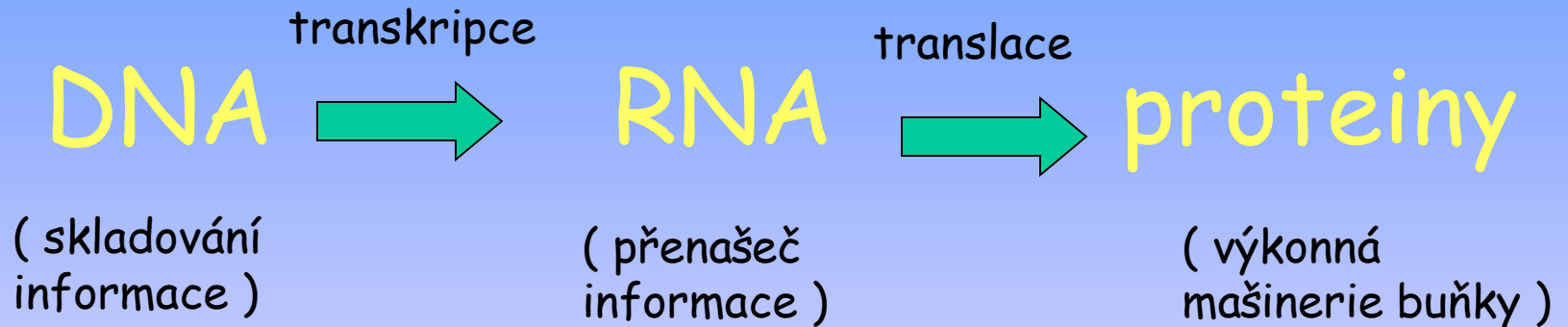


Centrální dogma molekulární biologie (Francis Crick)



Tento model má přinejmenším dva nedostatky :

1. nebere v úvahu mnoho faktorů, které modifikují genovou aktivitu v průběhu transkripce a translace
2. DNA a RNA nejsou jedinými skladníky a přenašeči informace

... známý gen, známý produkt : MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE

... známý gen, neznámý produkt : GENETIKA

... neznámý gen, známý produkt : BIOCHEMIE

... neznámý gen, neznámý produkt : EPIGENETIKA !



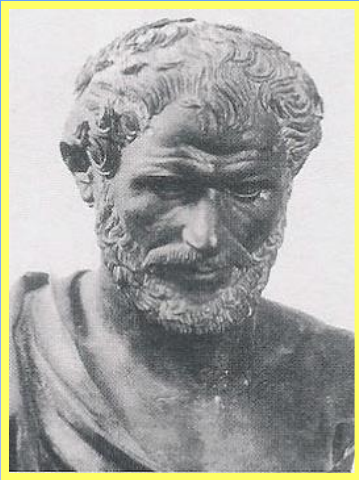
Timothy Bestor, 1995
Gordon Research Conference

Epigenetika je nejistá genetika ...

Negeneticky kódovaná informace
(tj. mimo sekvence nukleotidů) je

(s jistou pravděpodobností =
s neúplnou penetrancí
a/nebo variabilní expresivitou)

přenášena do (fenotypu) pohlavního
potomstva.



Aristoteles
(384-322 př.Kr.)

EPIGENEZE

individuální vývoj organismů spočívá
v postupném vzrůstu jejich komplexity

EPIGENETIKA

kombinuje ...

preformistickou genetiku

(studium dědičného materiálu
nacházejícího se v zygotě)

a vývojovou biologii

(studium změn, ke kterým dochází
v post-zygotickém období - epigeneze)

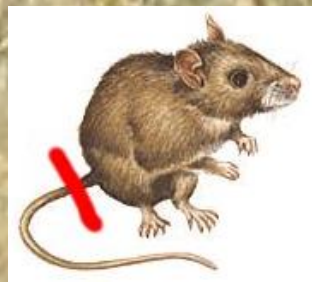


Conrad Waddington
(1905-75)

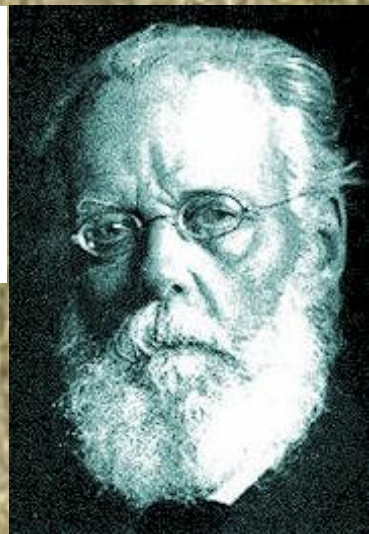
Dědičnost získaných znaků či vlastností ?



**Jean-Baptiste
Lamarck
(1744-1829)**



**August
Weismann
(1834-1914)**



Dílo Lamarckovo :

• Teorie biologického vývoje

Vývoj probíhá od neživého k živému, od jednoduchého ke složitějšímu, výsledkem je dokonale přizpůsobený jedinec.

• Užívání a neužívání orgánů

Organismy reagují na změny ve svém prostředí vývojem nových orgánů nebo změnou struktury a funkce stávajících orgánů.

• Dědičnost získaných znaků

Získané znaky jsou přenášeny do potomstva jedince.

Lamarck položil základy biologie a studia bezobratlých, první evoluční „soft“ teorie - později zpochybněna učením Darwina, Weismanna a Mendela

- jeho teorie adaptací mají uplatnění v epigenetice

EPIGENETICKÉ PROCESY A JEJICH BIOLOGICKÁ RELEVANCE

- ⊗ buněčná paměť o expresi genů
- ⊗ genomový imprinting
- ⊗ alelické interakce
- ⊗ poziční efekt
- ⊗ kompenzace dávky genů
- ⊗ obrana vůči parazitům
- ⊗ zdroj evoluční variability
- ⊗ chemické modifikace DNA a histonů
- ⊗ vazba chromatin-remodelujících faktorů
- ⊗ modifikace epigenetických záznamů v řízení ontogeneze ?



Robin Holliday
„teorie epimutací“
(Sydney 1987)

Fyzikální faktory prostředí se podílejí na vývoji jedince

šípátka (*Sagittaria sagittifolia*)

Individua se mohou odlišovat nejen díky genetickým rozdílům, ale i díky rozdílům v životním prostředí.

- fenomén zvaný
vývojová plasticita

vývoj na vzduchu

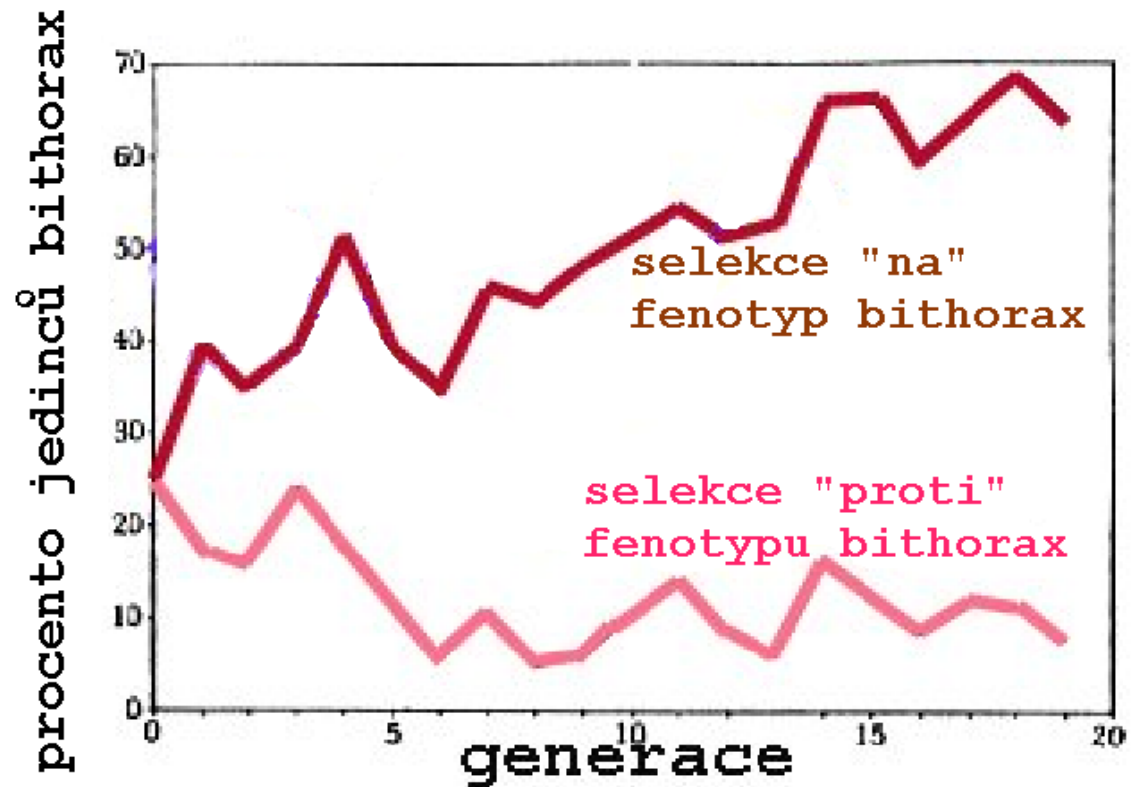


... ve vodě



Genetická asimilace "in vitro"

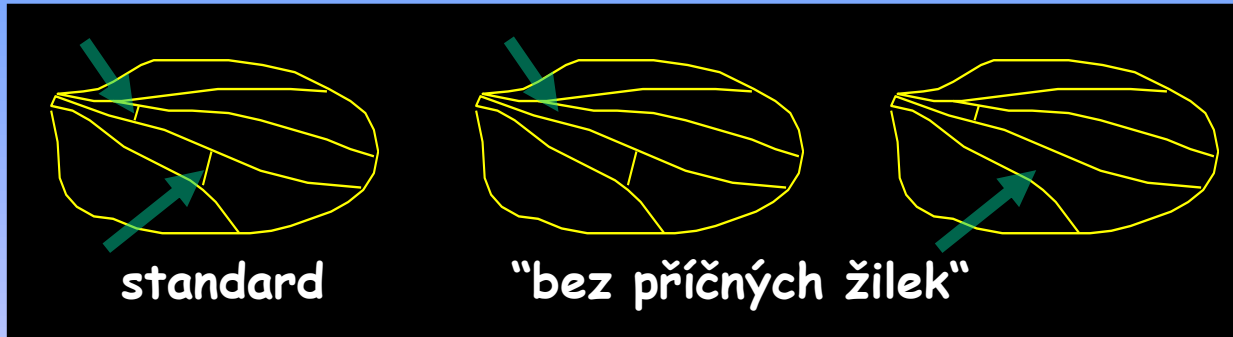
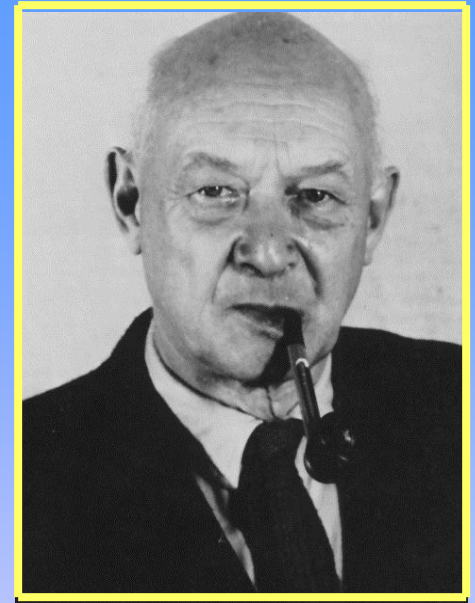
Conrad H. Waddington 1953



fenokopie mutace bithorax
(druhý pár křídel)

selekční experimenty na „bithoraxovou“
odpověď po aplikaci éteru na embrya

Další významná role prostředí: odhalení skryté genetické variability



generace

P

F1

F14

% „bez příčných žilek“ (teplotní šok)

23

79

97

% „bez příčných žilek“ (žádný šok)

0

0

1-2

- znak, který byl jednou „environmentálně spuštěn“, se stává v genomu „asimilovaným“

Tepelný šok navozuje fenokopie vzorce zbarvení křídel motýlů (*Aglais urticae*)

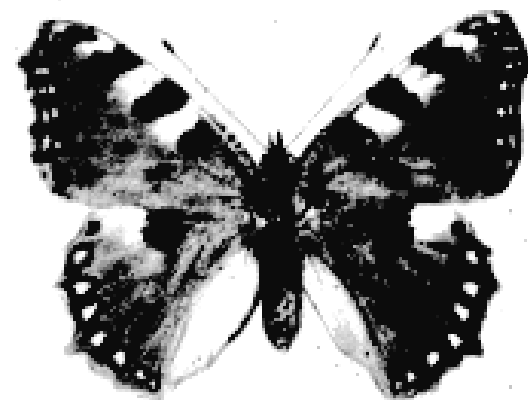
středoevropská
varianta



heat-shock fenokopie
připomínající formu ze Sardinie



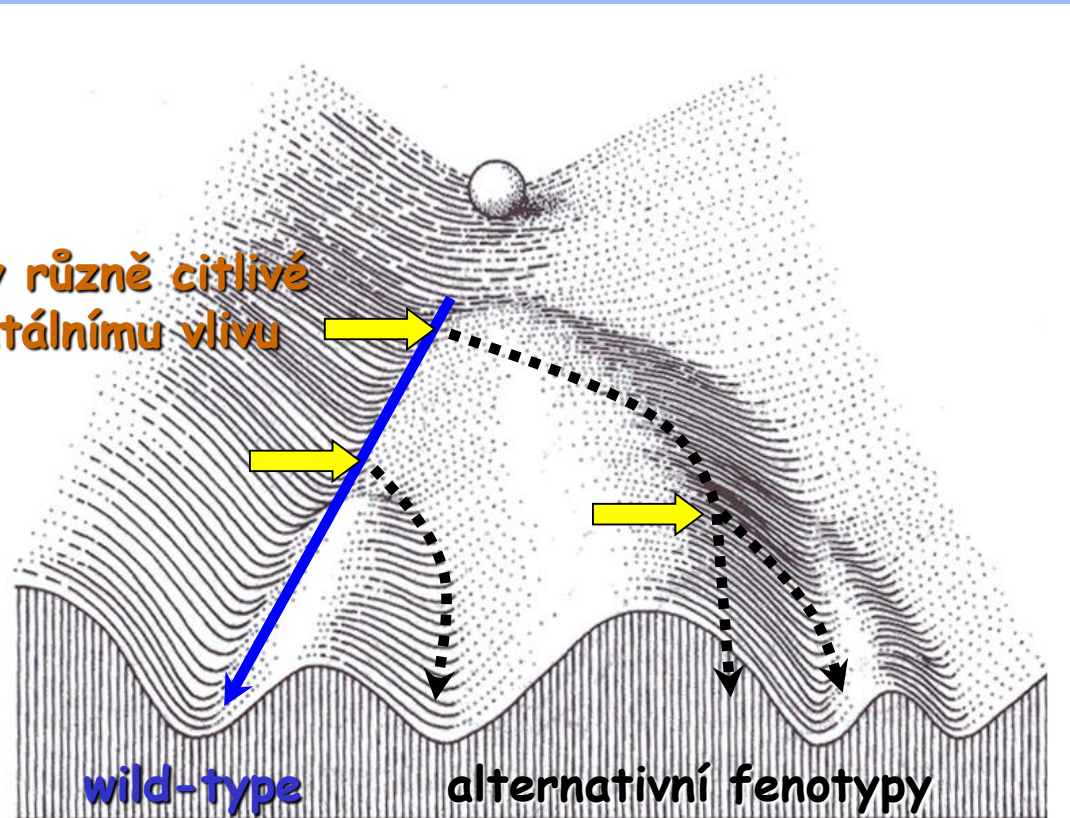
Sardinská
varianta



Interpretace genetické asimilace

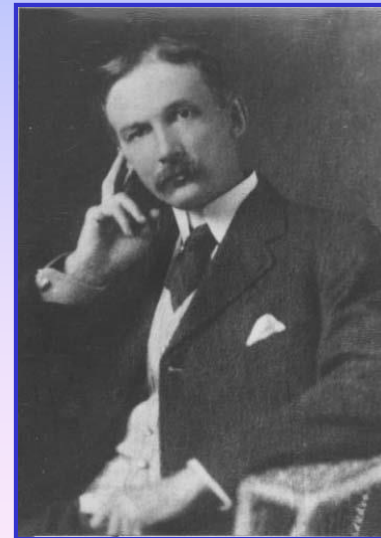
kanalizace (usměrňování) = potlačování fenotypové variability, zajišťování normálního vývoje, úloha heat-shock proteinů jako „pufry vývojových proteinových faktorů“, omezený pohyb v epigenetické krajině

