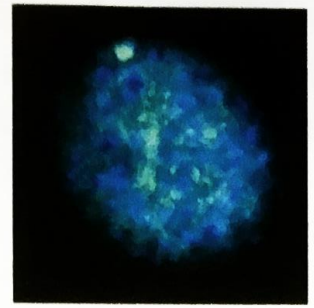
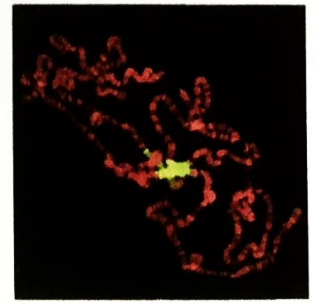
Twins



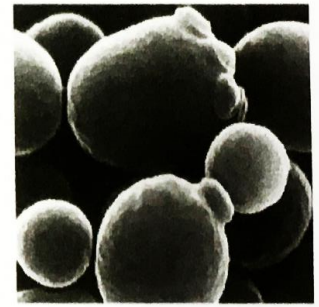
Barr body



Polytene chromosomes

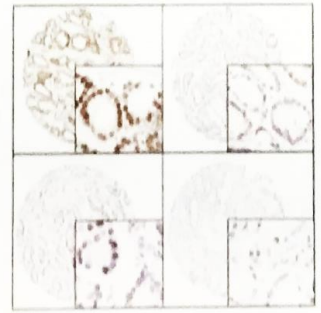
Cloned cat

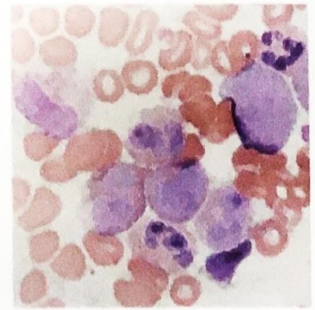
Epigenetic biology



Yeast mating types

Mutant plant



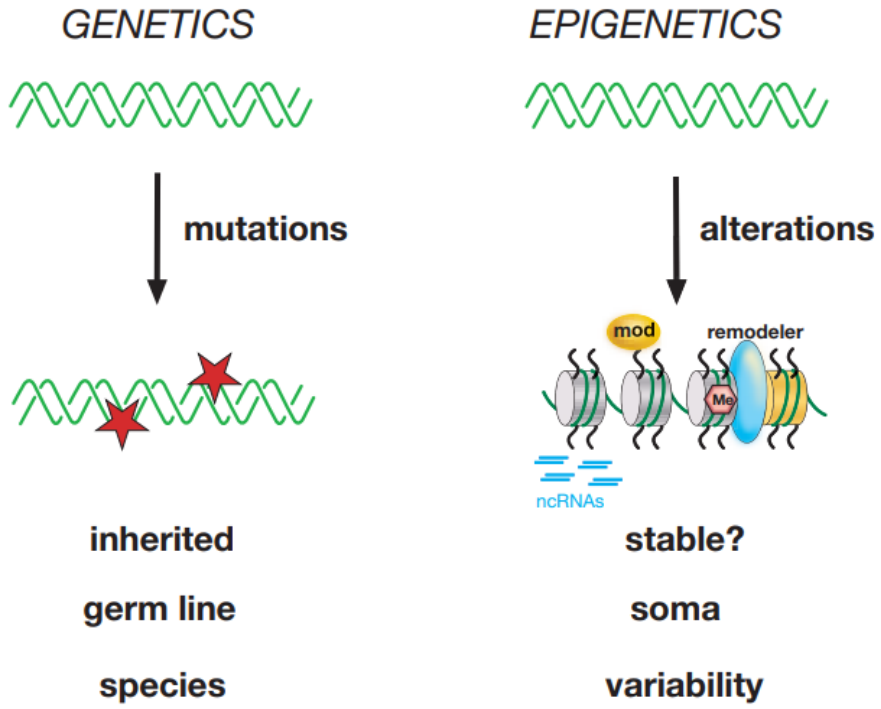


Blood smear

Epigenetika – definice

- Studium dědičných mitotických (a meiotických) změn v genové expresi, která se vyskytuje beze změny v primární struktuře DNA

