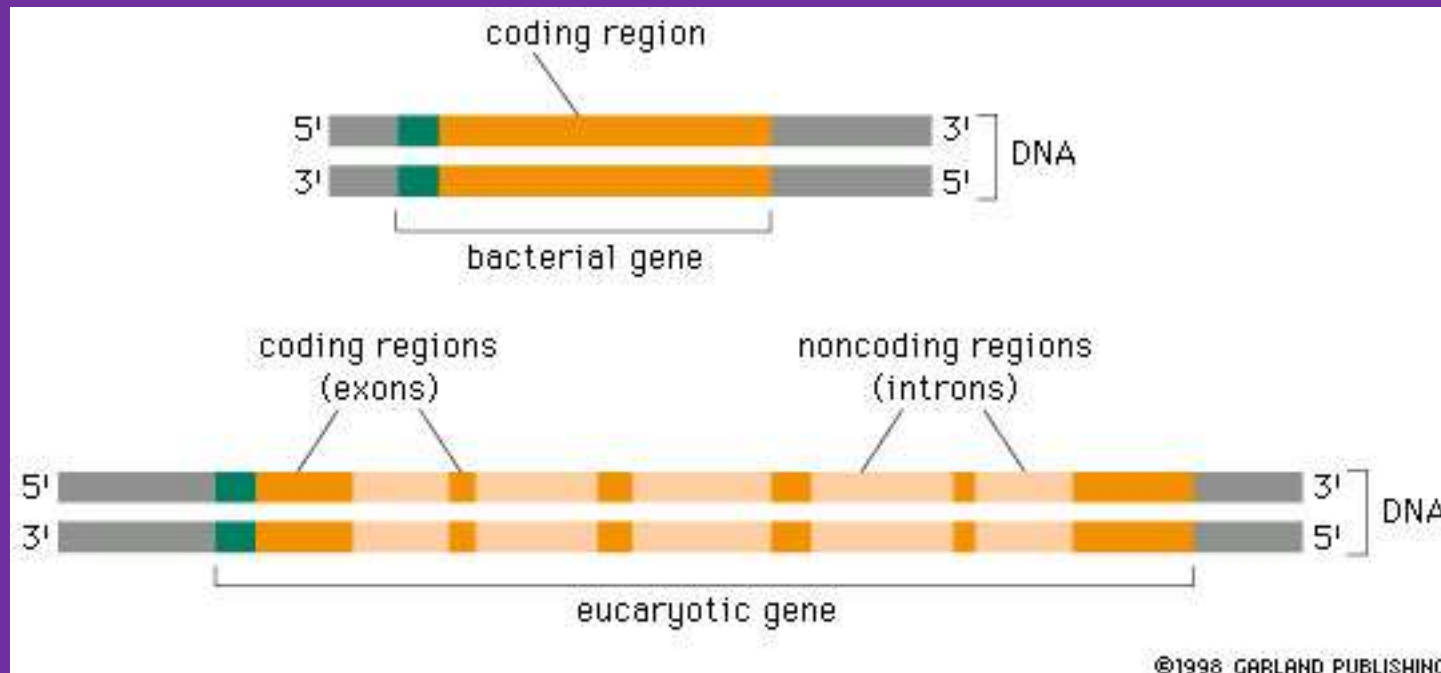
*22 autosomů, 2 pohlavní chr., velikost 50-250 Mb, 35 000 genů*

*Mitochondriální (MCH) genom (Anderson 1981) 14.5 kb, 0.5% celého genomu, dědí se výhradně od matky, při dělení buňky MCH DNA segreguje náhodně, 37 genů – syntéza na MCH ribosomech (vlastní rRNA a tRNA); MCH genom je kompaktní - kódující*

*Repetitivní sekvence (např. Alu sekvence, LINE)  
transpozony*

# Skladba genů u pro- a eukaryot

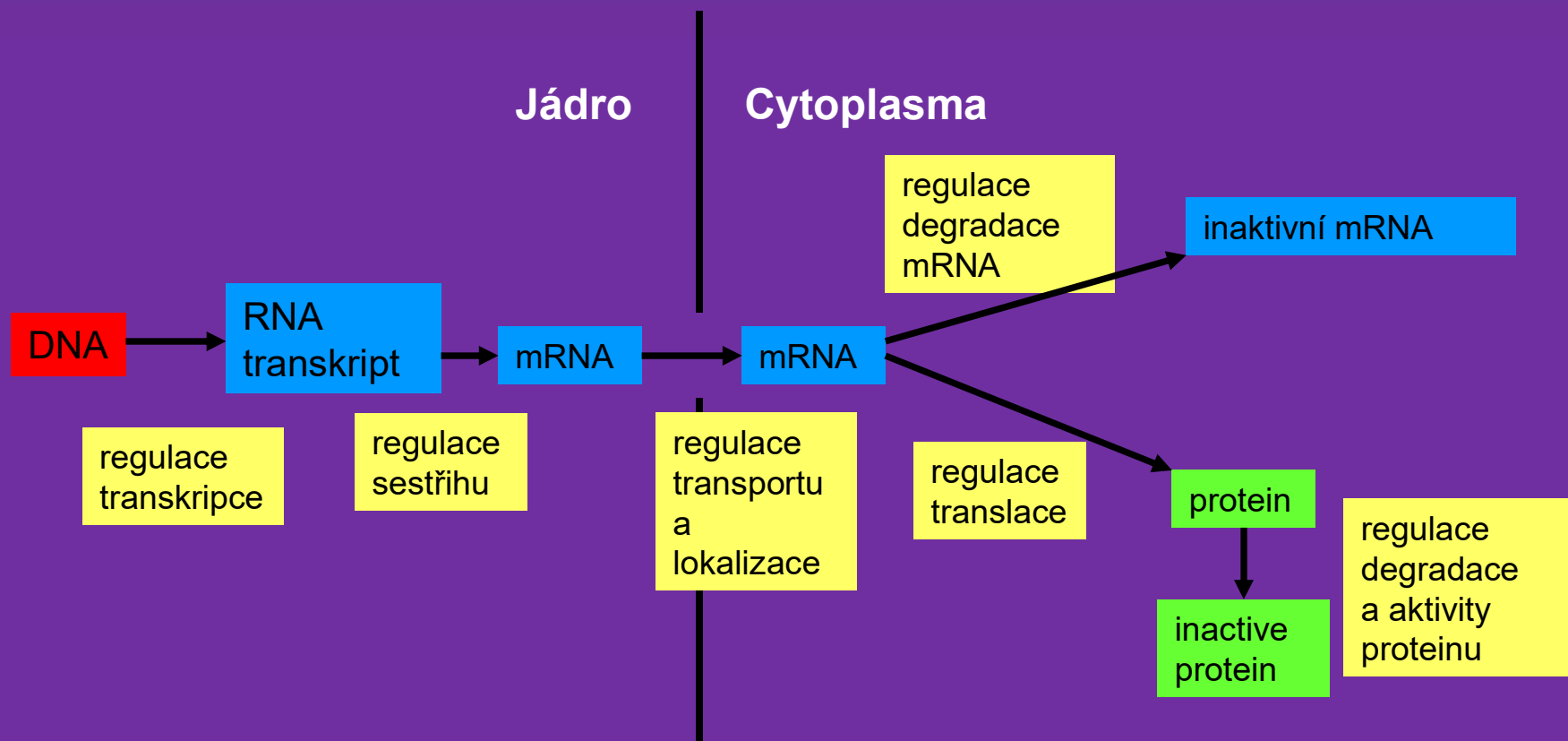
*Genom eukaryot obsahuje mezi kodujícími sekvencemi řadu nekódujících oblastí - intronů*