kritické body různě citlivé
k environmentálnímu vlivu



Baldwinův efekt

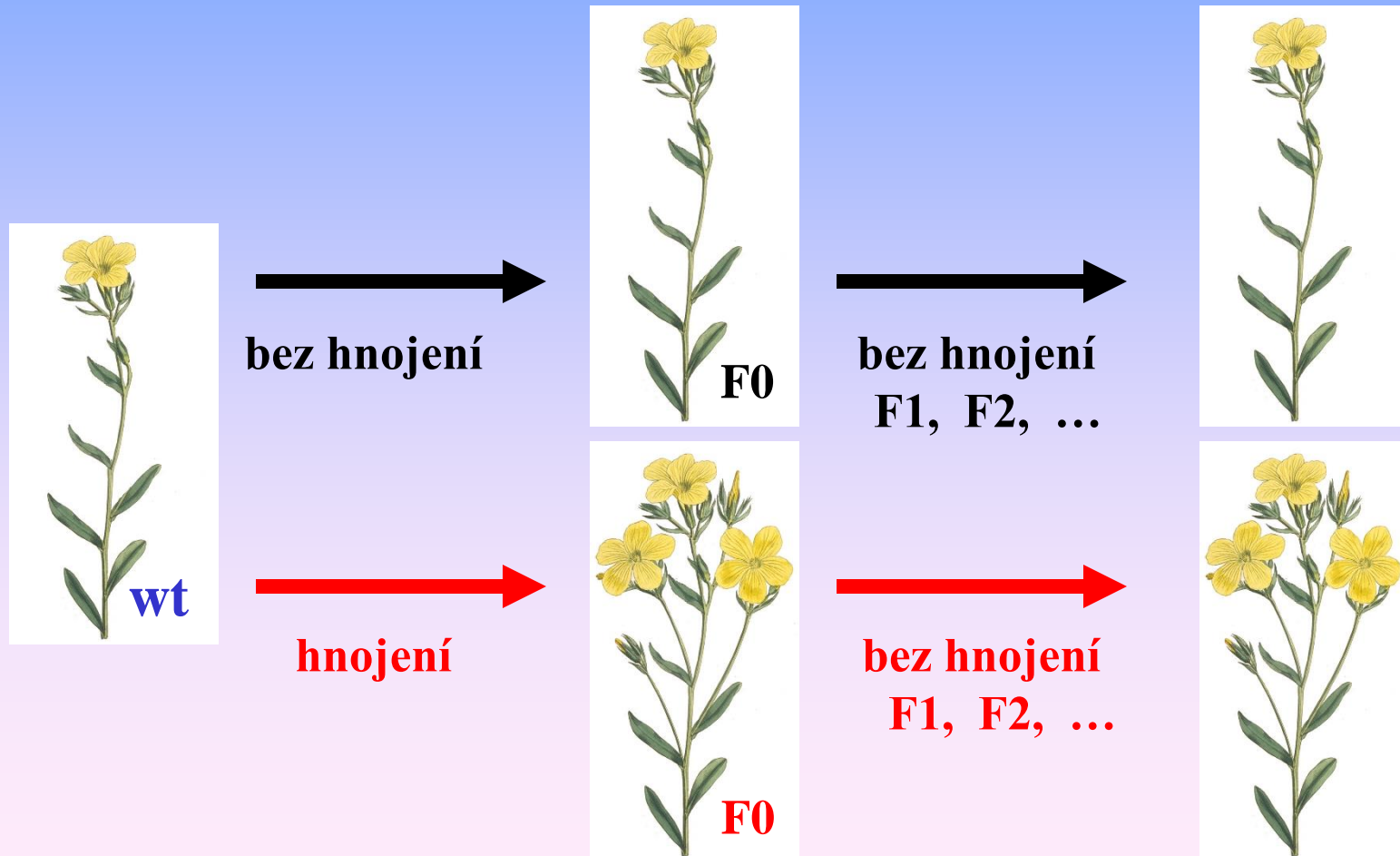
- "A New Factor in Evolution" (1896)
- nový faktor = fenotypová plasticita (flexibilita)
= schopnost organismu adaptovat se na vnější prostředí
v průběhu svého života
 - př.: schopnost se učit,
cvičením zvětšovat svaly,
opálit se na slunci



James Mark Baldwin
(1861-1934)

Meiotický přenos epigenetického stavu (fenotypu) aneb environmentální indukce dědičných změn

- genotrofy u lnu (vliv podnebí a hnojení na větvení)
- střídání heteromorfních generací u některých bezobratlých



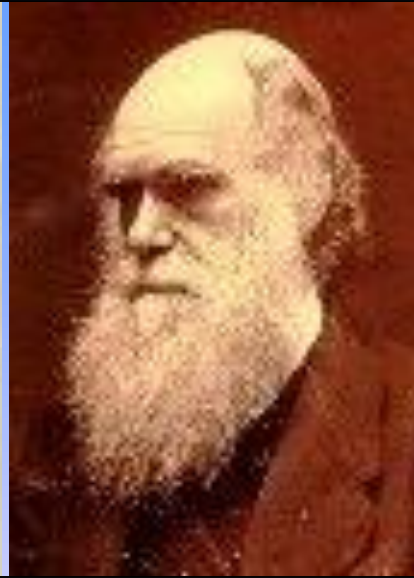
Vznik a dědičnost rostlinných monster: (epi)mutace



Carl Linnaeus
(1707-1778)



Jean-Baptiste Lamarck
(1744-1829)



Charles Darwin
(1809-1882)



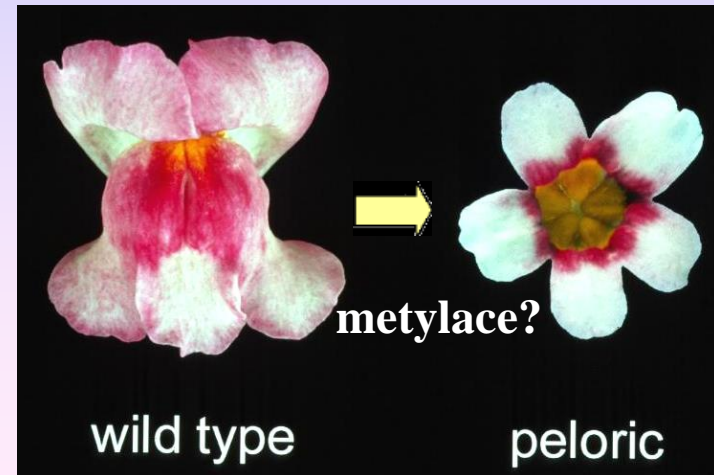
Enrico Coen
(1999)

Linnaeus ... pelorie u Inice, historicky první doložená mutace? (1744)

Lamarck ... dědičnost získaných znaků (*Philosophie Zoologique* 1801)

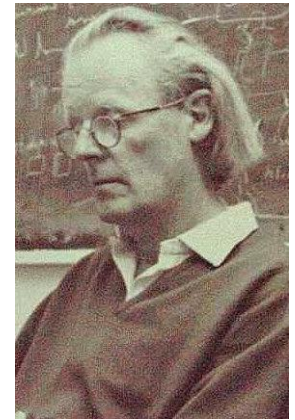
Darwin ... křížení normálních a pelorických forem v F2 127:37 (*Variation of Animals and Plants under Domestication* 1868)

Coen ... hypermetylace homologu genu *cycloidea*





Gregor Mendel
(1822-1884)



John Maynard Smith
(1920-2004)

EPIGENETICKÉ JEVY PŘEDSTAVUJÍ VÝJIMKY Z MENDELOVÝCH ZÁKONŮ

Princip NEZÁVISLÉ SEGREGACE ALEL : dvě odlišné alely - paternálního a maternálního původu - v heterozygotu při meiose segregují a v nezměněné podobě se přenášejí do potomstva.

S tím souvisí i pravidlo o IDENTITĚ RECIPROKÝCH KŘÍŽENÍ.

Alely se mohou podrobovat vzájemným interakcím, které mají za následek dědičnou změnu jejich exprese : PARAMUTACE, TRANSVEKCE

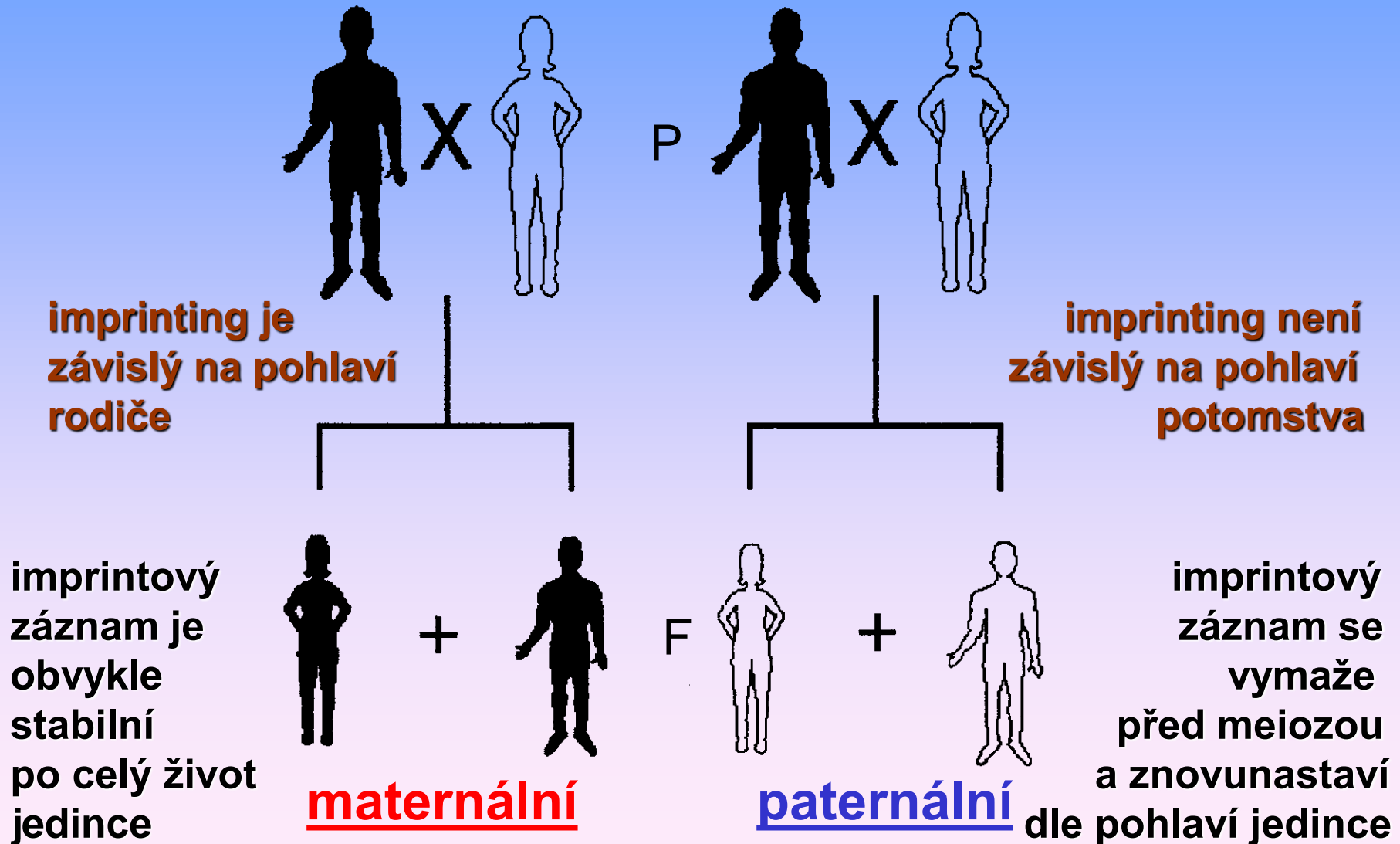
Některé genomy, chromosomy či lokusy jsou v průběhu gametogeneze sex-specificky reverzibilně modifikovány, což vede k jejich umlčení ve filiální generaci : PARENTÁLNÍ IMPRINTING

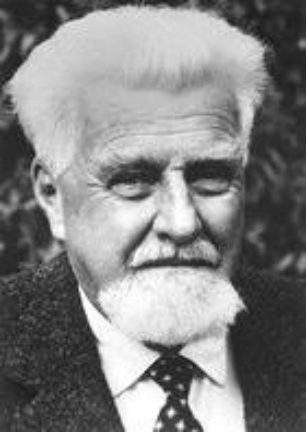


GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING

- ⇒ reverzibilní proces, kdy pohlavně specifická modifikace genů v parentální generaci vede k funkčním rozdílům mezi paternálními a maternálními genomy (alelami) v potomstvu
- ⇒ epigenetická forma genové regulace, která vede k funkční haploidii : parentálně specifická monoalelická exprese

Parentální imprinting je reversibilní umlčování genů ve filiální generaci způsobené modifikací chromatinu





Konrad
Lorenz
(1903-1989)

Imprinting (filiální)



= paměťová fixace
rozpoznávání rodičů
a jejich chování u
živočichů v časných
postnatálních fázích
jejich vývoje



HISTORIE PARENTÁLNÍHO IMPRINTINGU

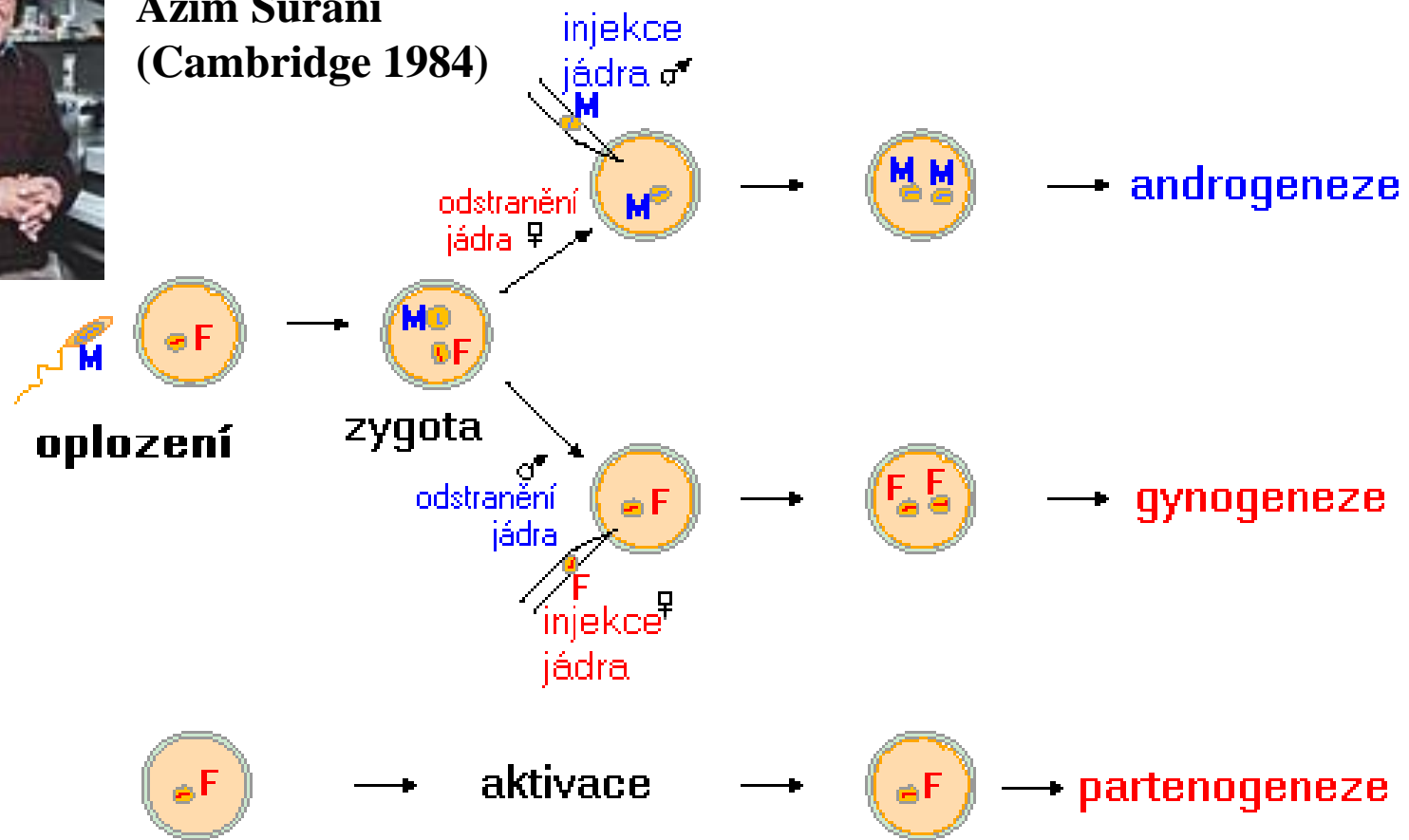
- ⊖ neidentita reciprokých křížení koně a osla - chovatelé dobytka v Malé Asii, asi před 3 tisíci lety
- ⊖ eliminace paternálních chromosomů X u mouchy *Sciara*, *Diptera* - Helen Crouse, Missouri 1960
- ⊖ heterochromatinizace paternálních chromosomů u červců, *Homoptera* - Uzi Nur, Rochester 1964
- ⊖ velikost mezidruhových hybridů *Peromyscus* závisí na směru křížení - Wallace D. Dawson, Ohio 1965
- ⊖ parentálně specifická exprese lokusu *R/r* v endospermu kukuřice - Jerry Kermicle, Madison 1970
- ⊖ inaktivace paternálního X u samic klokanů - George Sharman, New South Wales 1971
- ⊖ přenosy jader oocyty a spermií - Surani & Solter 1984
- ⊖ expresivita a penetrance transgenu u myši závislá na rodičovském původu - Davor Solter, Philadelphia-Freiburg 1988
- ⊖ parentálně řízená pohlavní reverze u kvasinek - Amar Klar, Maryland 1990
- ⊖ maternální imprinting genu *IGF2* - Azim Surani, Cambridge 1991