- Ostatní definice nezahrnují nutně epigenetickou dědičnost mitotickým dělením



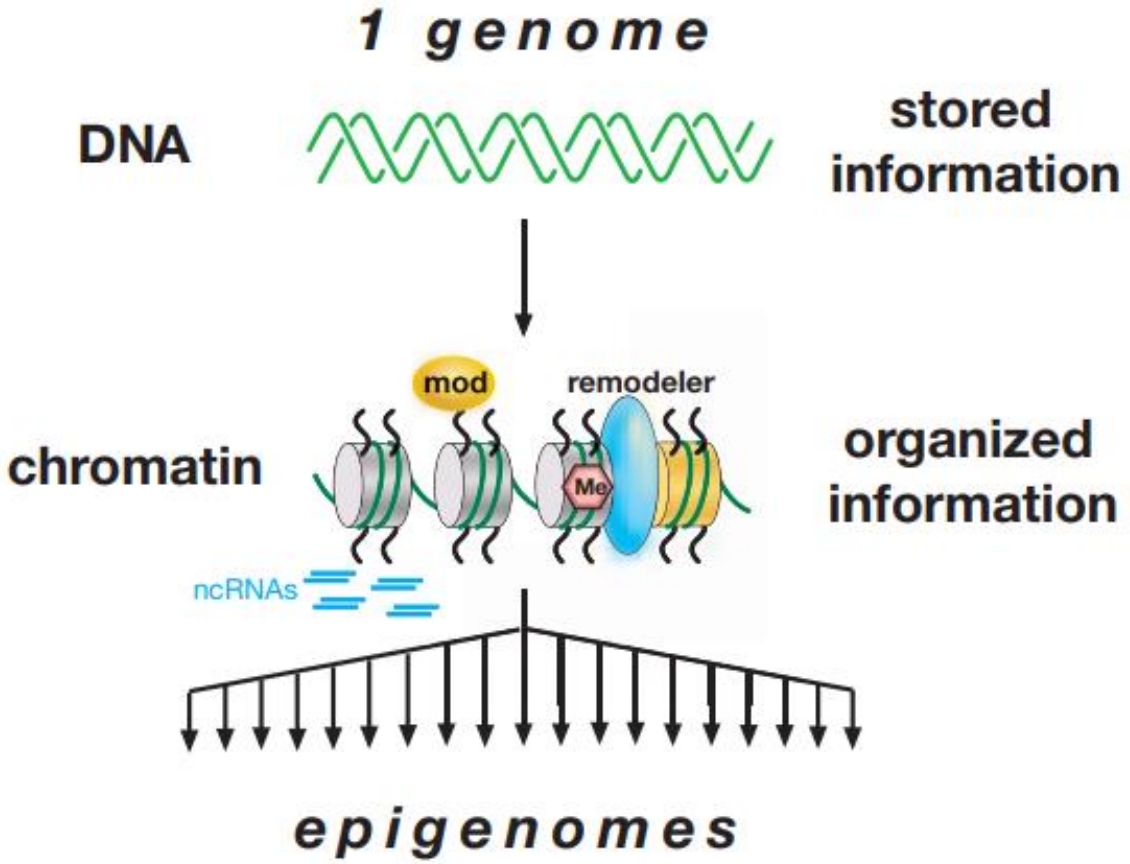
Epigenetika jako „vědecký jazyk“

?

- Termín epigenetika představuje vědní obor, studující změny v genové expresi a studující informaci nad DNA, která je nutná pro uskutečnění vývoje a bun. diferenciace