**Geny** : prům. velikost 10-15 kb ale variabilní od stovek bp- Mb (tRNA – Dys); exony činí od 100% až po 0.6% (Dys)

**Introny** jsou velmi variabilní: 0-118 na gen (u colagenu); délka 0.5 kb pro  $\beta$ -globin až po 30 kb pro dystrofin

# Možnosti regulace exprese u eukaryot



# Epigenetická regulace exprese

Epigenetika zahrnuje jevy související s dědičnou modifikací struktury a transkripce chromatinu jež navazuje zejména na:

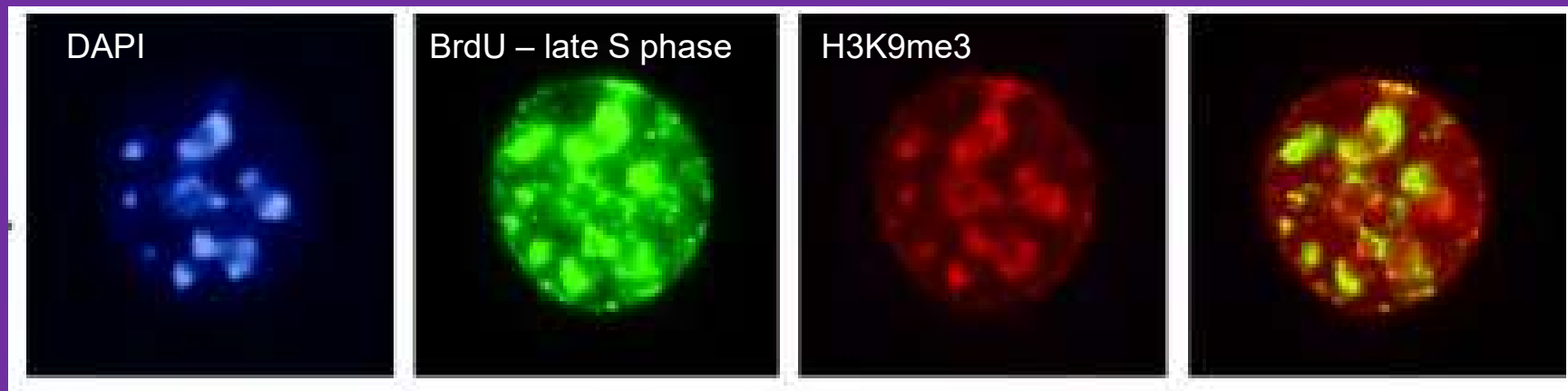
- modifikace histonů
- metylaci DNA
- strukturu chromatinu a genomu

**Patří** zde PEV, umlčování genů heterochromatinem, LCR regulace, regulace vývoje a diferenciací Polycomb and trithorax proteiny, imprinting a další jevy.