Důkaz imprintingu u savců manipulací s jádry oocytů a spermii

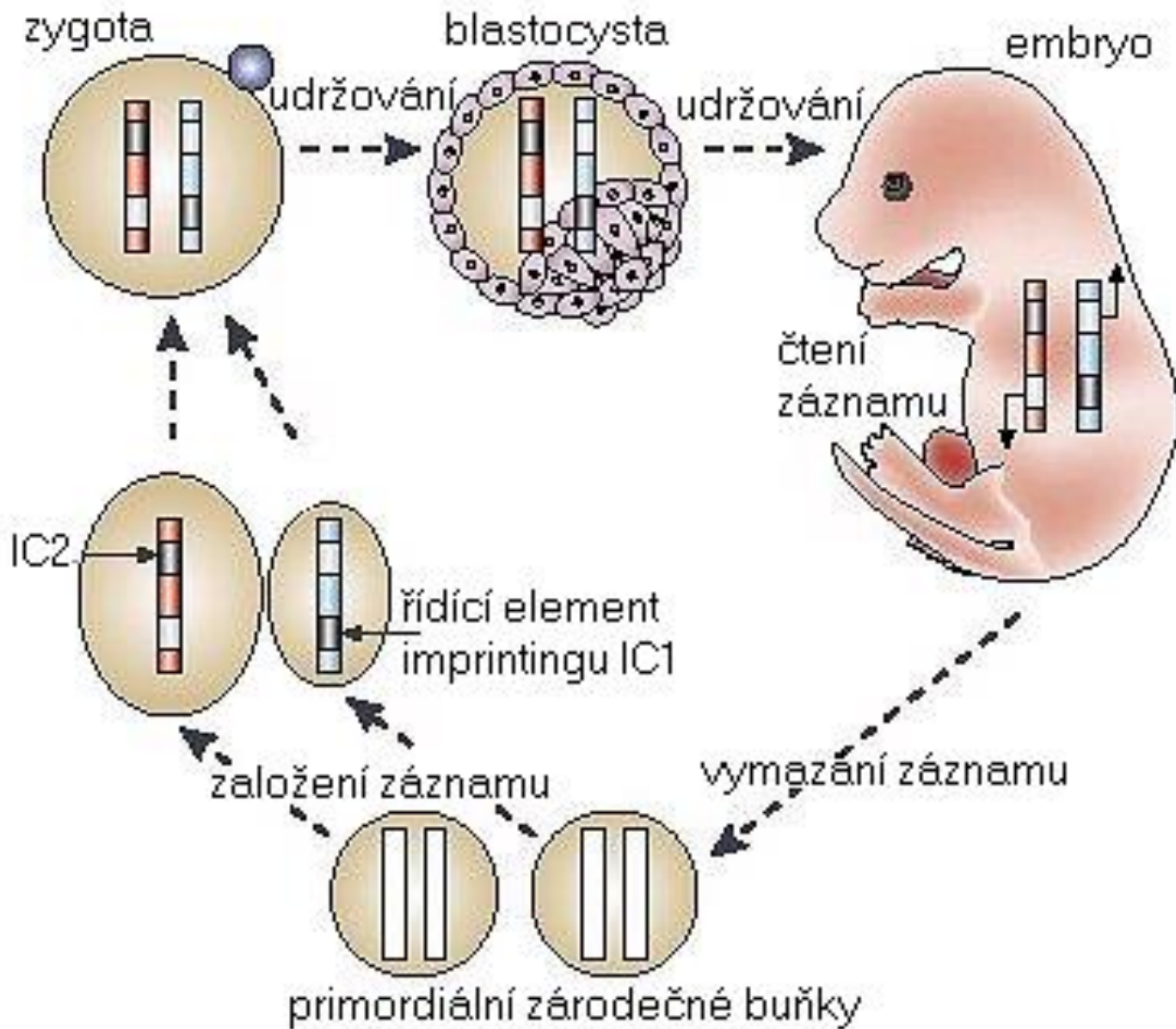


Azim Surani
(Cambridge 1984)



non - ekvivalence parentálních genomů

Životní cyklus imprintového (metylačního) záznamu



Wolf Reik
(Cambridge)

Teorie parentálního konfliktu

= souboj mezi matkou a potomstvem *in utero*

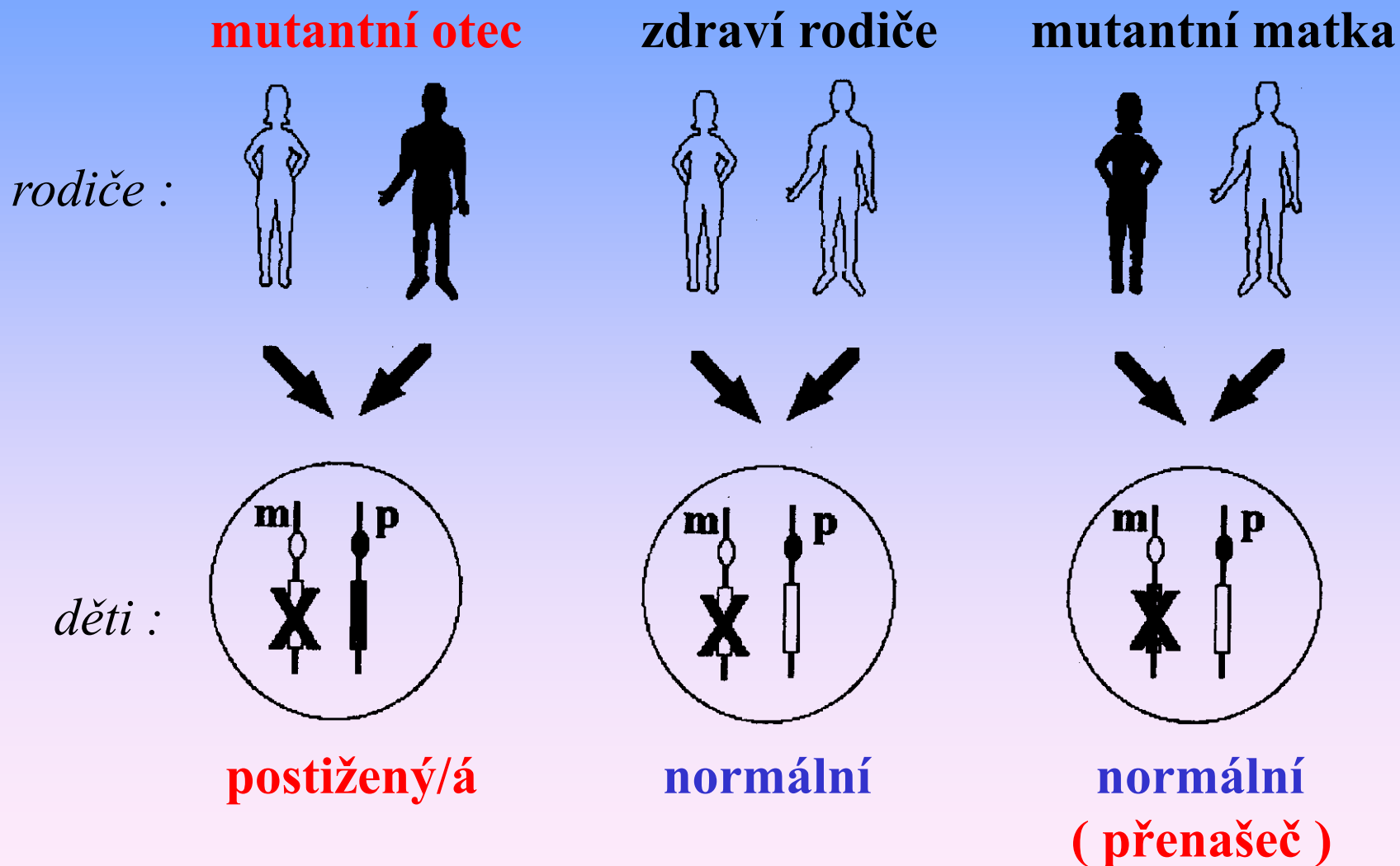
Reciproký imprinting zajišťuje přiměřený vývin plodu :
paternálně exprimované geny (*Peg*) podporují pre- i postnatální růst
maternálně exprimované geny (*Meg*) jsou růstovými supresory



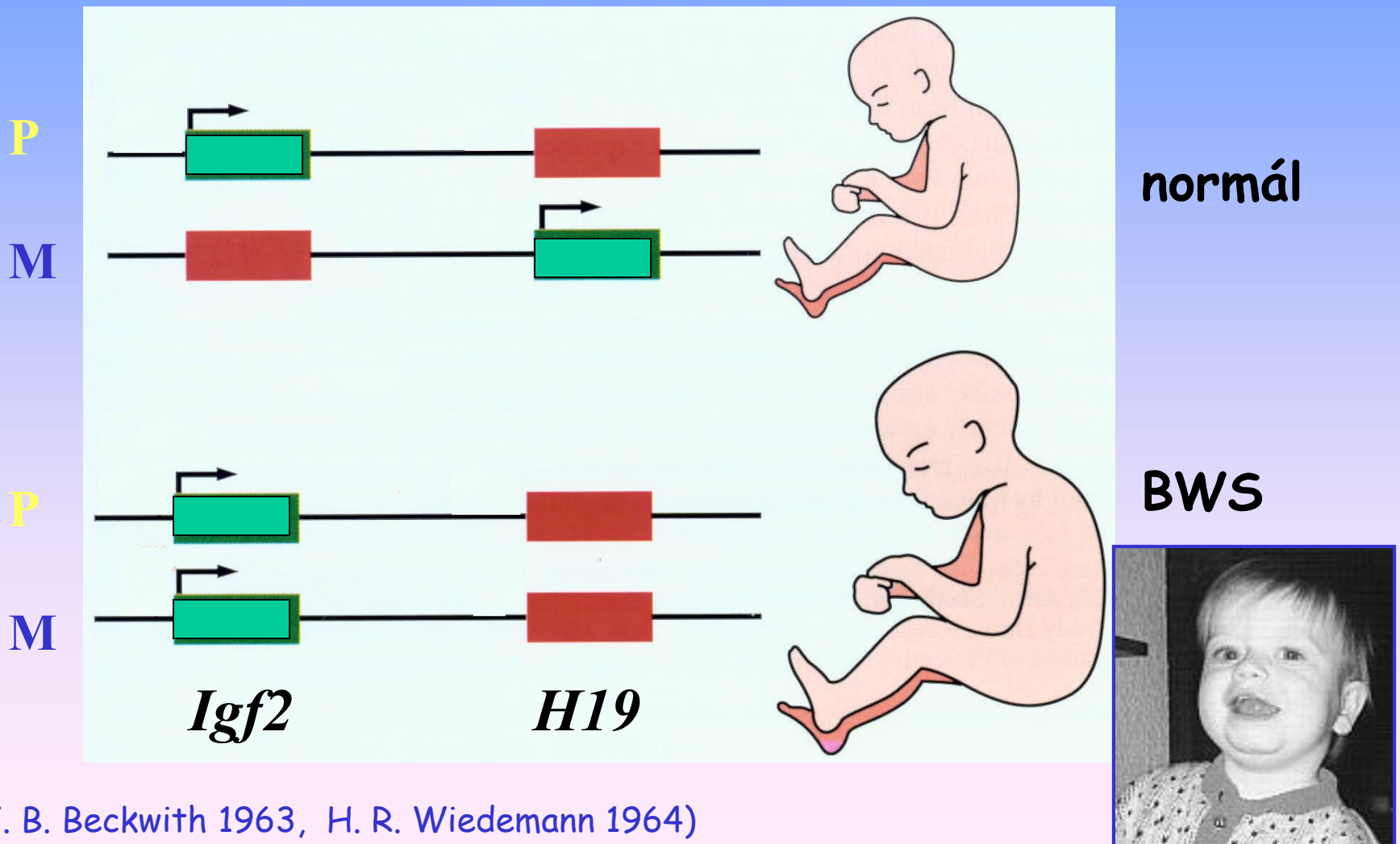
David Haig
(Harvard 1991)

- ⊗ imprintované geny jsou potenciálními onkogeny či nádorovými supresory
- ⊗ imprintované geny jsou významné v řízení embryonálního a postnatálního růstu i v chování
- ⊗ imprinting jako fakultativní haploidie je potenciálním rizikem pro řádný vývoj

Maternální imprint mutovaného lokusu vede k odlišnému fenotypu potomstva

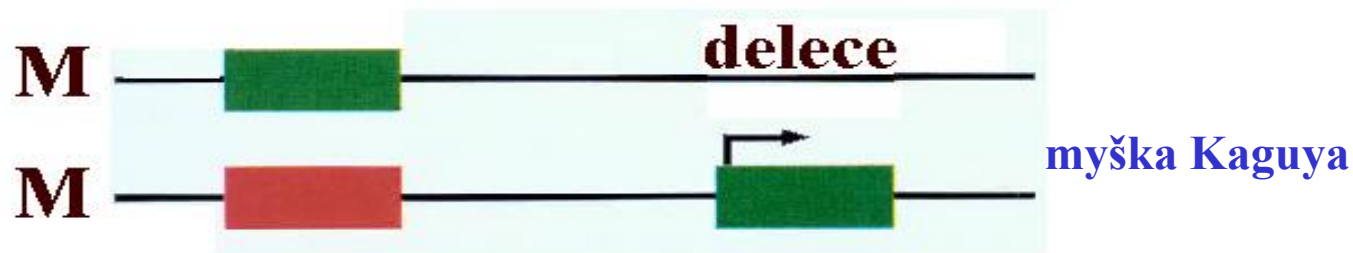
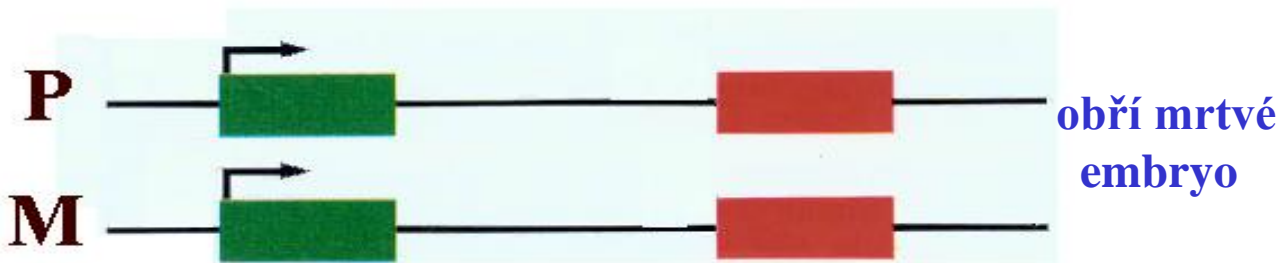
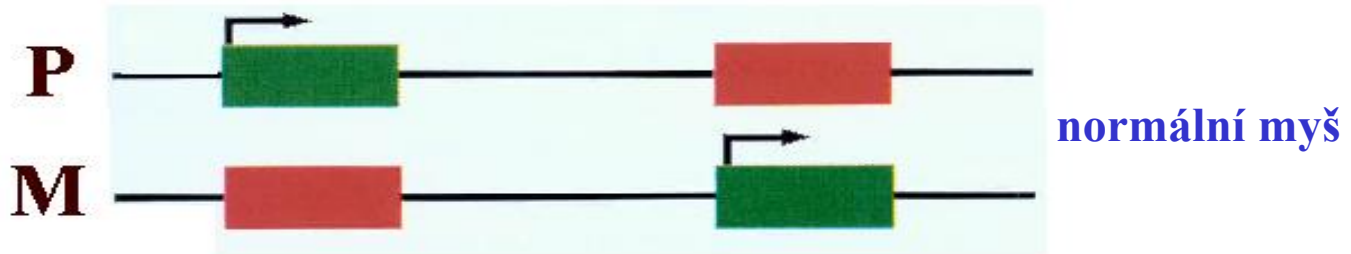


Chybný imprint P-alely (insulinový růstový faktor) či M-alely (růst suprimující H19-RNA) vede k Beckwith-Wiedemannově syndromu (aneb příběh Otesánka)



(J. B. Beckwith 1963, H. R. Wiedemann 1964)

Partenogeneze u savců - neposkvrněné početí myšky Kaguya
normální oocyt + jádro mutantního pre-oocytu
(Tomohiro Kono, Tokyo 2004)



Igf2

H19

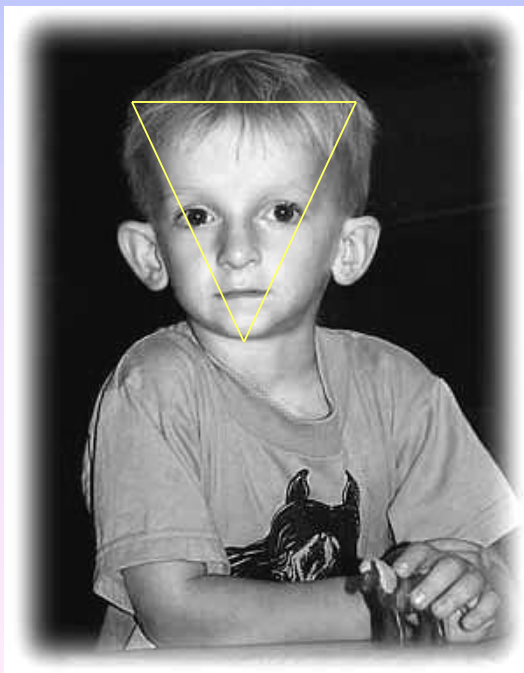


„Fatherless“ Kaguya (Nature 428: 860, 2004)
vyřazení imprintovaných genů může vést k vývinu
plodné myši partenogenetického původu

Russell-Silverův syndrom : maternální disomie chromosomu 7



- růstová retardace *in utero*
- postnatální růstová deficiencie
- asymetrický dwarfismus