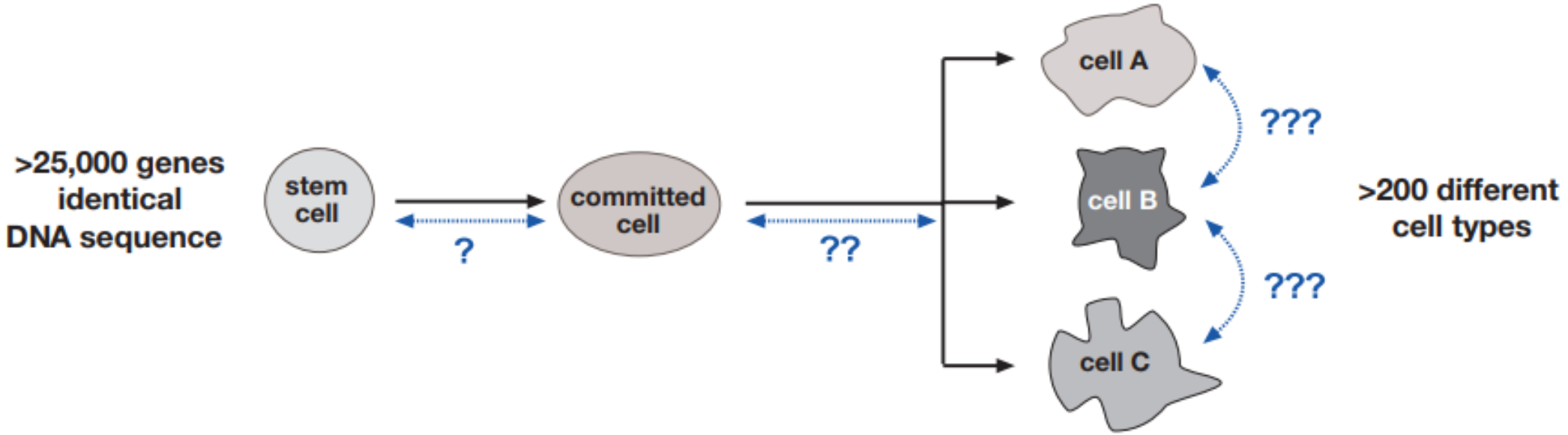
Každý buněčný typ je definován aktivitou specifické sady genů,
které jsou v čase a prostoru exprimovány

Definice základních pojmů



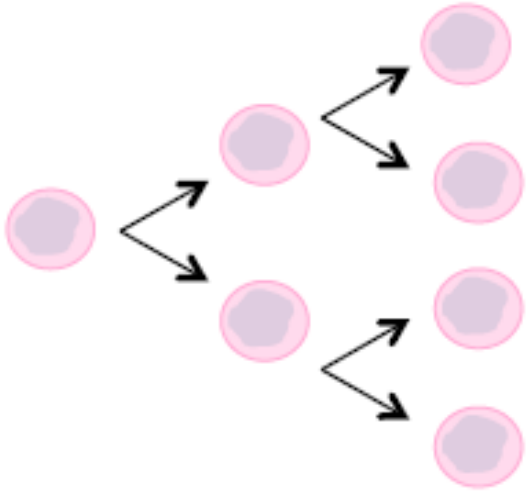
- **Genom** – veškerá genetická informace uložená v DNA (u některých virů v RNA) konkrétního jedince
- **Epigenom** – souhrn (záznam) chemických modifikací DNA a histonů, nebo dalších proteinů (**methylace**, **acetylace**, **sumoylace**…), konkrétního organismu (modifikace jsou dědičné)
- **Epimutace** – změna v chemické struktuře DNA, která nezahrnuje změnu v primární struktuře (mC, caC, fC..)

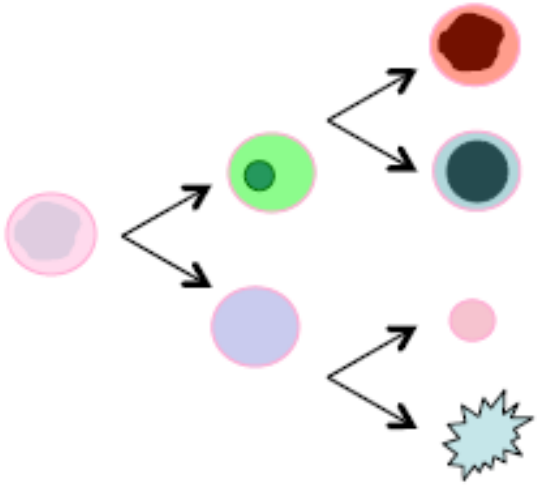
Význam epigenetiky na buněčné úrovni I



- **„c-value paradox“** – velikost genomu se nezvyšuje s komplexitou a složitostí organismů
- Regulace genové exprese a její realizace je uskutečňována na několika úrovních, každá buňka dostává specifickou informaci z okolí a z předchozího buněčného dělení (**epigenetická dědičnost**)