**Nepatří** zde vliv vnějších faktorů na expresi buněk.

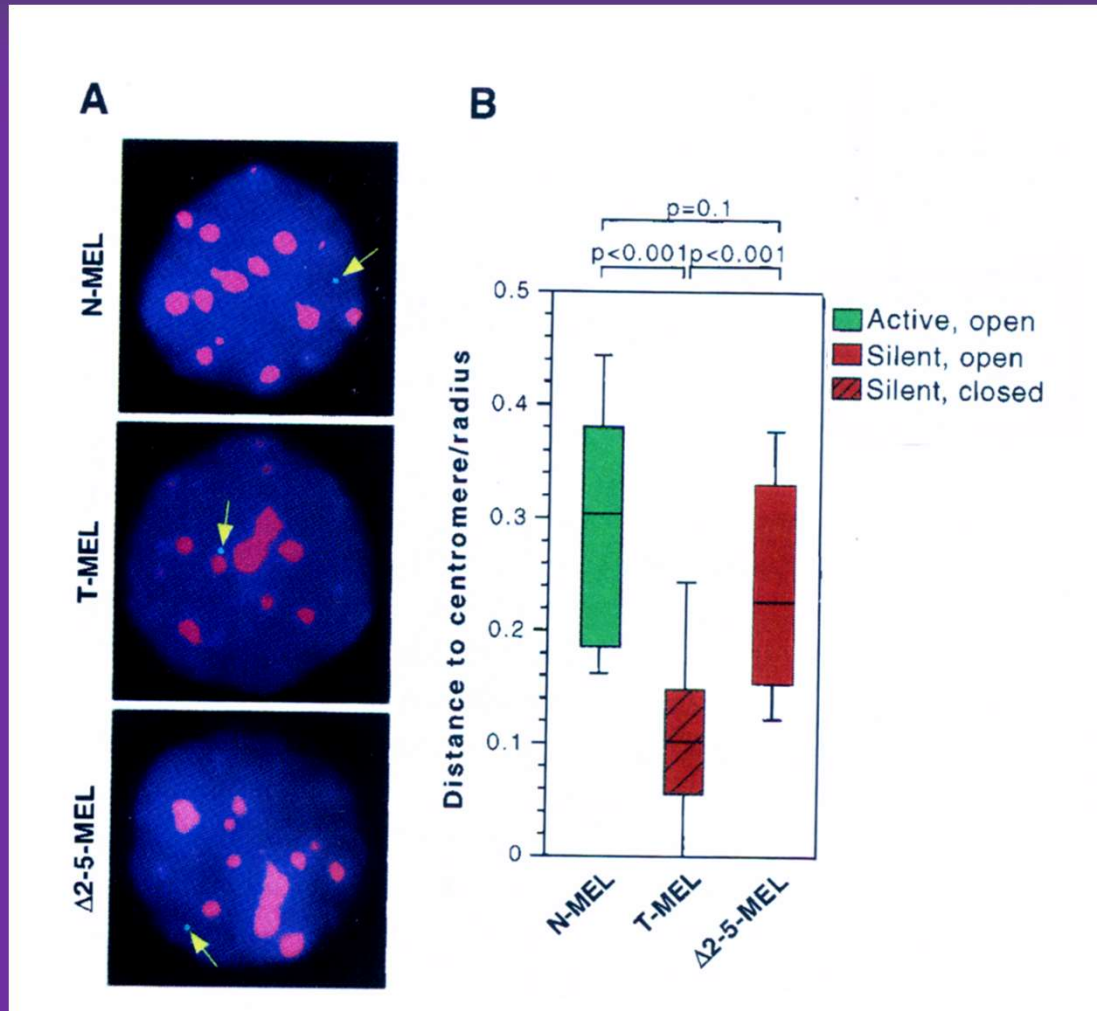
# Úloha heterochromatinu při řízení exprese -PEV

- Heterochromatin** – kondensovaná forma chromatinu po dobu buněčného cyklu
- nachází se hlavně v centromerických a telomerických oblastech
  - je genově málo zastoupený,
  - obsahuje repetitivní sekvence
  - nachází se většinou na okraji buněčného jádra
  - DNA v heterochromatinu je špatně přístupná pro transkripční faktory,
  - histony jsou málo acetylovány a hodně metylovány, například  
na H3-K9
  - obsahuje HP1 protein vázaný na di-/tri-metylovaný H3-K9



# Úloha heterochromatinu při řízení exprese

Dvoustupňová regulace exprese (Francastel et al., 1999)



Měřena vzdálenost genu od nejbližší oblasti heterochromatinu pro 3 typy buněk

T-MEL – exprese umlčená  
gen je blízko heterochromatinu

Struktura se může otevřít  
- dole a k expresi ještě nemusí dojít

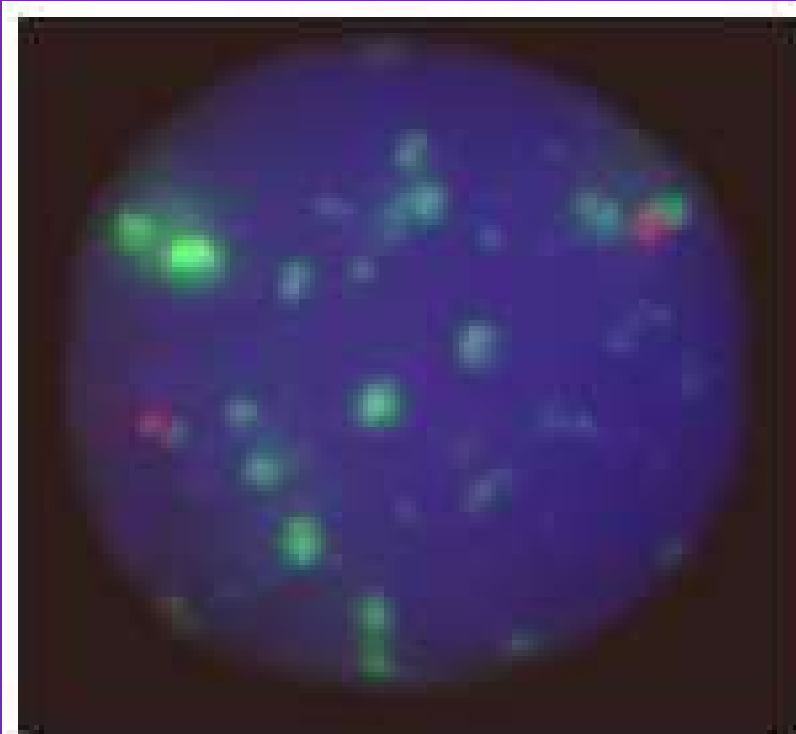
N-MEL – struktura je otevřená, gen je aktivní