**POTLAČUJE MATKA
VÝVIN SVÝCH DĚTÍ ?**

aneb příběh Palečka

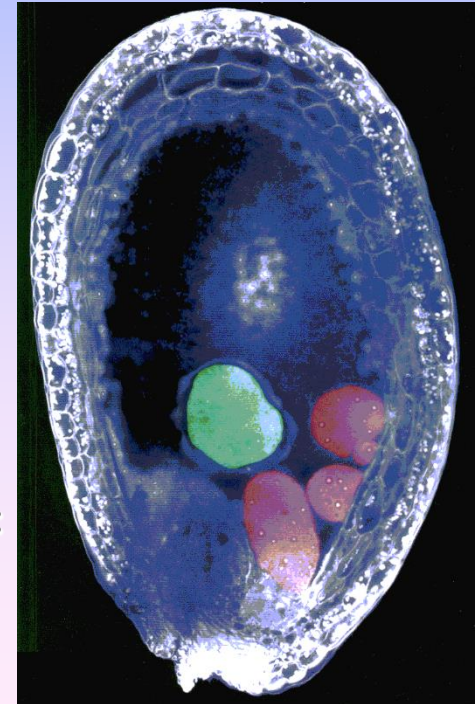
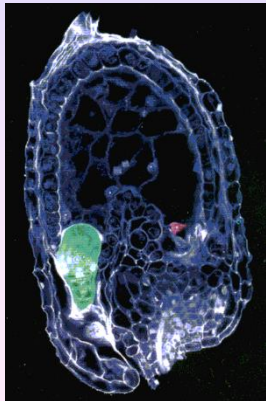
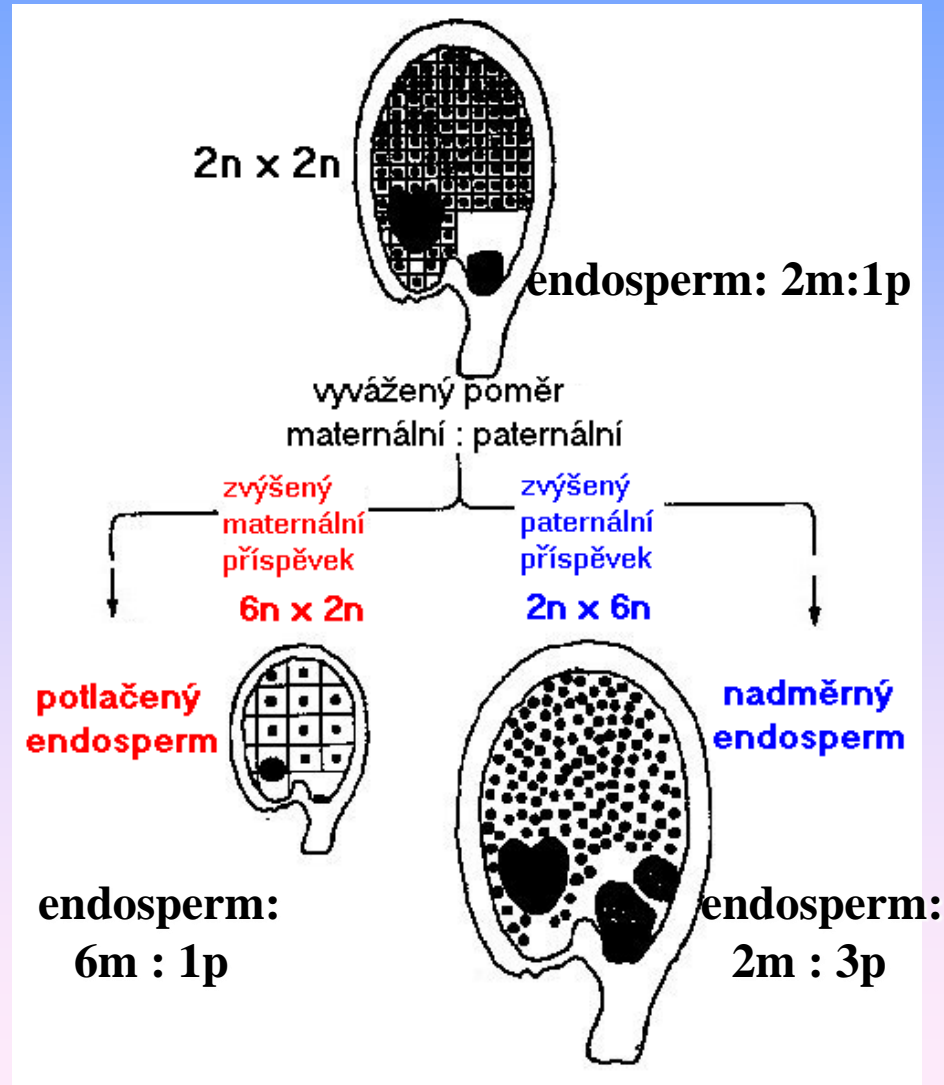
David Haig ... teorie parentálního konfliktu

(A. Russell 1954, H. K. Silver 1953)

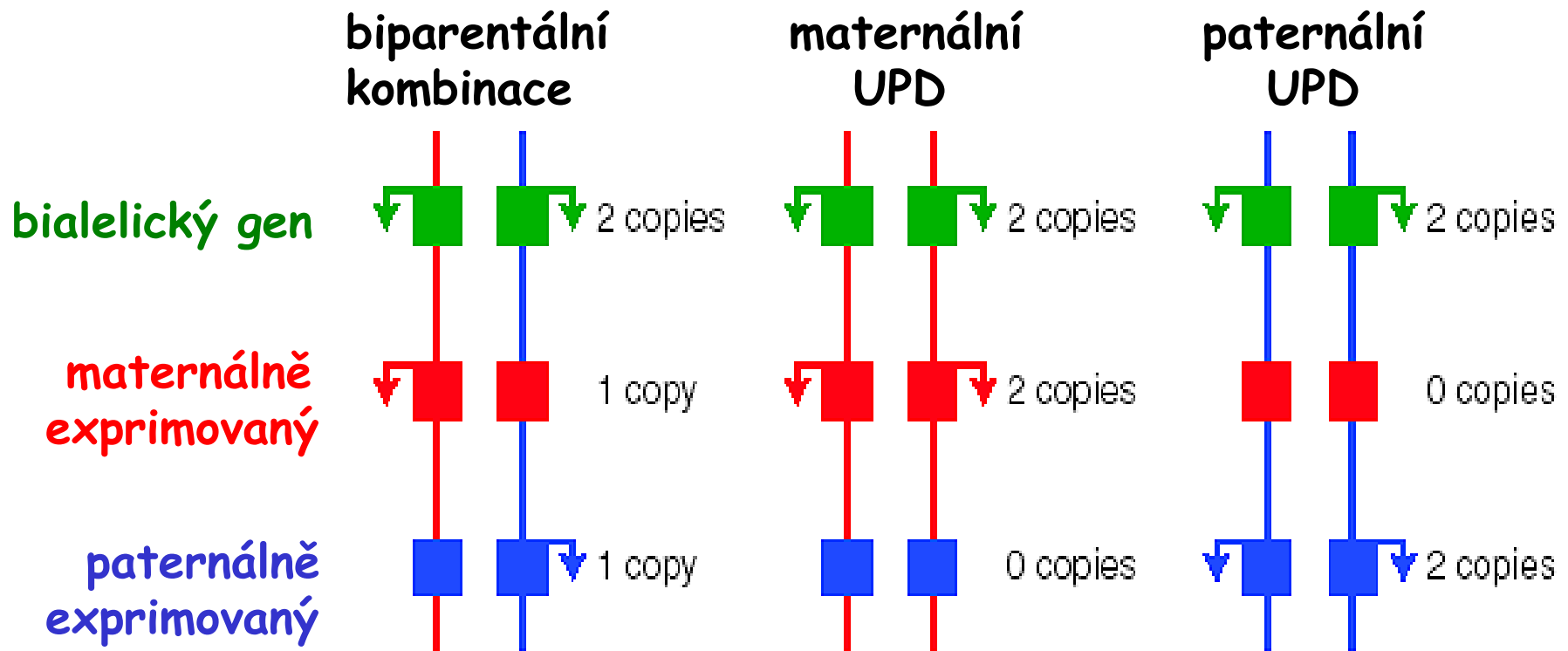
Maternální či paternální exces vedou k narušení exprese imprintovaných genů v endospermu



Rod Scott
(Bath 1998)



Genomový imprinting a uniparentální disomie



Dávka genů/chromosomů a uniparentální disomie jako příčiny těžkých komplexních syndromů

trisomie chromosomu 21 ... Down (90% pacientů)

... po eliminaci „třetího“ chromosomu :

maternální disomie chr. 15 - Praeder-Willi (20%)

paternální disomie 15 - Angelman (5%)

paternální disomie 11 - Beckwith-Wiedemann (20%)

maternální disomie 7 - Russell-Silver (10%)

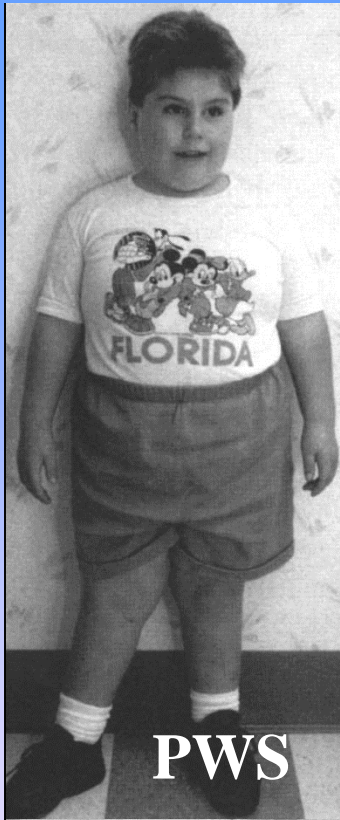
... jiné parentální efekty:

myotonní muskulární dystrofie ... „těžší“ diagnóza se dědí maternálně

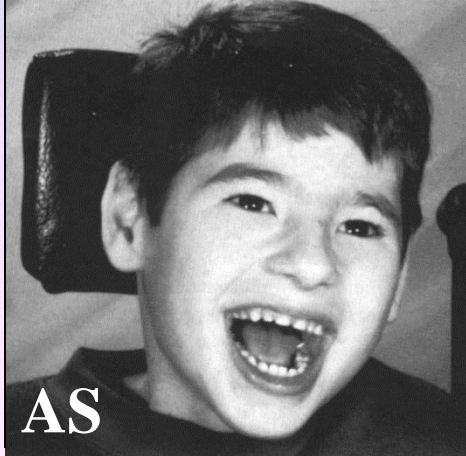
Huntigtonova chorea ... „časný“ nástup se dědí paternálně



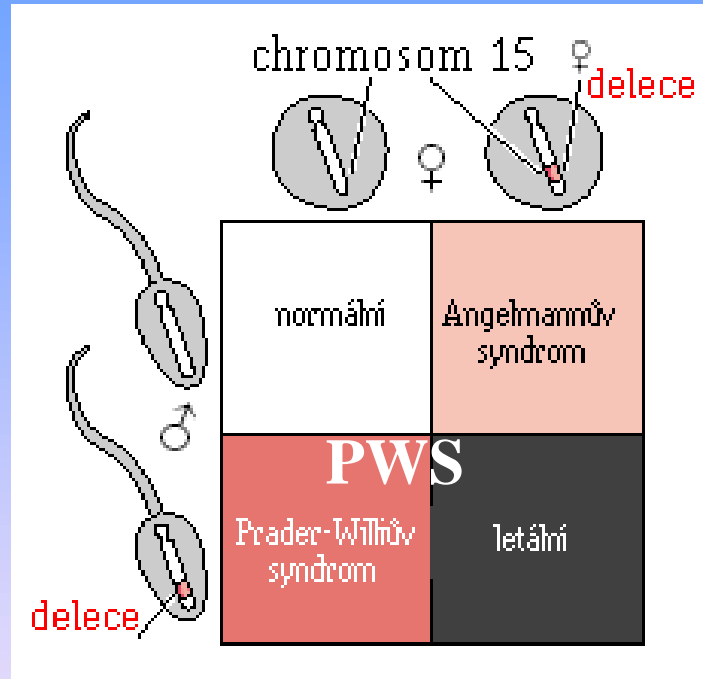
Uniparentální disomie či delece na chromosomu 15 q11-13 způsobují těžké psychosomatické choroby



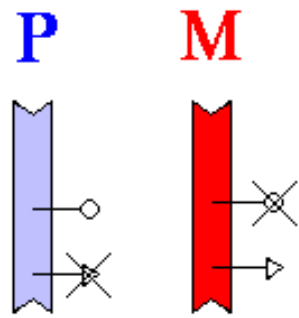
PWS



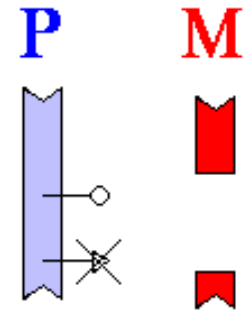
AS



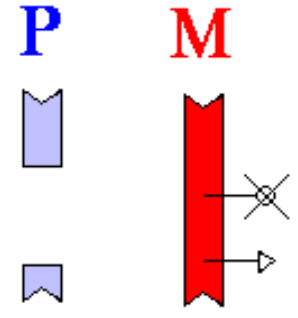
Daniel Driscoll (Florida)



normal



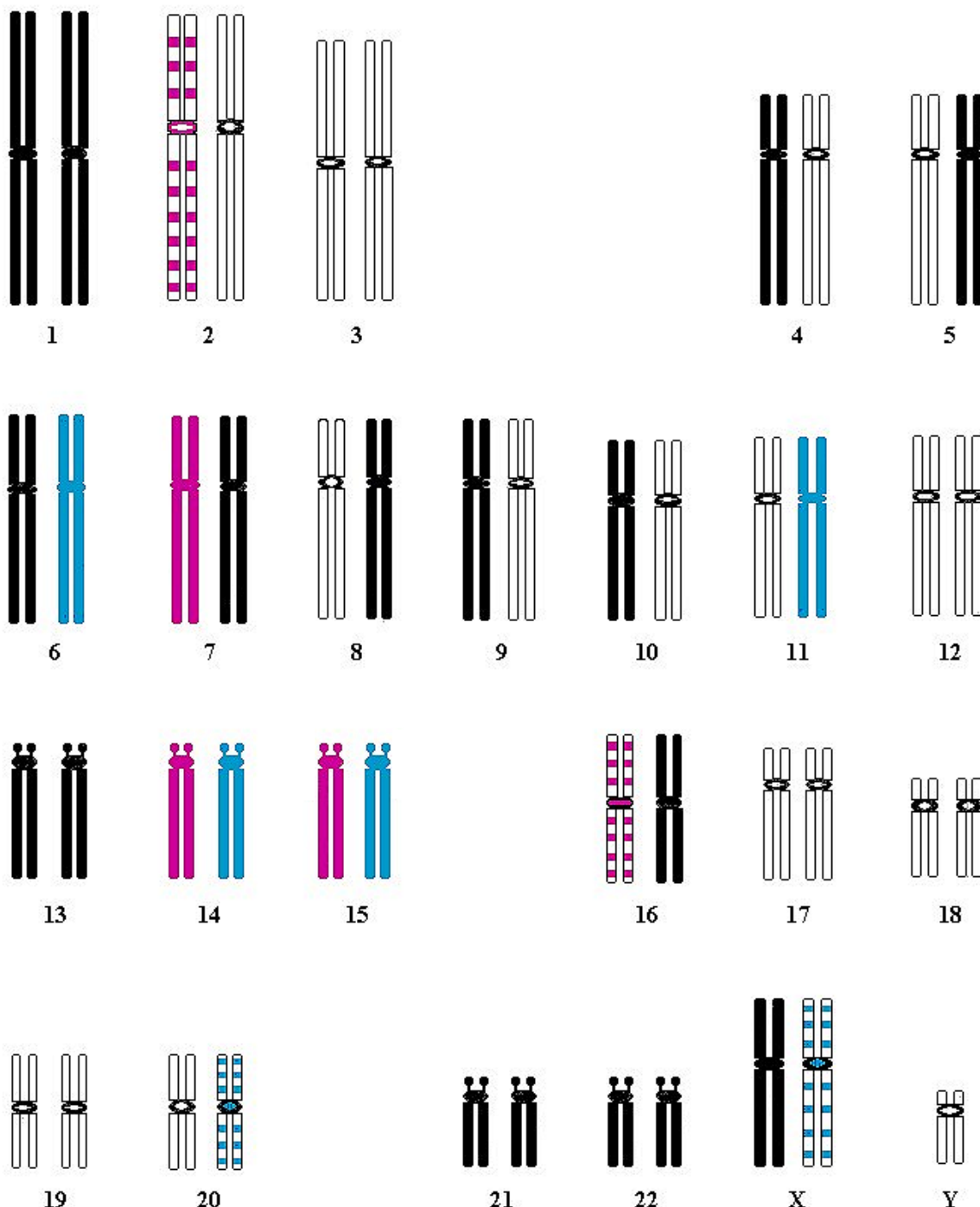
Angelman



Prader-Willi

Mapa imprintovaných chromosomů člověka:

maternálně či
paternálně
umlčované lokusy

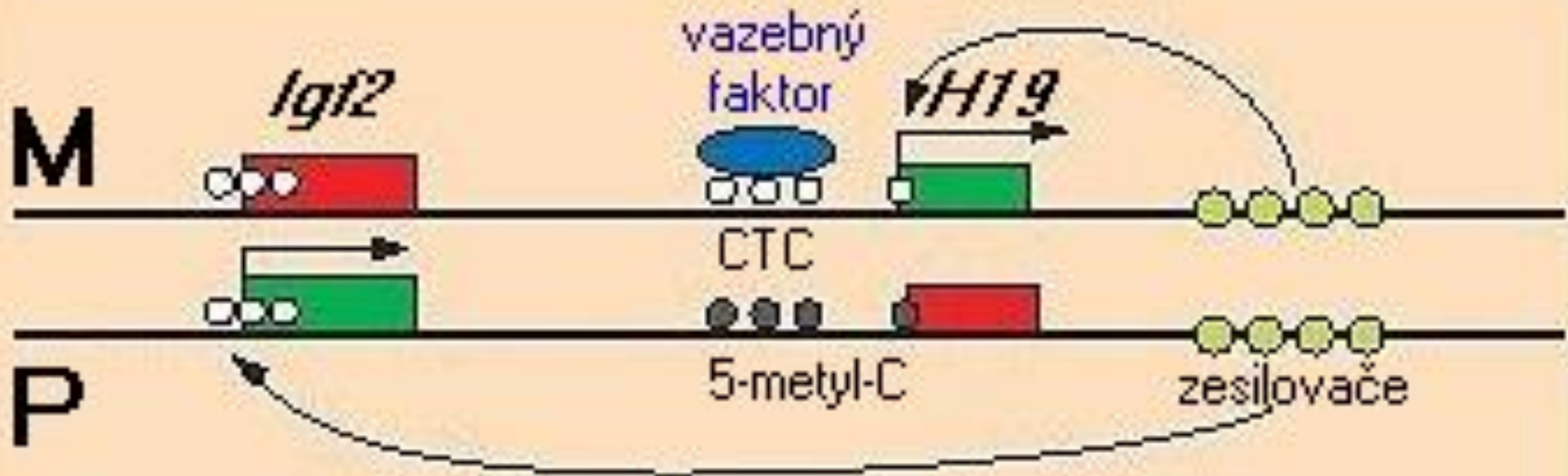


	imprinting prokázán
	i. pravděpodobný
	i. nepravděpodobný
	žádný případ uniparentální exprese