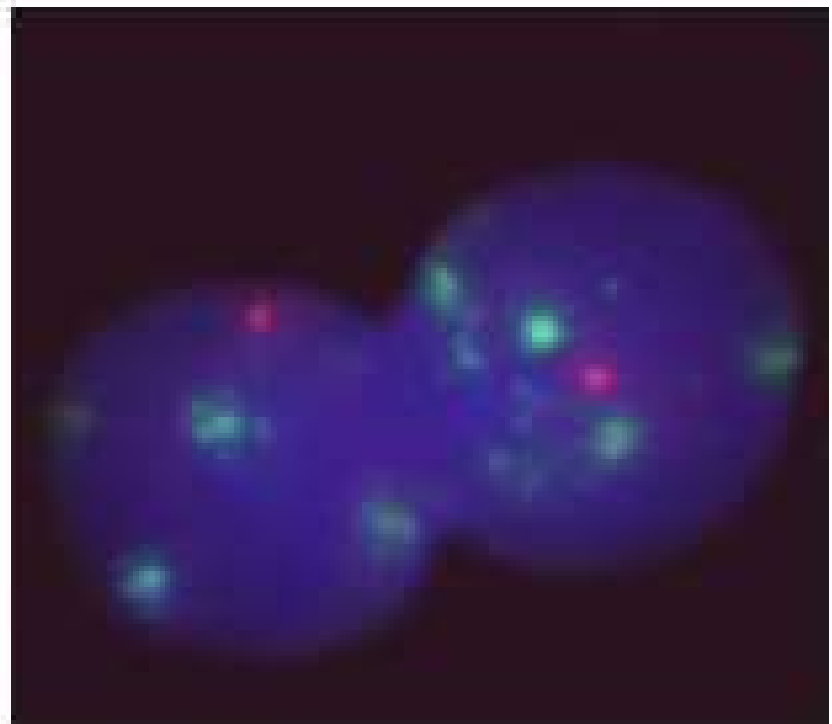
# Úloha heterochromatinu při řízení exprese

Vzdálenost Rb genů k chromocentrum (Bártová et al., 2000)

Buňky HL-60

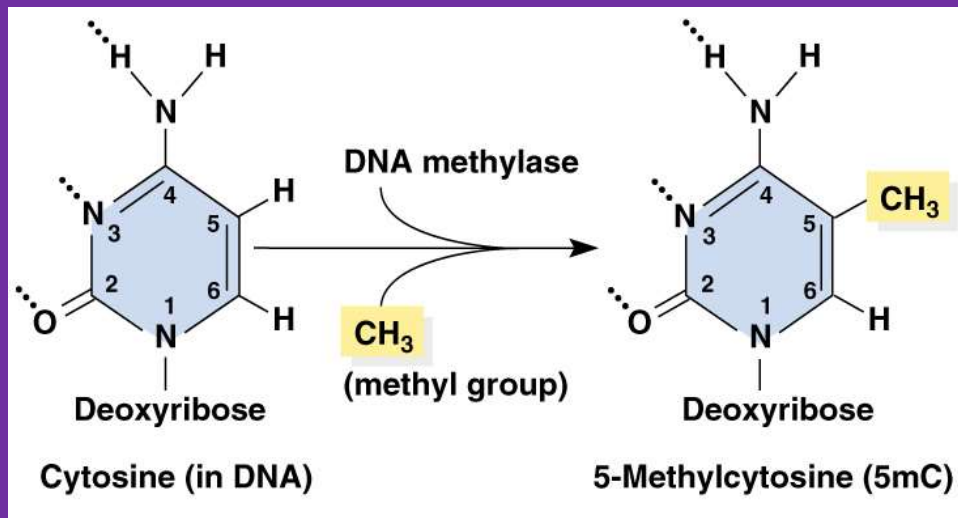


Granulocyty



# Metylace DNA

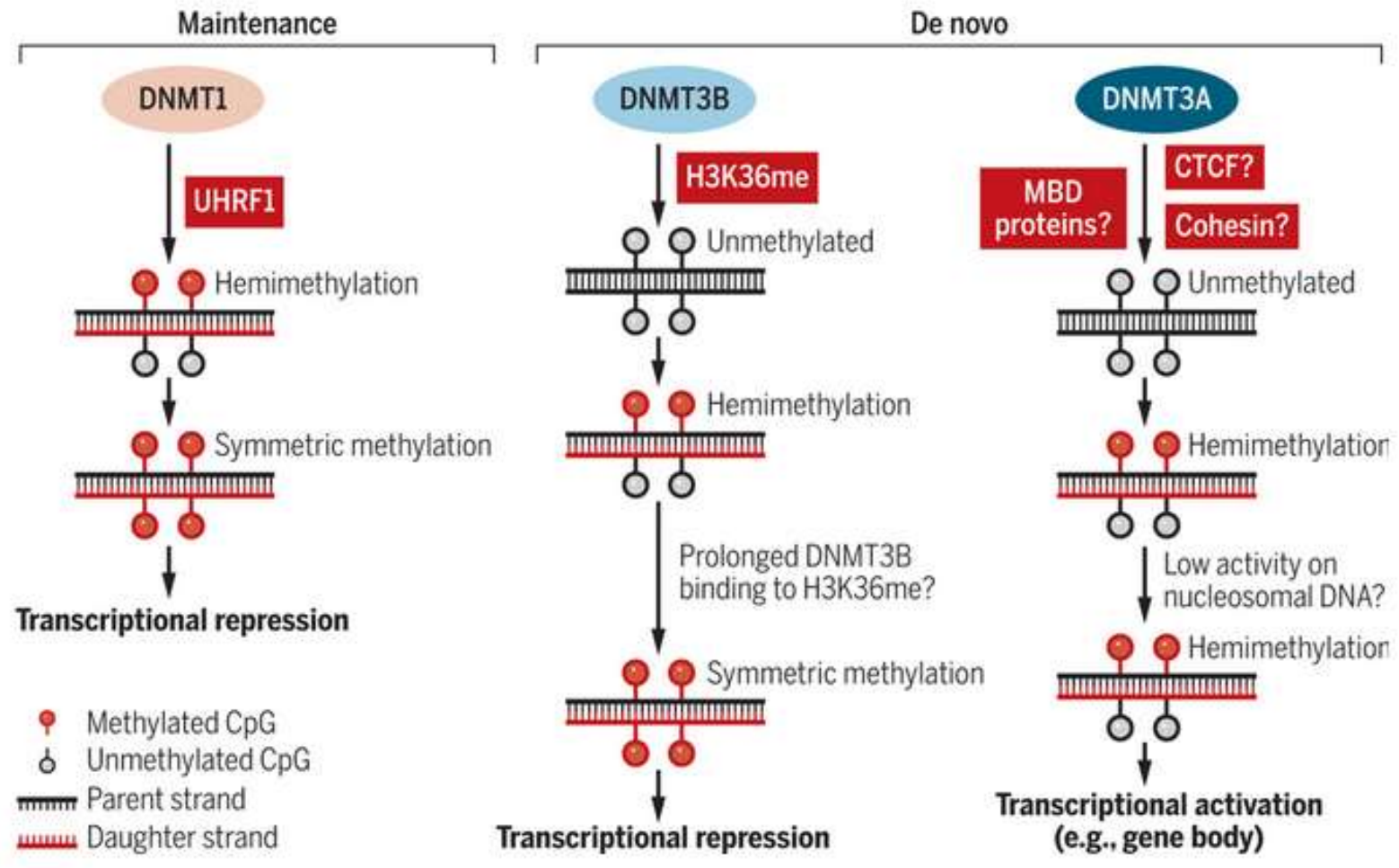
- Existují enzymy metylující **de novo** (DNMT3a a DNMT3b)
- Funkce **DNMT1**
- Existují **demetylázy (TET1-3 enzymes)**, které se uplatňují při degradaci metylace DNA.
- Methylace DNA nastává nejčastěji v heterochromatinu a u nádorových buněk u **symetrických CG sekvencích (CpG islands)**,



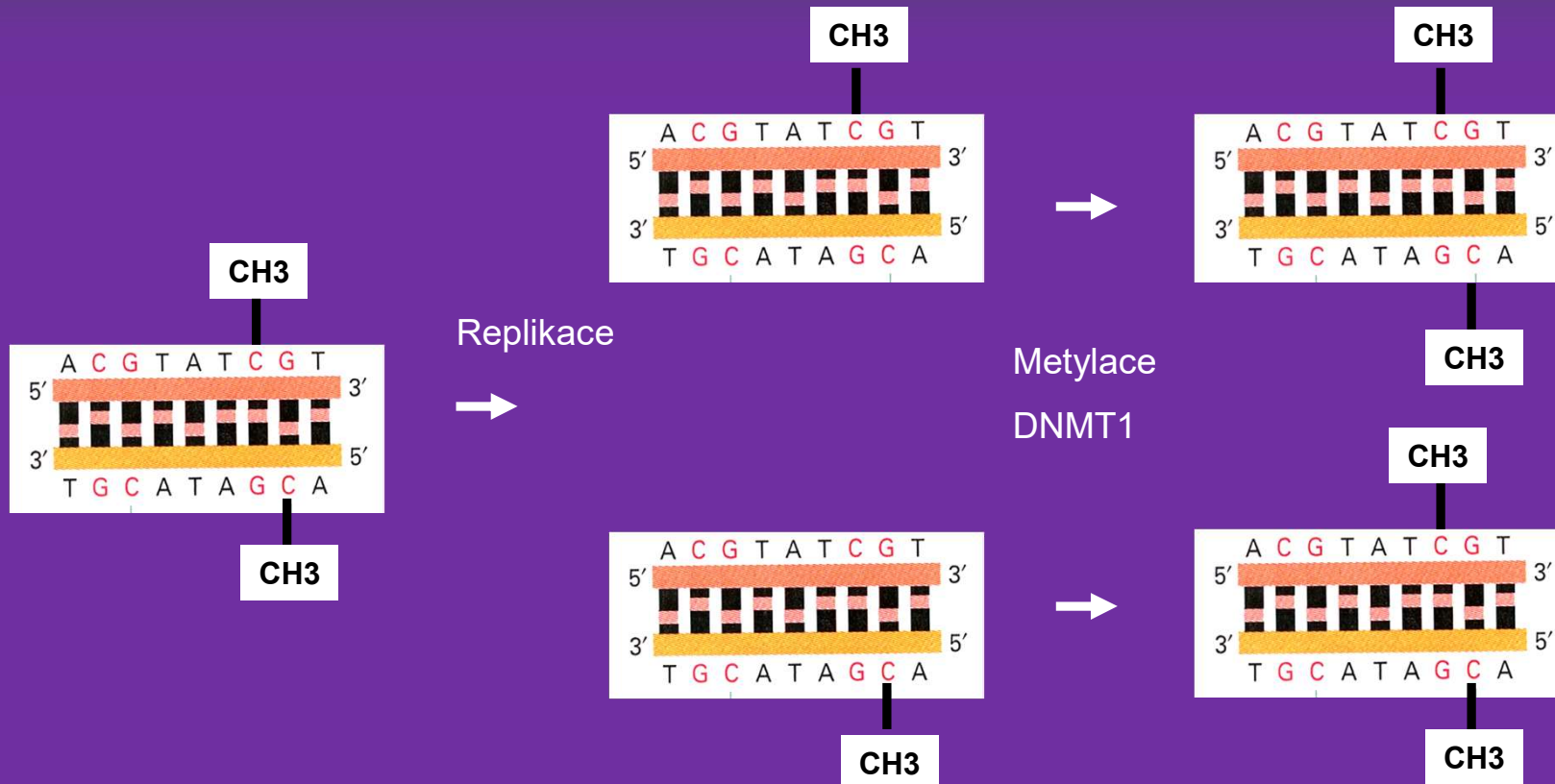
zdrojem metylové skupiny je S-adenosylmethionin (SAM)

## The fate of hemimethylated DNA

After DNA replication, hemimethylated CpGs are converted to symmetrical methylation by DNMT1. De novo symmetric methylation by DNMT3B is possibly mediated by H3K36me binding. DNMT3A maintains hemimethylated DNA at specific loci, potentially marked by CTCF-cohesin and MBD proteins.