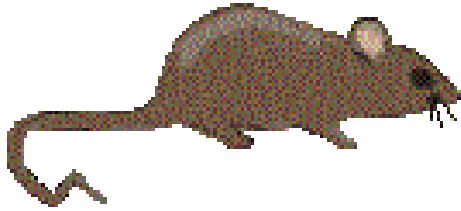
Imprintované geny jsou na chromosomech lokalizovány ve shlicích s reciprokým maternálním a paternálním umlčením

Odlišná exprese sousedních genů je zajišťována funkcí rozhraní: vazba regulačního faktoru na CTC-sekvenci
CHROMATIN INSULATOR (izolátor)

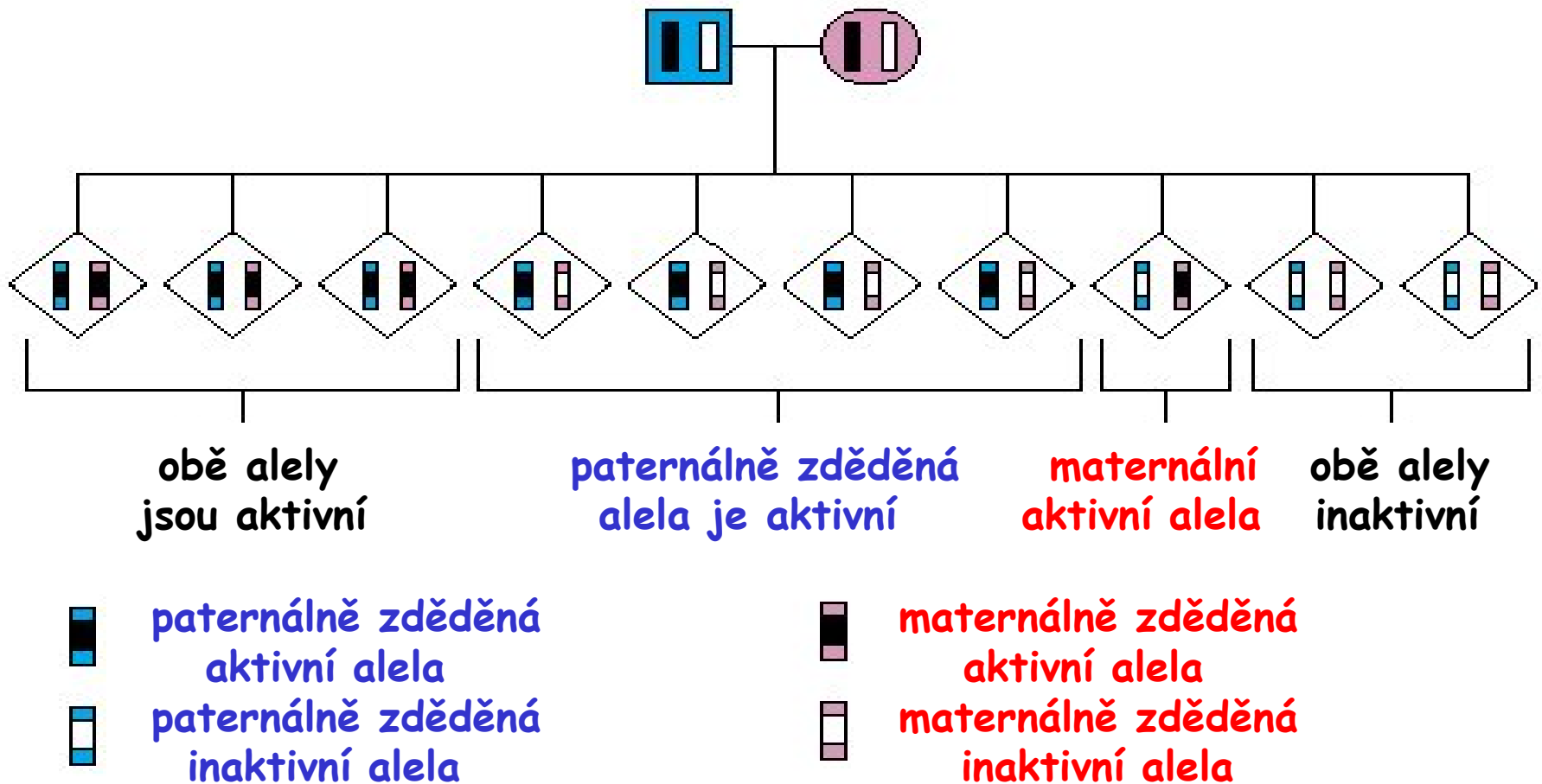
Shirley Tilghman, Princeton 2000



Případ metastabilní epialely *Axin Fused* :



paternální exprese, lokus *kinked tail* je však epigeneticky labilní, expresivita variabilní



retroelement

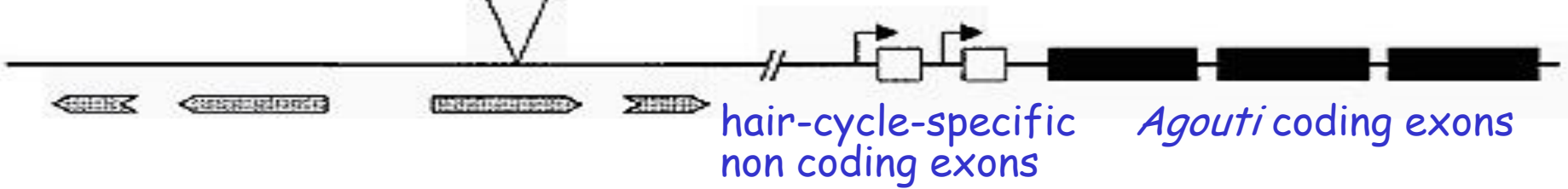


eumelanin

agouti



phaeomelanin



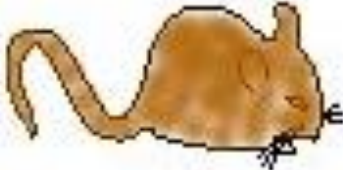


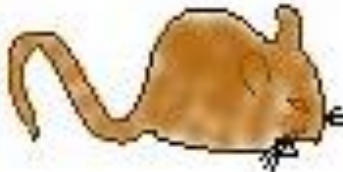

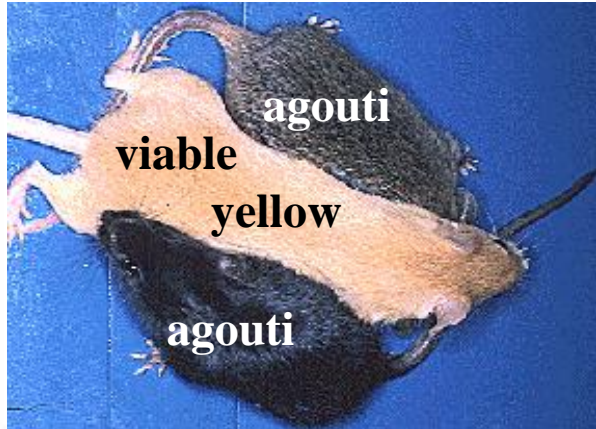

Agouti Viable Yellow - epigenetický mozaicismus : metylace retroelementu vede k inaktivaci ektopické exprese



žlutá myš :
hypometylace
alely *Avy*
→ ektopická
exprese
agouti

tmavá myš :
hypermetylace
alely *Avy*
→ umlčení *agouti*
= pseudoagouti

Epigenetický stav (metylace) determinuje relativní dominanci metastabilních alel

wt	heterozygoti	homozygoti
		
A / A	A^{vy} / A	A^{vy} / A^{vy}
		
	$mC-A^{vy} / A$	$A^{vy} / mC-A^{vy}$
 <p data-bbox="426 1058 707 1322">agouti viable yellow agouti</p>		 <p data-bbox="1141 1265 1605 1315">$mC-A^{vy} / mC-A^{vy}$</p>

Fenotypová (maternální) dědičnost

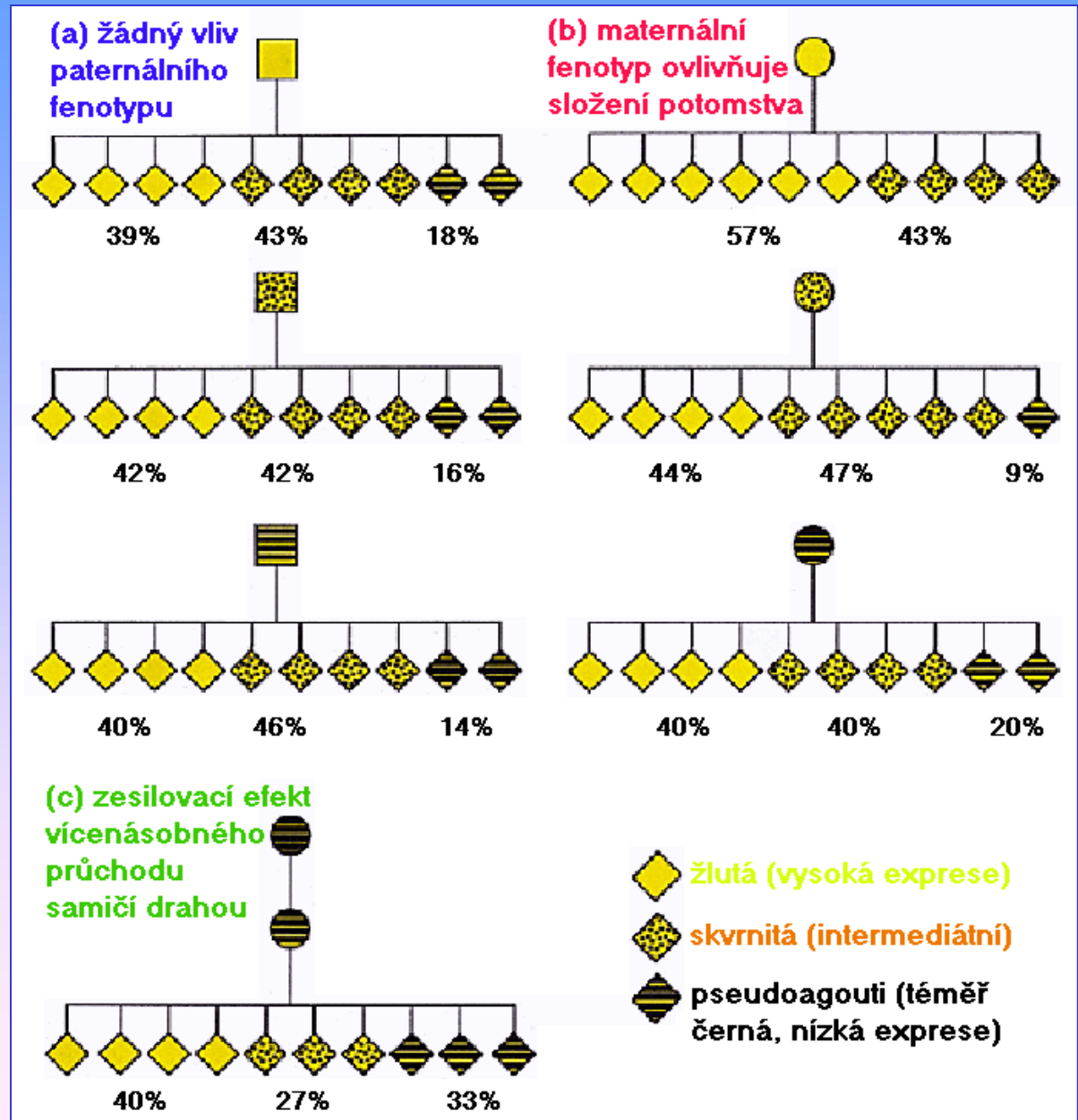
Viable Yellow

A^{vy}/a x a/a

výsledky
reciprokých křížení
s recesivním
mutantem



Emma Whitelaw
(Sydney 1999)



Dieta matky rozhoduje o metylaci promotoru retroelementu *Agouti*



Avy potomstvo (% z celku)



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}

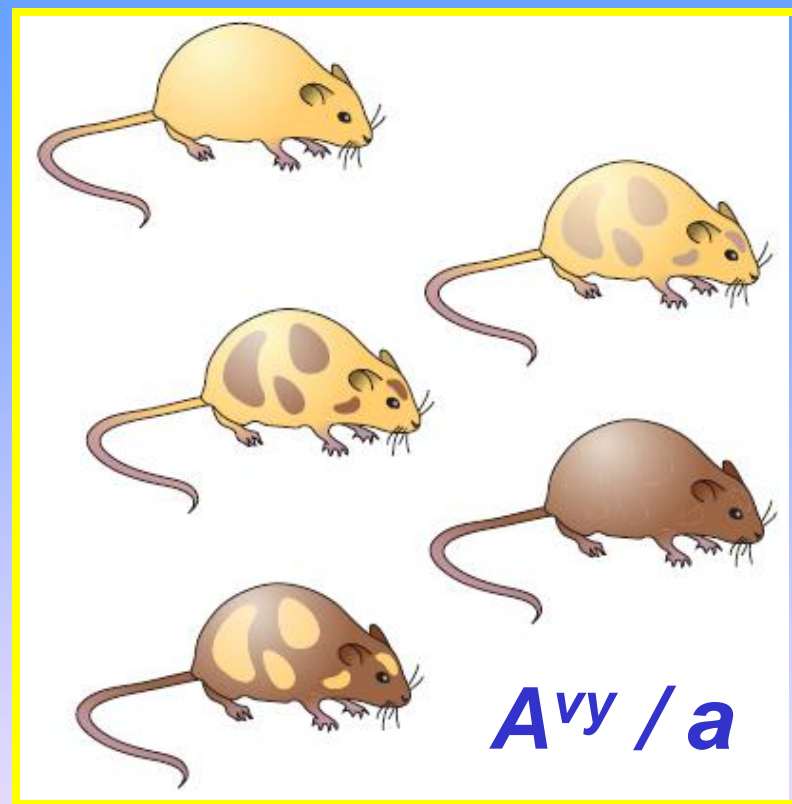
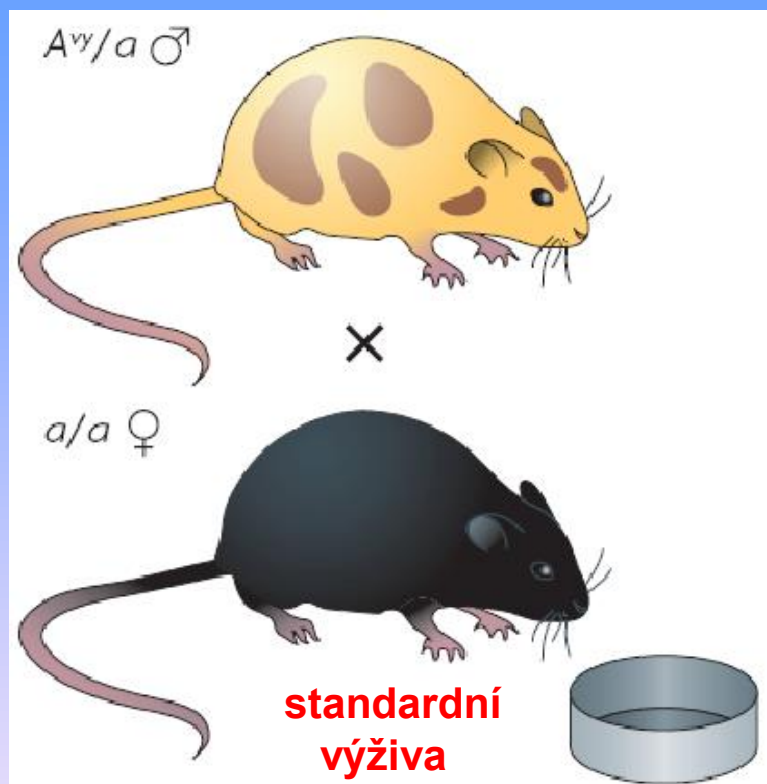
¹Department of Radiation Oncology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA; ²University Program in Genetics and Genomics, and ³Integrated Toxicology Program, Duke University, Durham, North Carolina, USA; ⁴Department of Pediatrics, and ⁵Department of Molecular and Human Genetics, Baylor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

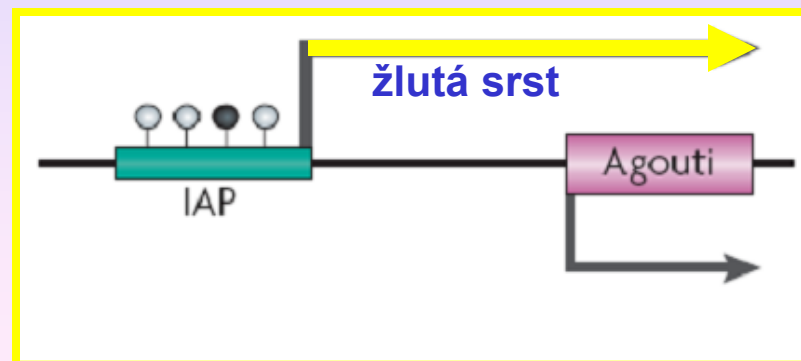


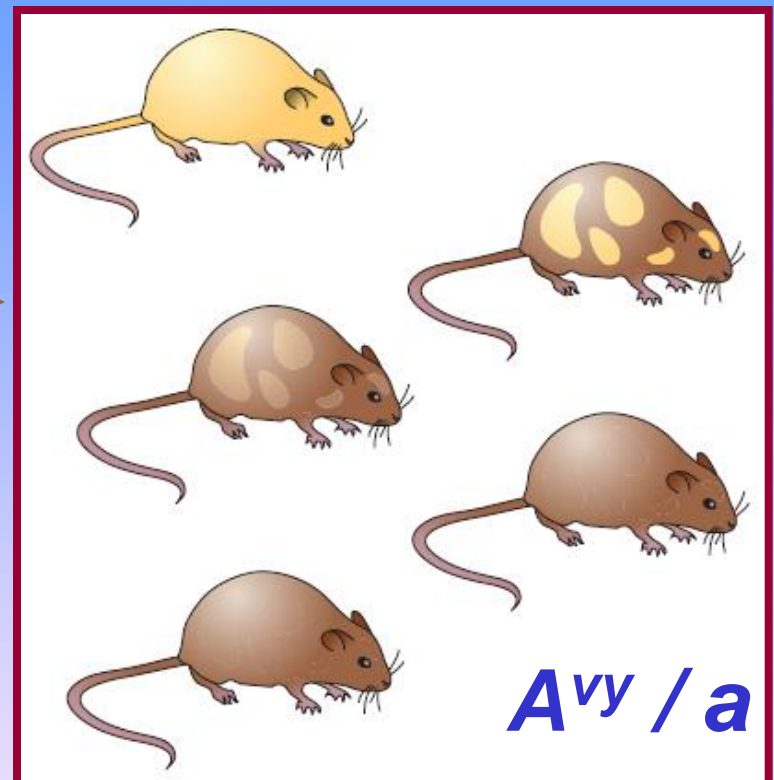
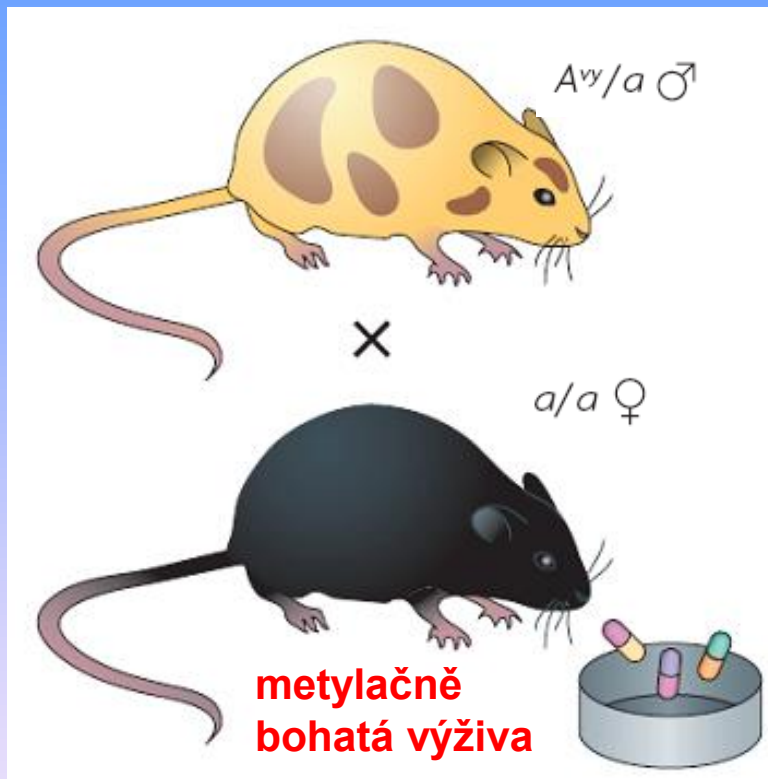
+ GENISTEIN



Nedostatečný CH_3 -metabolismus gravidní samičky nezajistí metylaci paternálního transposonu

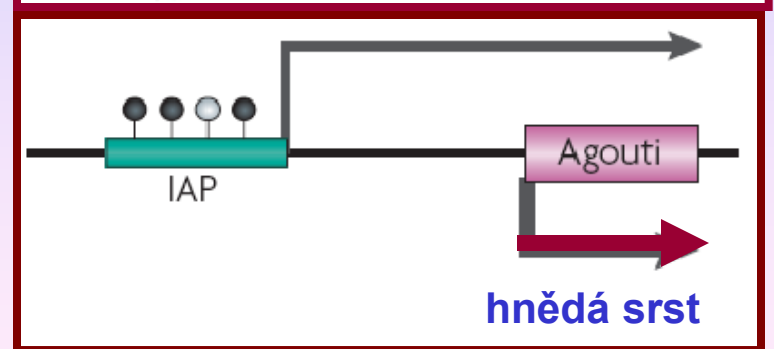
... ektopická exprese *Agouti*

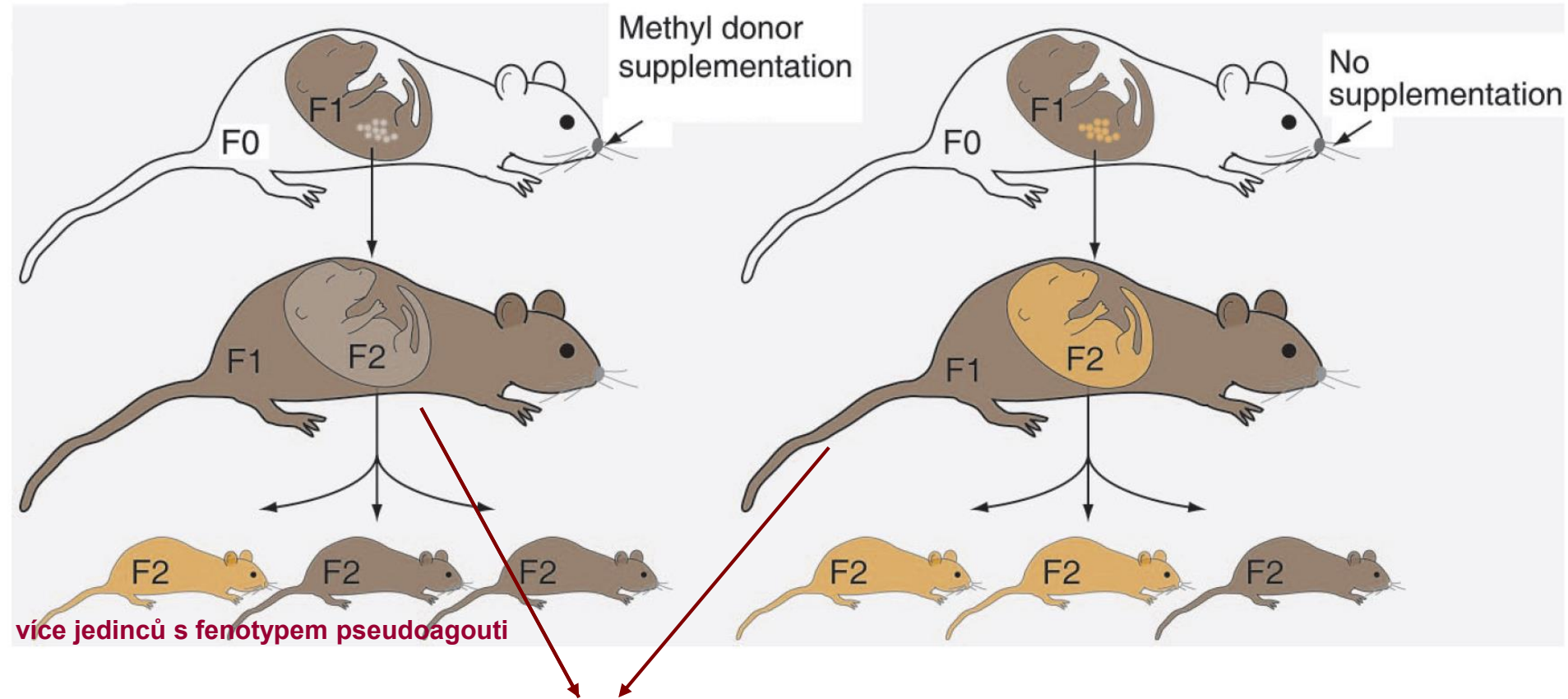




Maternální CH_3 metabolismus-podporující dieta zvyšuje metylaci paternálního genomu v potomstvu

... přirozená exprese genů



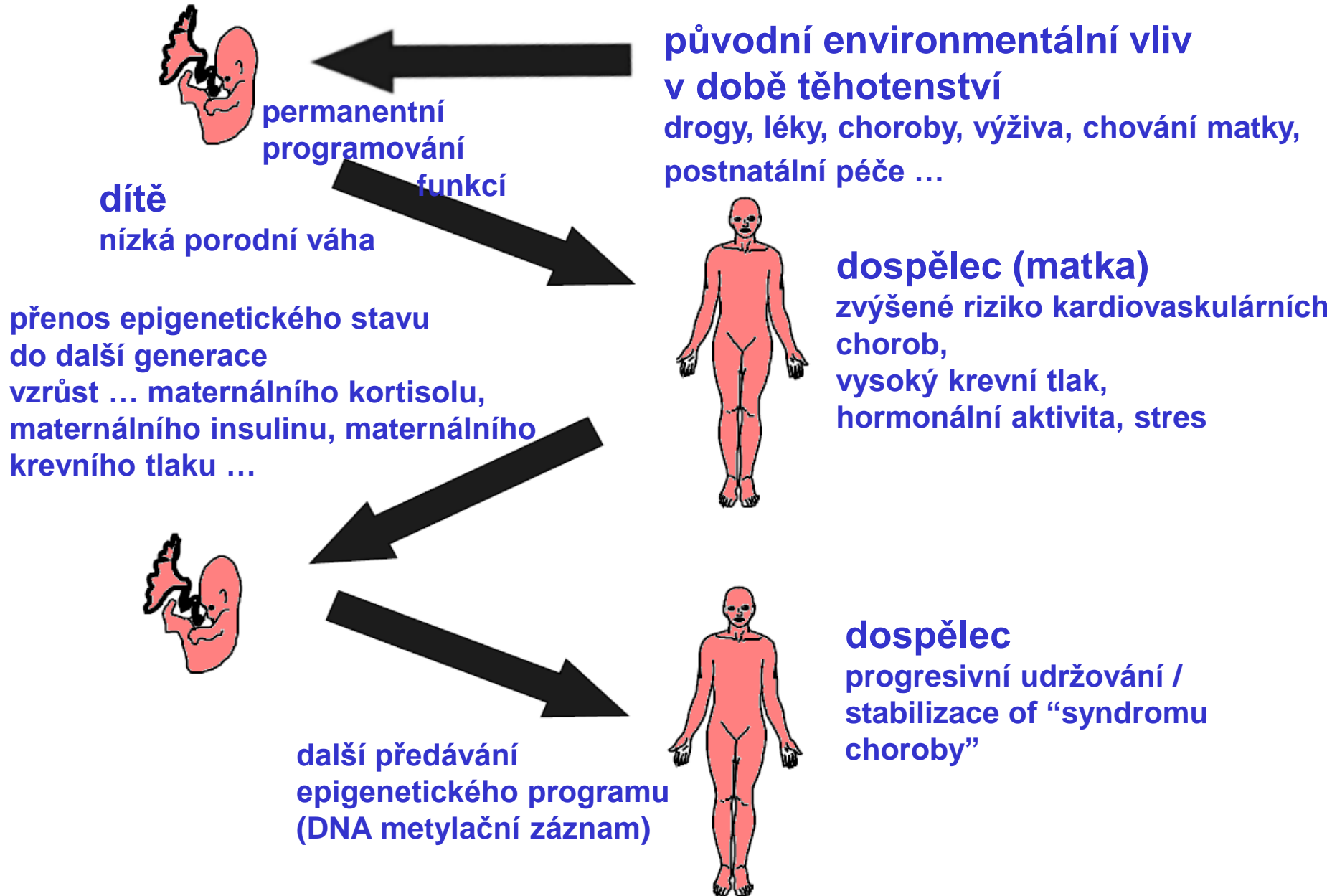


Tyto dvě myši mají stejný genotyp (A^{vy}/a) i fenotyp (pseudoagouti) ... ale odlišné potomstvo

PNAS 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

Epigenetické „intergenerační“ programování porodní váhy a rizika ke kardiovaskulárním chorobám



Klasifikace epigenetických jevů podle

(i) mechanismu přenosu informace

- DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

(ii) pravděpodobnosti jevu

- obligatorní, pravděpodobné, stochastické

(iii) vzdálenosti přenosu informace

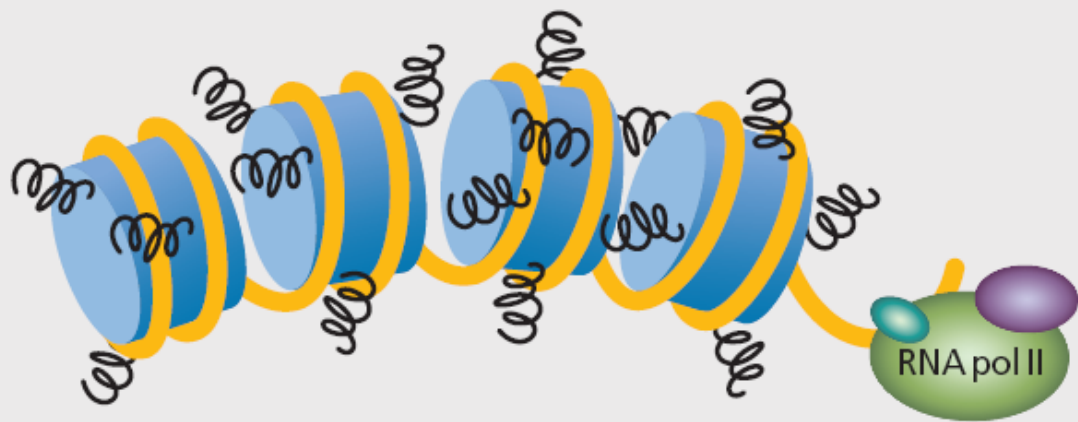
a délky jejího trvání

- mitotický bookmarking, meiotická

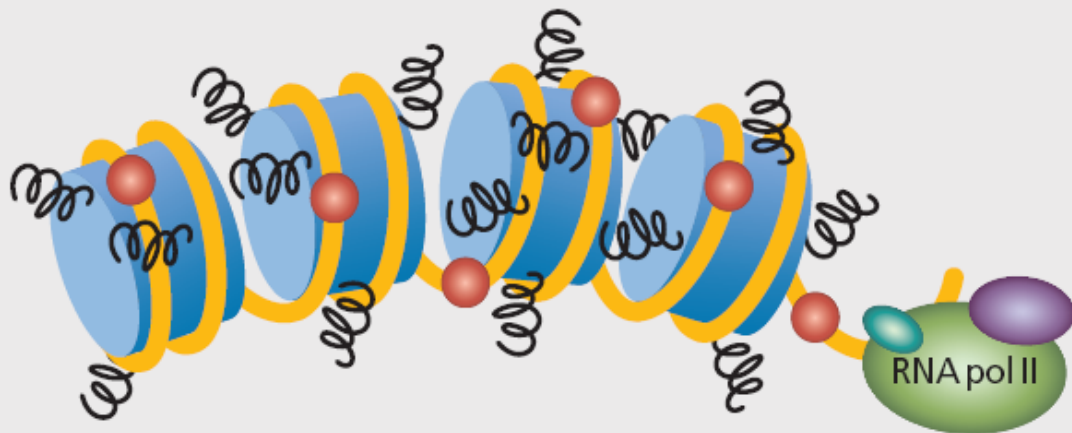
transmise

One Epigenetic Mechanism for Repressing Transcription

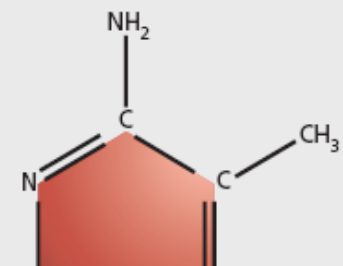
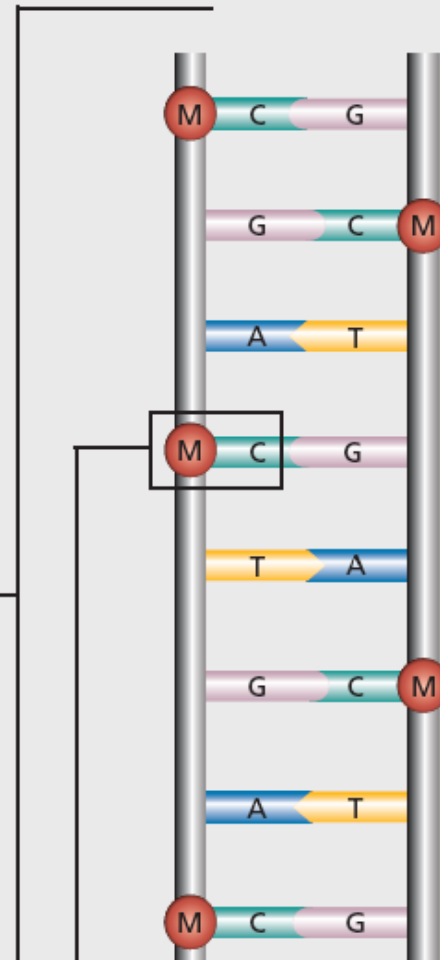
DNA modifikace: metylace cytosinu