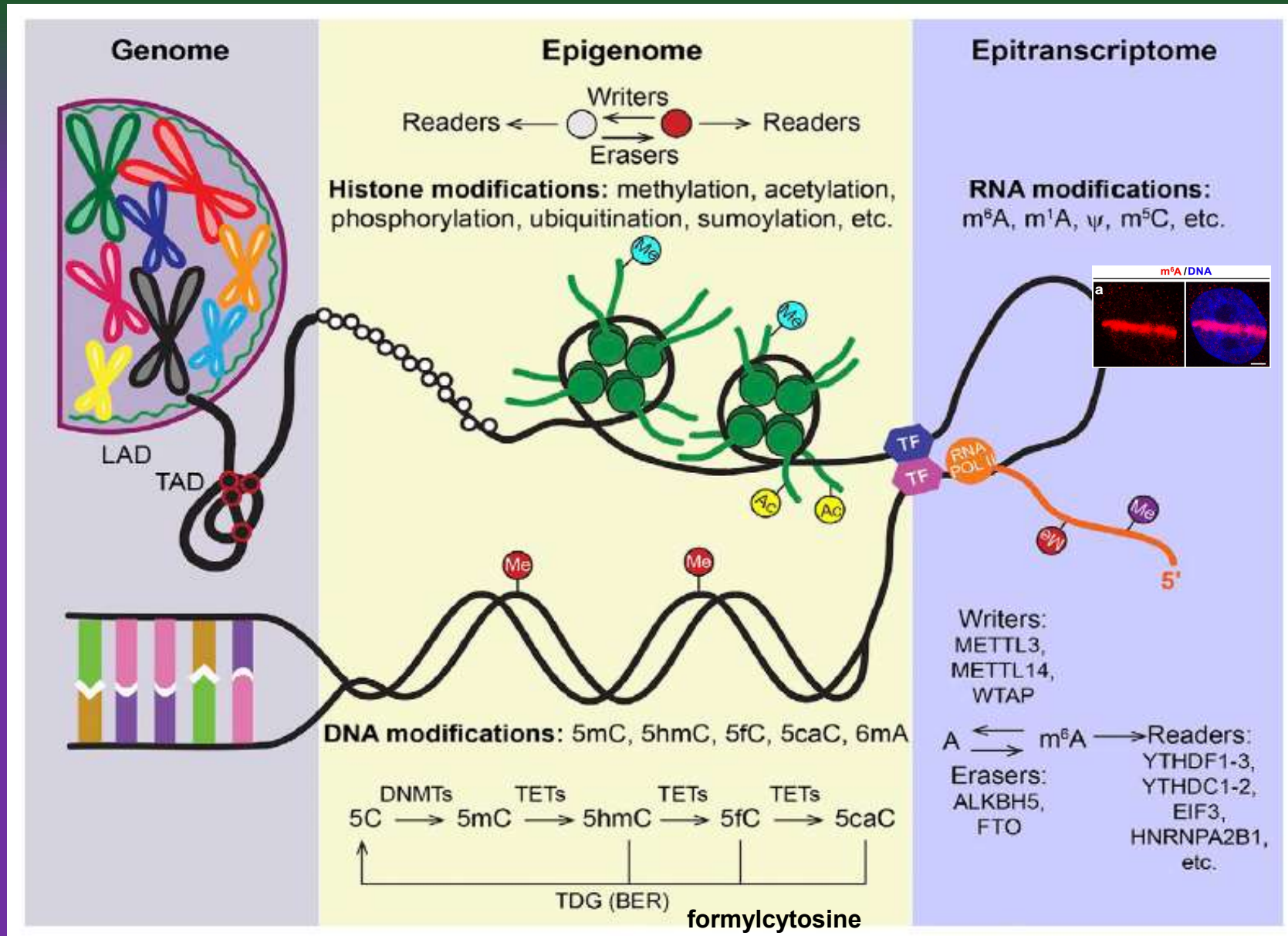


# Zachování metylace při replikaci „udržovací metylázou“

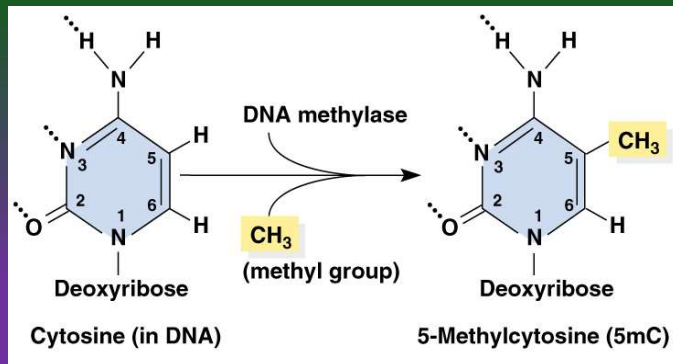


Methylace DNA se u savců podílí na udržování genomové stability například prostřednictvím inaktivace chromozomu X. Na metylované CpG se váží specifické proteiny (MeCP)

# Co označujeme za epigenetické faktory



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



Obecně platí, že CpG ostrůvky se vyskytují převážně v promotorech house keeping genů a ty jsou fyziologicky fungujících buněk demetylovány na DNA.

Methylace CpG se vyskytuje tedy jen v nádorových buňka, nebo v house keeping genech na inaktivním chromosomu X, v okamžiku kdy začne fungovat Xist. Dále výjimkou ve statusu demethylace CpG jsou buňky senescentní, u kterých se vyskytuje globální metylace genomu.

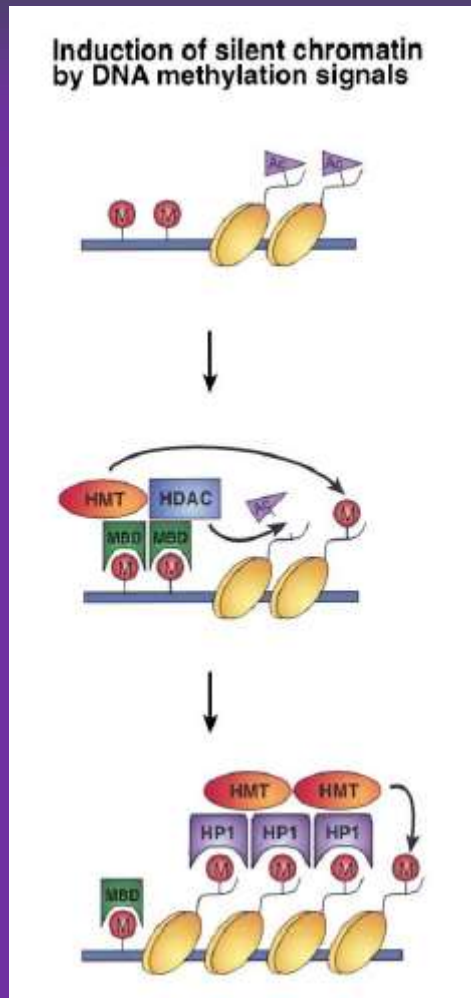
Obecně u nádorových buněk platí, že se v genomu vyskytuje globální hypomethylace, ale nefyziologická lokální hypermethylace DNA

.