Methyltransferases attach methyl groups to DNA



Protein complexes, recruited to methylated DNA, remove acetyl groups and repress transcription





ARTICLES

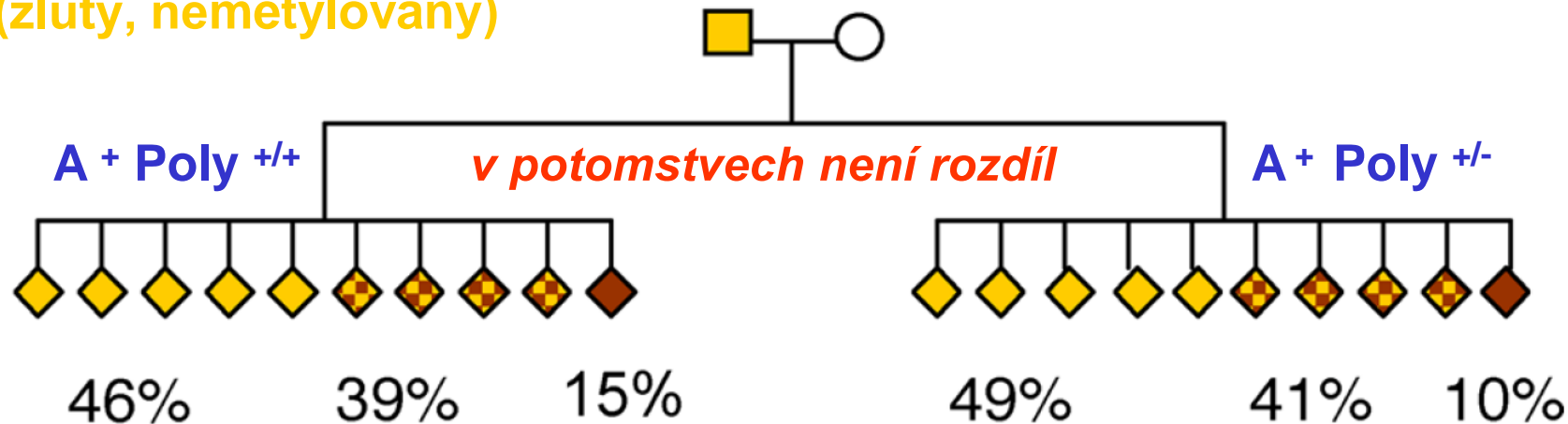
RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse

Minoo Rassoulzadegan^{1,2}, Valérie Grandjean^{1,2}, Pierre Gounon³, Stéphane Vincent^{1,2,†}, Isabelle Gillot^{1,2} & François Cuzin^{1,2}

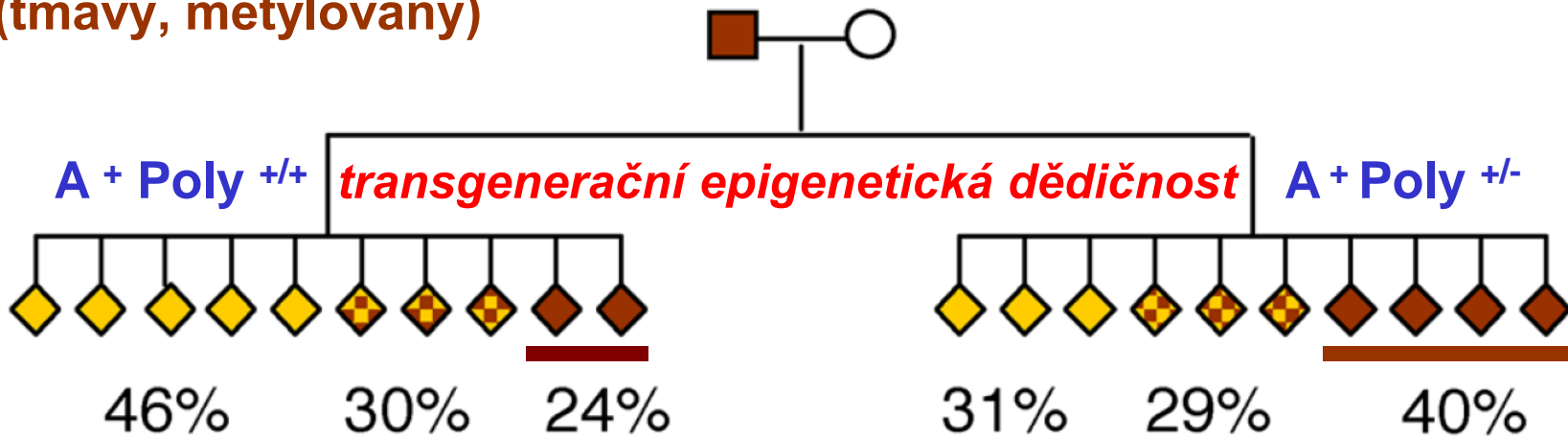
Paramutation is a heritable epigenetic modification induced in plants by cross-talk between allelic loci. Here we report a similar modification of the mouse *Kit* gene in the progeny of heterozygotes with the null mutant *Kit*^{tm1Alf} (a *lacZ* insertion). In spite of a homozygous wild-type genotype, their offspring maintain, to a variable extent, the white spots characteristic of *Kit* mutant animals. Efficiently inherited from either male or female parents, the modified phenotype results from a decrease in *Kit* messenger RNA levels with the accumulation of non-polyadenylated RNA molecules of abnormal sizes. Sustained transcriptional activity at the postmeiotic stages—at which time the gene is normally silent—leads to the accumulation of RNA in spermatozoa. Microinjection into fertilized eggs either of total RNA from *Kit*^{tm1Alf/+} heterozygotes or of *Kit*-specific microRNAs induced a heritable white tail phenotype. Our results identify an unexpected mode of epigenetic inheritance associated with the zygotic transfer of RNA molecules.

Molekuly RNA jako mediátory mezibuněčné a mezigenerační informace

samec Agouti vy/a Polycomb $+/+$ x samice $A^{a/a}$ Polycomb $+/-$
 (žlutý, nemetylovaný)



samec Agouti vy/a Polycomb $+/+$ x samice $A^{a/a}$ Polycomb $+/-$
 (tmavý, metylovaný)



◆ yellow

◆ mottled

◆ pseudoagouti

Klasifikace epigenetických jevů podle

(i) mechanismu přenosu informace

- DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

(ii) pravděpodobnosti jevu

- obligatorní, pravděpodobné, stochastické

(iii) vzdálenosti přenosu informace

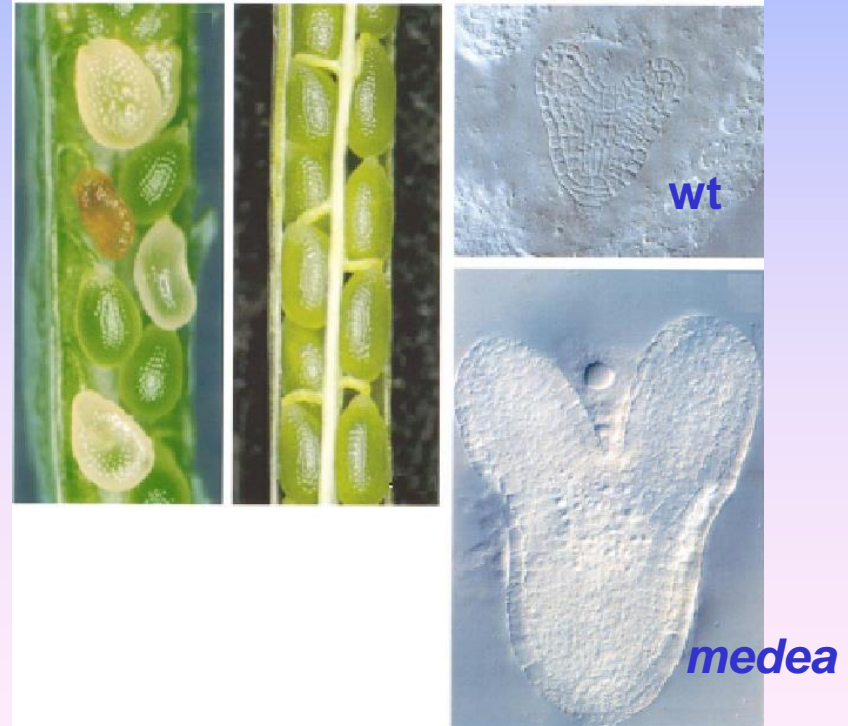
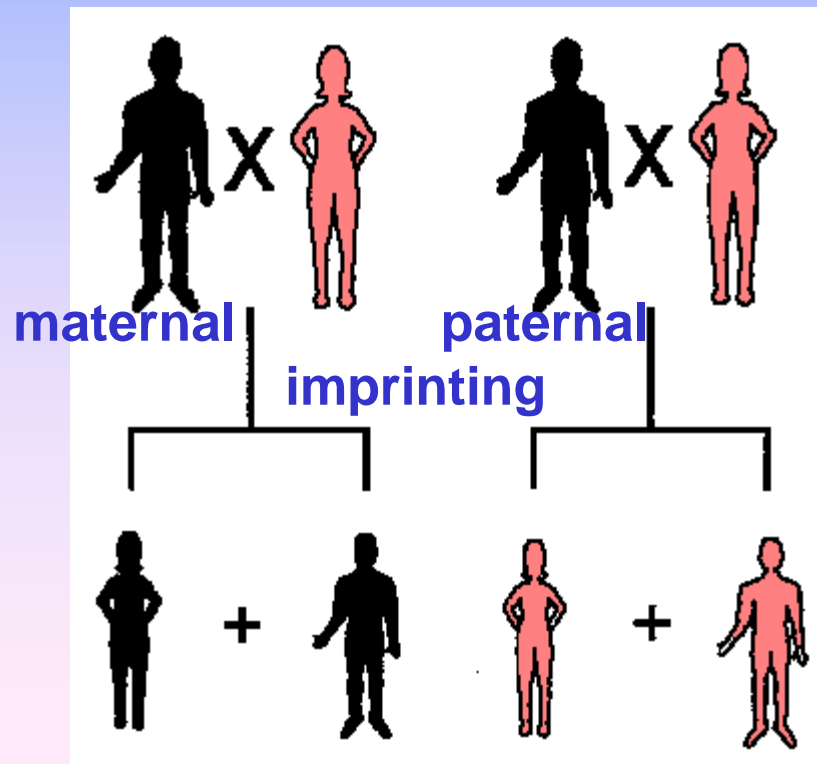
a jejího trvání

- mitotický bookmarking, meiotická transmis

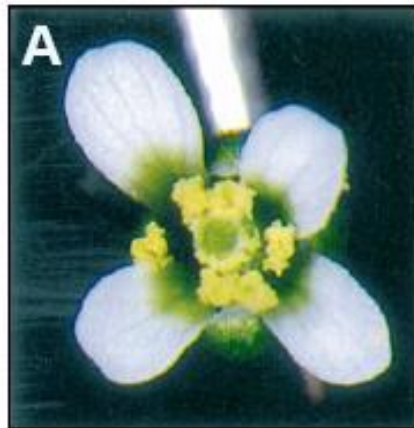
Obligatní epigenetické jevy

Penetrance a expresivita jsou vysoké.

Př: *parent-specific imprinting u savců*,
maternální exprese genu MEDEA u rostlin



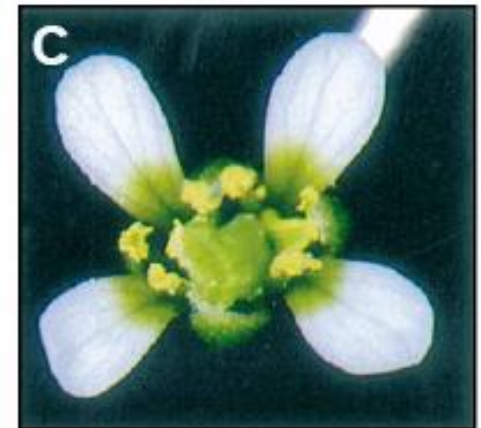
SUPERMAN – epigeneticky citlivý katastrální květní gen



(A) Wild-type Landsberg erecta (Ler) flower showing the normal number of six stamens and the central gynoecium, which consists of two fused carpels.



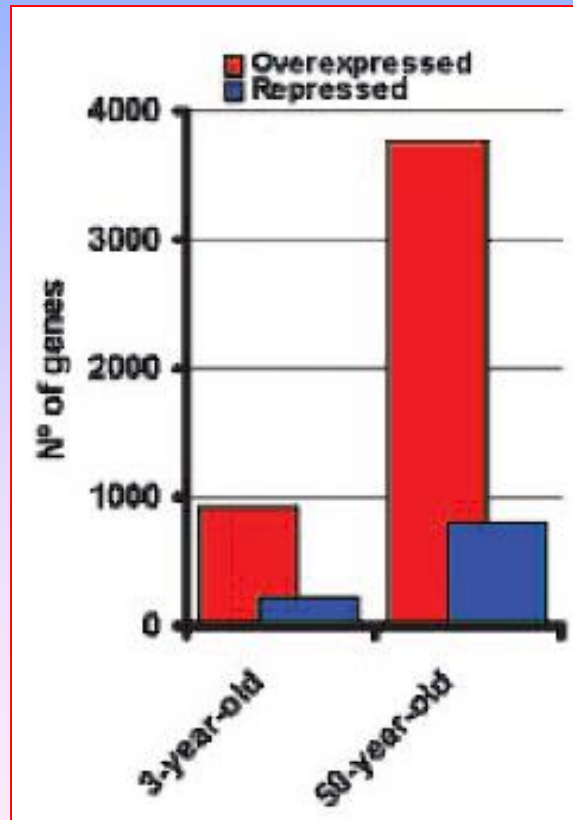
(B) Flower from a *sup-5* homozygote containing 11 stamens and three incompletely fused carpels.



(C) Flower from a *clk-3* homozygote containing nine stamens and three incompletely fused carpels.

„Náhodná“ epigenetická variabilita

Příklad: divergence epigenotypu v průběhu stárnutí v somatických liniích buněk člověka



Klasifikace epigenetických jevů podle

(i) mechanismu přenosu informace

- DNA, RNA, histony, jiné proteiny ?

(ii) pravděpodobnosti jevu

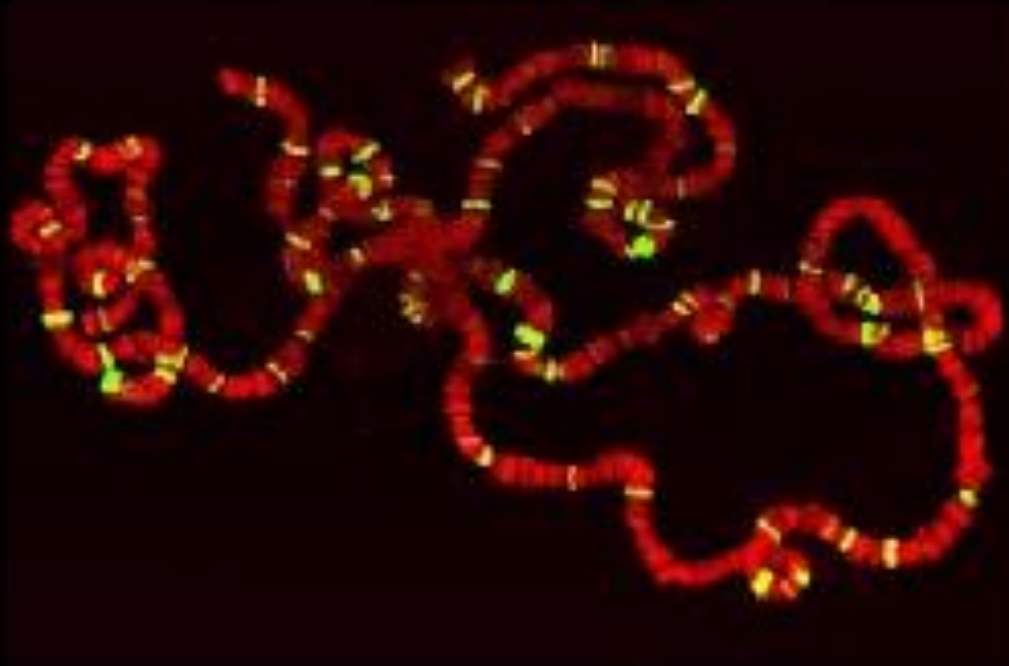
- obligatorní, pravděpodobné, stochastické

(iii) vzdálenosti přenosu informace a délky jejího trvání

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

Buněčná paměť – Gene bookmarking

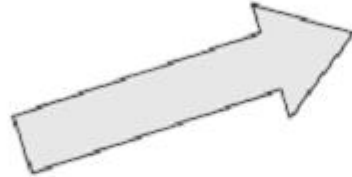
je epigenetický proces, kterým mitoticky se dělící buňky přenášejí specifické stavy svých genových aktivit



Localization of Polycomb protein on *Drosophila* polytene chromosomes

Maternální programování epigenetických stavů

Maternální péče jako model „experience-dependent“ chromatinové plasticity



mateřská péče o novorozence
(lízání a mazlení)

serotonin

mozkový transmitter

cAMP

cyklický adenosin monofosfát

PKA

protein kináza A

DNA demethylázy

histon-acetyltransferázy

NGFI-A

mozkový transkripční faktor

Ac

NGFI-A

Ac

CH₃ CH₃

DNMT

DNA-metyltransferáza

ŠPATNÁ MATEŘSKÁ PÉČE

nízká exprese genu GR,

STRESOVÁ PSYCHIKA

DOSPĚLÉHO POTOMSTVA

(CH₃ = metylace DNA)

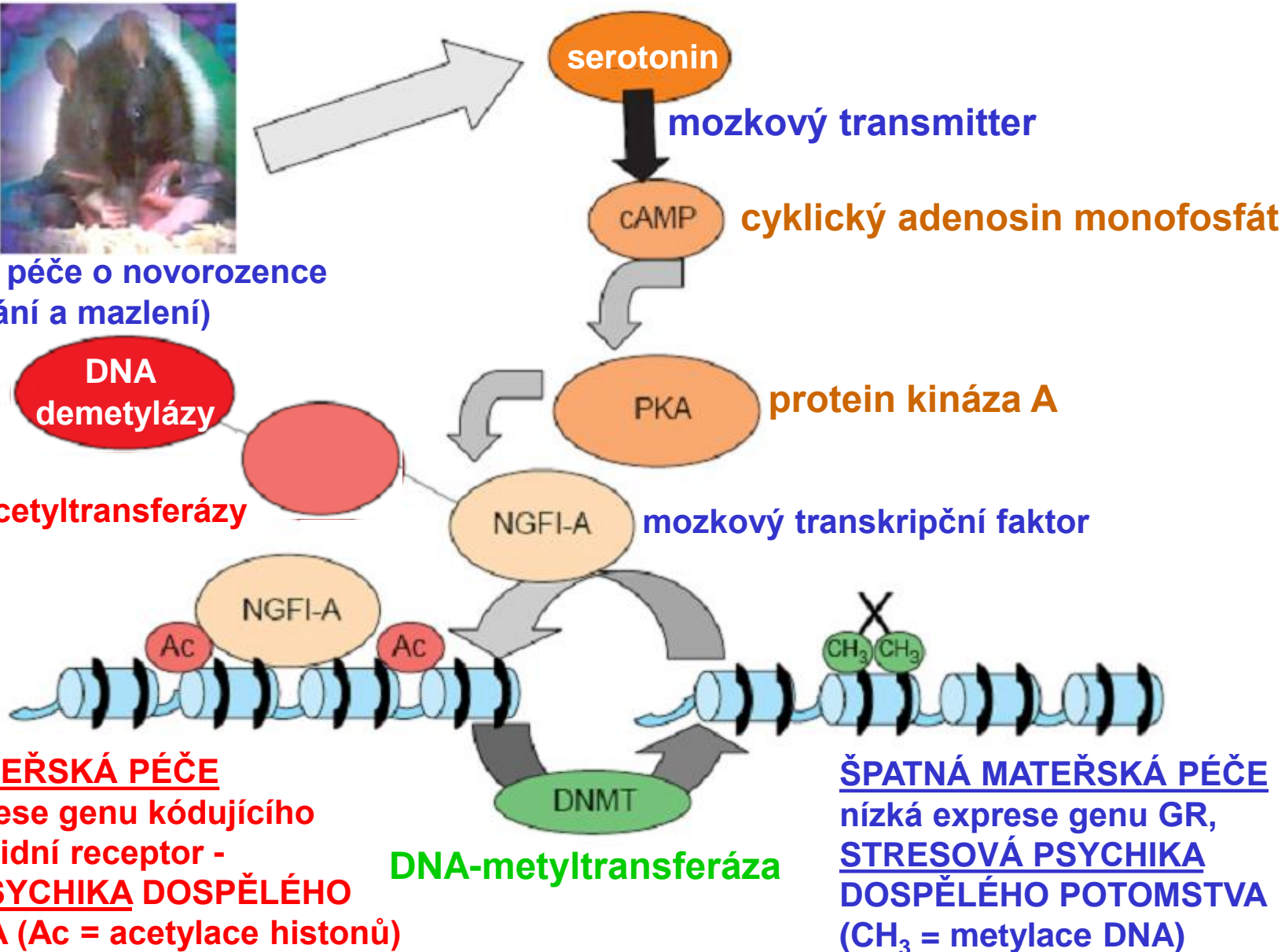
DOBŘÁ MATEŘSKÁ PÉČE

vysoká exprese genu kódujícího

glukokortikoidní receptor -

STABILNÍ PSYCHIKA DOSPĚLÉHO

POTOMSTVA (Ac = acetylace histonů)



Co vlastně kódují imprintované geny ?

- ⇒ nádorové supresory (WT1)
- ⇒ protoonkogeny (Mas)
- ⇒ růstové faktory (hormon insulín)
- ⇒ transkripční faktory (s α -helixem či chromodoménou)
- ⇒ protein-nekódující RNA (Xist)

Jaké jsou nejčastější poruchy imprintingu ?

- ⇒ bialelická exprese (BAE)
- ⇒ monoalelická exprese (MAE)
- ⇒ ztráta heterozygotnosti (LOH, maternální či paternální)

Evolve imprintingu



ptakopysk (vejcorodí)

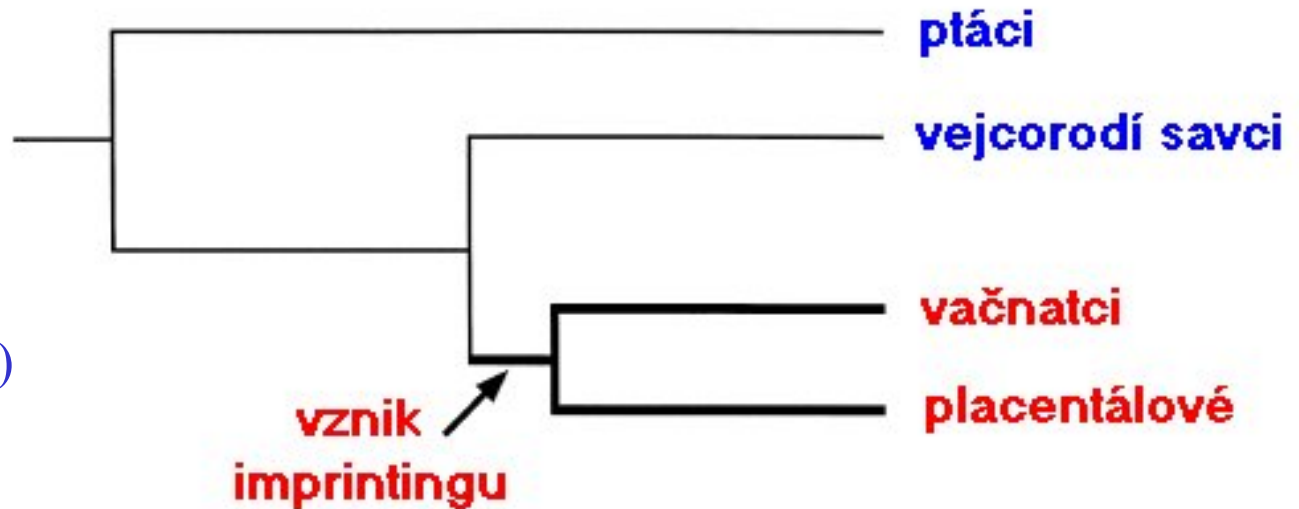


koala (vačnatci, živorodí)



Randy Jirtle & Keith Killian (placentálové) Durham 2001

350		208		146		65		milionů let	
prvohory		druhohory				kenozoikum			
karbon	perm	trias	jura	křída	třetihory	čtvrtohory			



- + endosperm krytosemenných rostlin
- + celé chromosomy některých druhů hmyzu

Poruchy imprintingu u mezidruhových hybridů myší



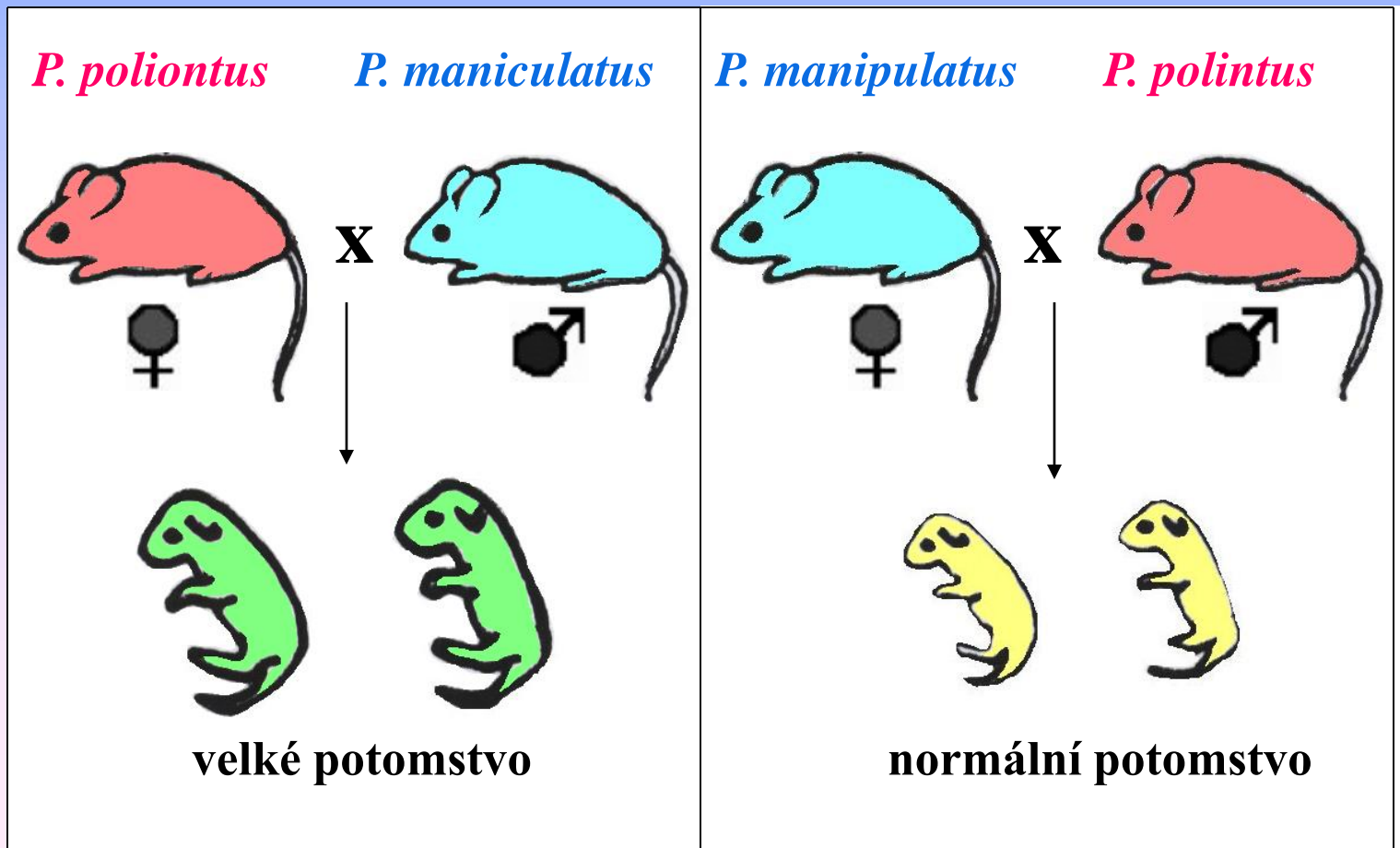
Peromyscus poliontus - monogamní
P. maniculatus - polygamní



Wallace Dawson
(Ohio 1965)

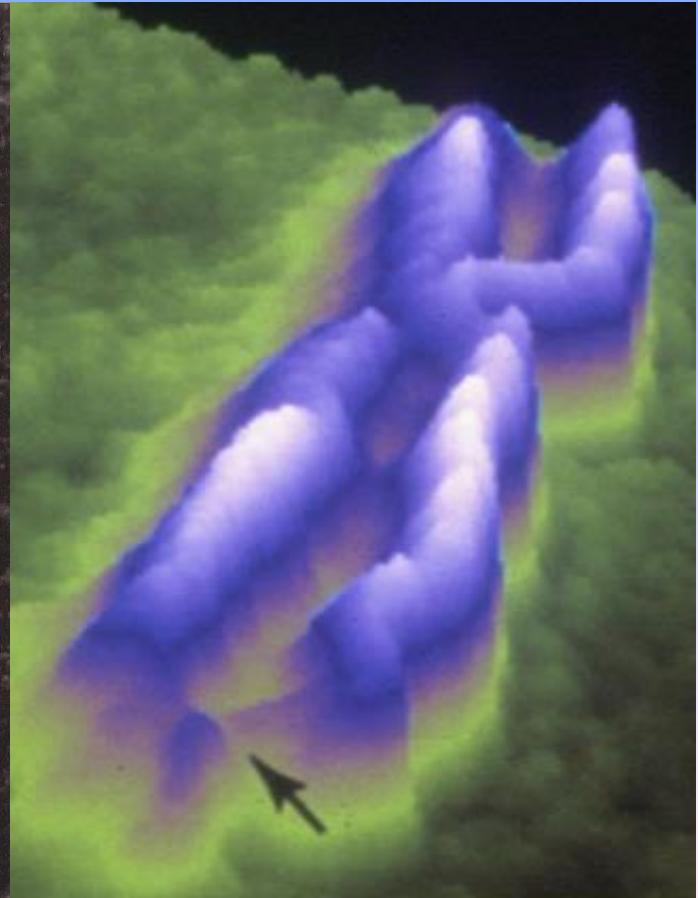
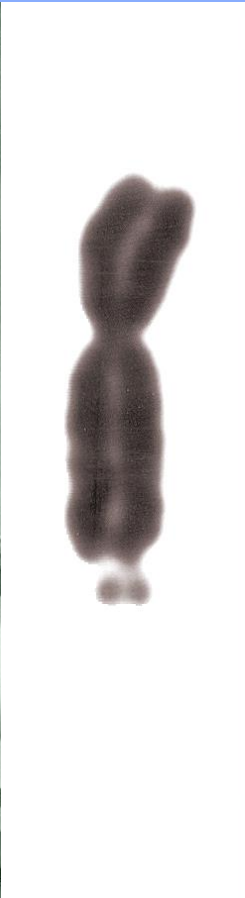
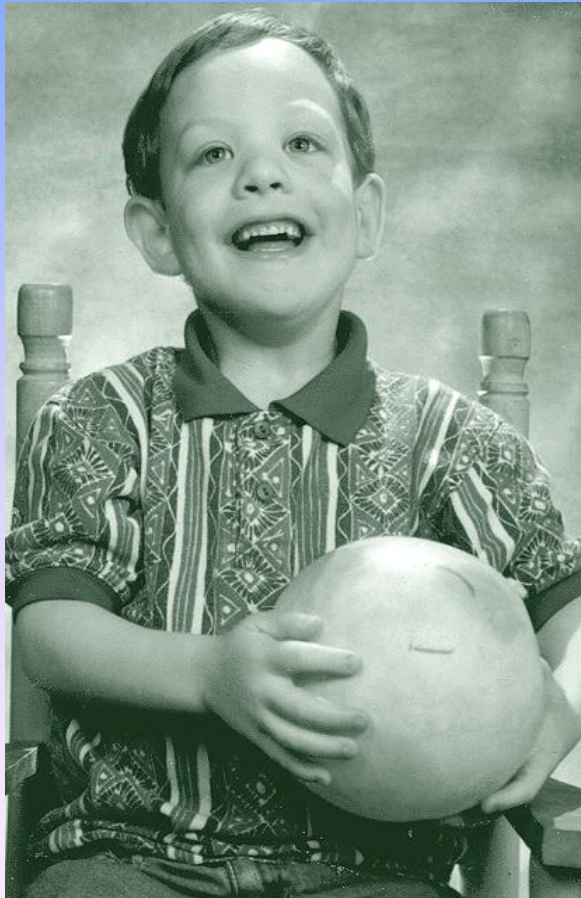


Paul B. Vrana
(Princeton 1998)



CHROMOSOM X

*může být inaktivní, fragilní, chytrý i sexy
(a především je „epigenetický“)*



Odlišné mechanismy kompenzace dávky genů nesených chromosomem X