# Úloha metylace při řízení transkripce

- **Transkripčně aktivní geny** obsahují podstatně menší hladinu metylované DNA ve srovnání s inaktivními geny,
- **Inaktivní chromatin je obvykle metylován** (např. inaktivní X-chromosom nebo inaktivované supresorové geny u nádorů)
- **Chromatin** v místě metylace DNA je **kondensovanější** a brání přístupu TF

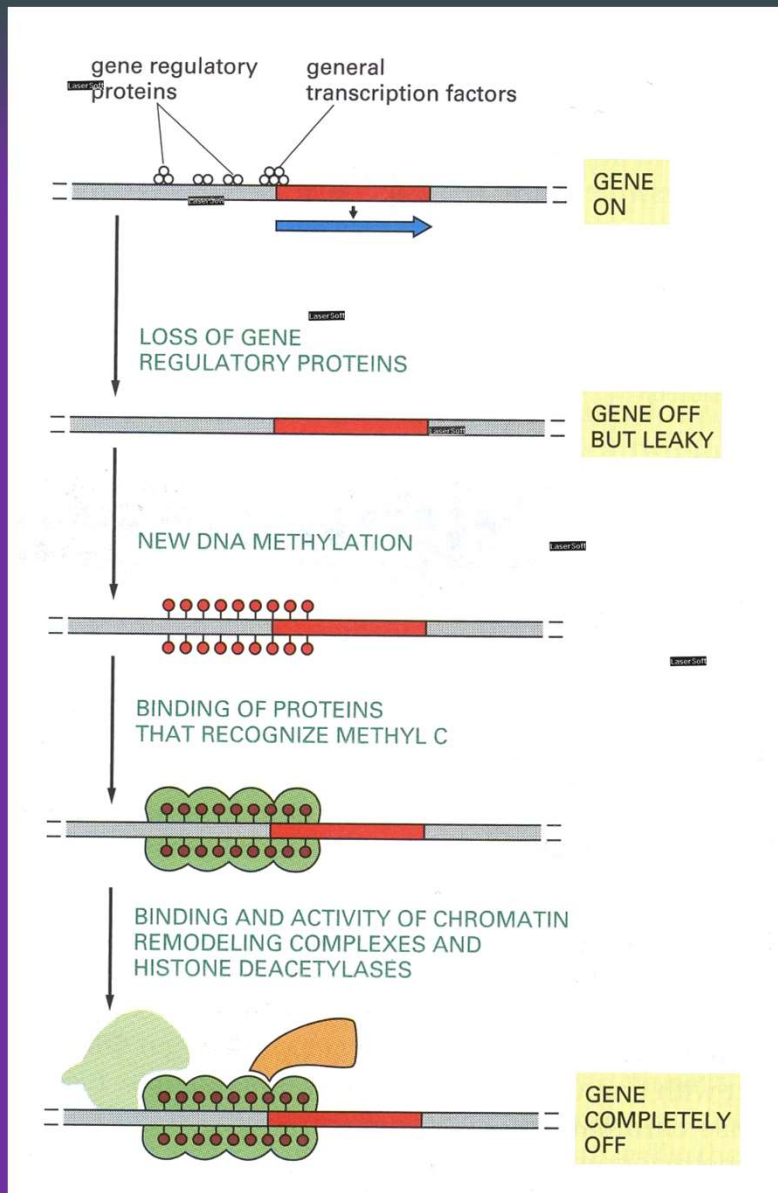
# Mechanismus jak metylace DNA vede ke kondensovanému chromatinu



DNA metylace usnadňuje vazbu HDAC komplexů (přes MBP – methyl binding proteins) a histon metylázy (HMT). Tyto enzymy odstraní Ac skupinu a přidají Me skupinu na H3-K9, která je rozpoznána HP1 proteinem. Tento stav je dále šířen vazbou histon metyltransferázy na HP1.



# Umlčení exprese genu metylací de novo



Umlčení genu probíhá v následujících krocích:

1) Odstranění regulačních proteinů

2) Metylace DNA

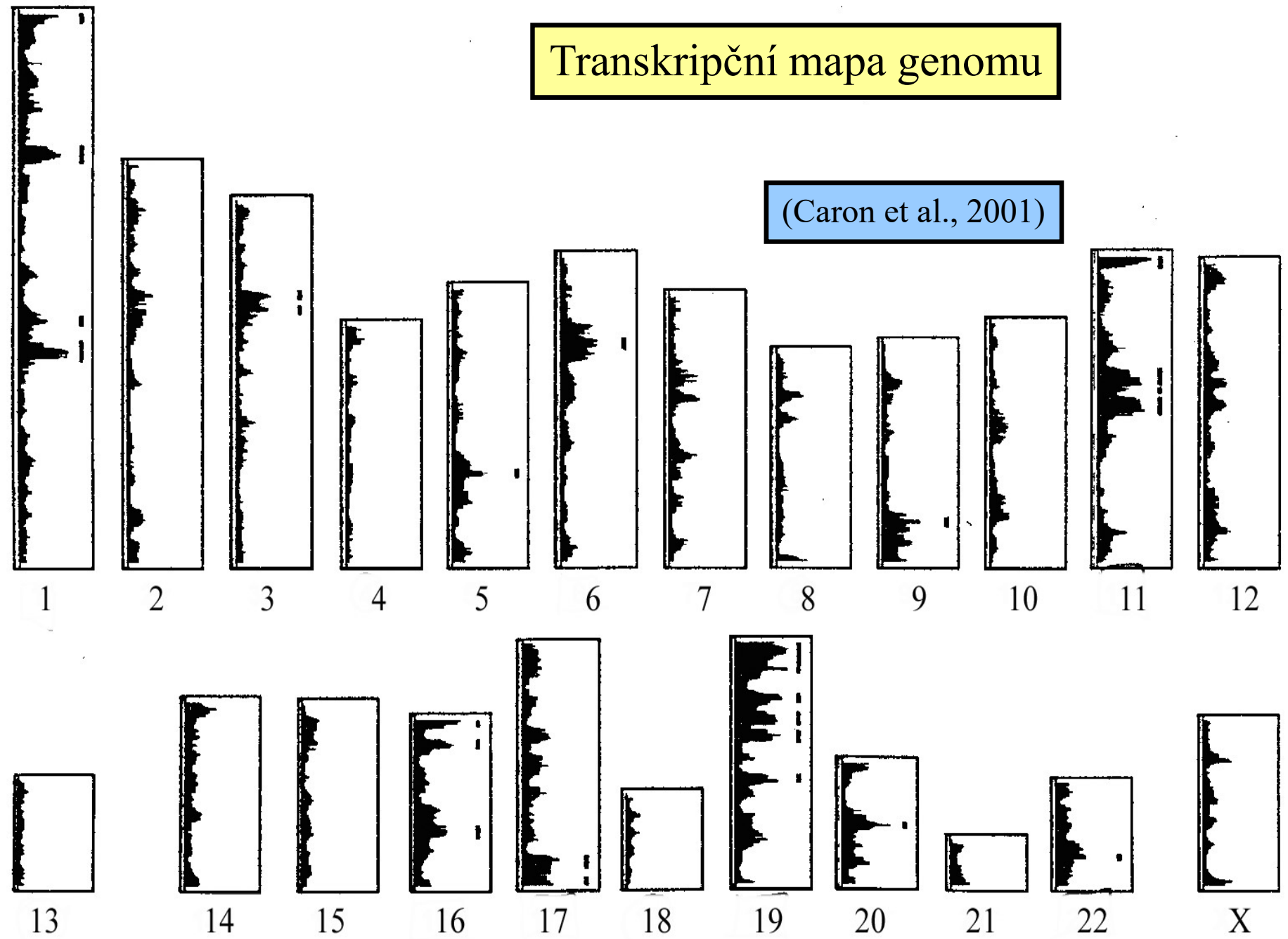
3) Vazba metylačně závislých proteinů

4) Deacetylázy a histon-metylázy

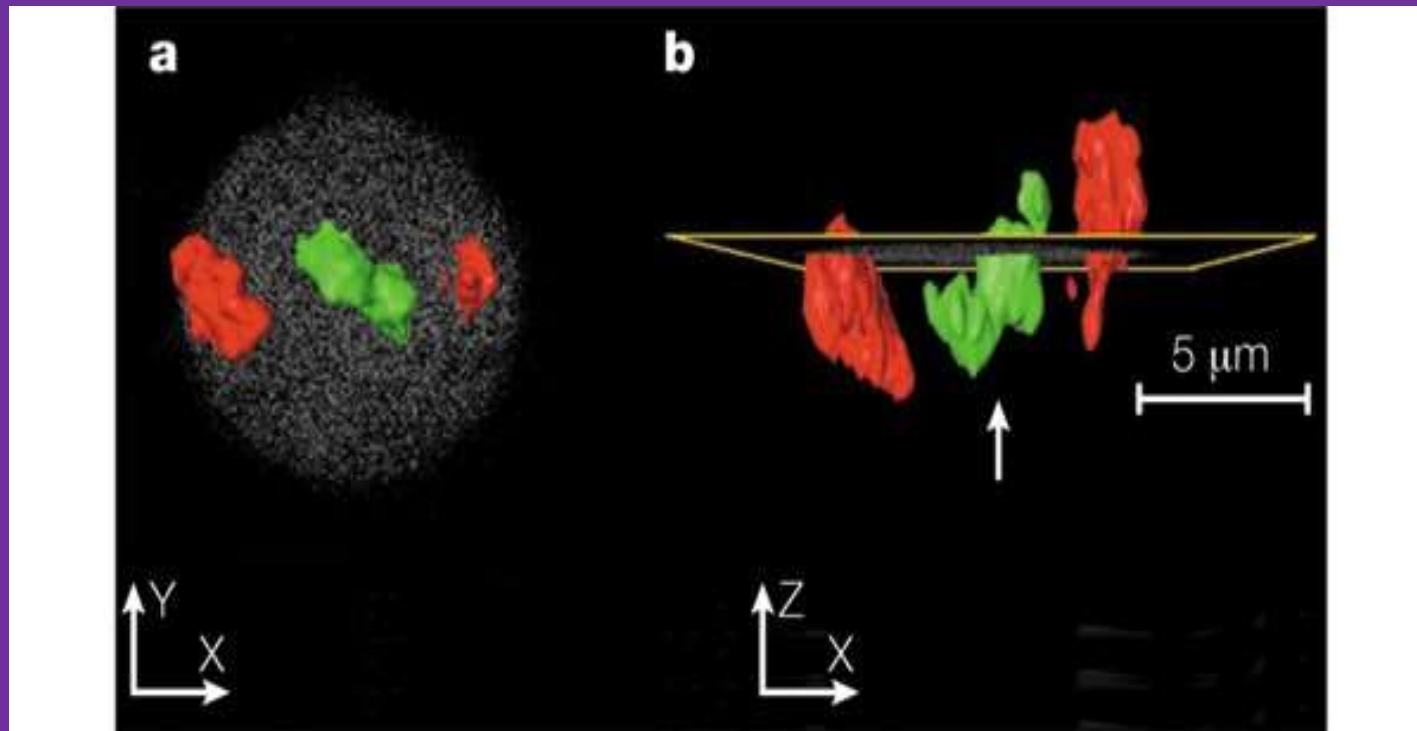
5) HP1 se váže na met. H3-K9 a posílí kondenzaci chromatinu

# Transkripční mapa genomu

(Caron et al., 2001)



## HSA 18 and 19 (positioning and gene density)



T. Cremer group, Munich