Význam epigenetiky na buněčné úrovni II

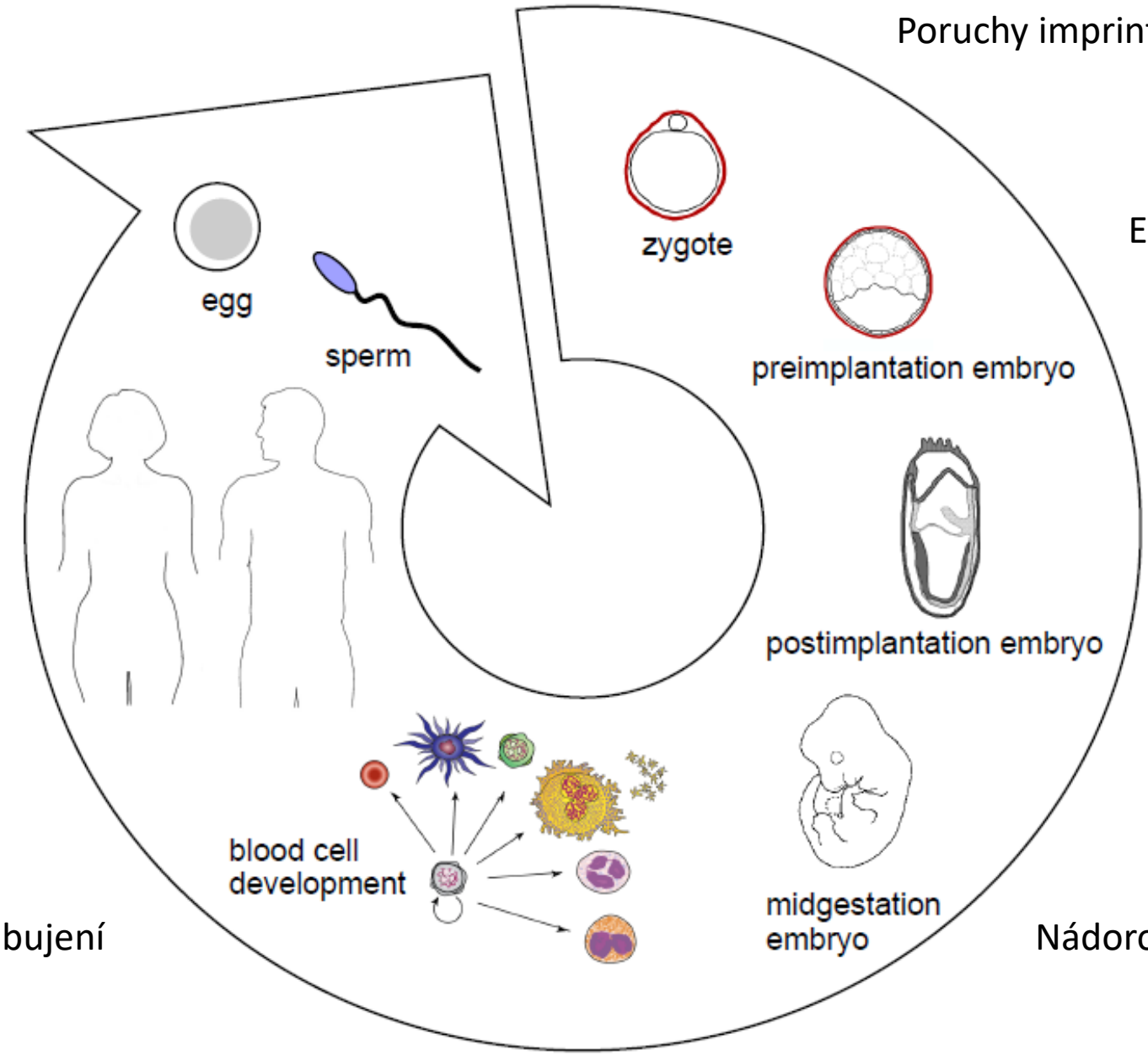




- Epigenetická dědičnost zajišťuje:
  - Expresi stejných genů v dceřiných buňkách
  - Tkáňovou homogenitu
- Absence epigenetické dědičnosti = tkáňová heterogenita (exprese různých genů, tkáňová chiméra)

Neplodnost

Poruchy imprintingu



Embryonální poruchy

Poruchy v diferenciaci

Placentální nedostatečnost

Nádorové bujení

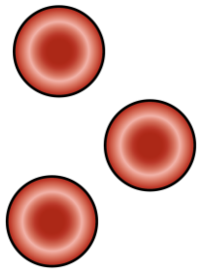
Nádorové bujení zárodečných buněk

Epigenetika jako „vědecký jazyk“

GENOVÁ EXPRESE

DNA ⟷ RNA → protein

NEURON
Hemoglobin -
Dopamin +
Myoglobin -



ČERVENÉ KRVINKY
Hemoglobin +
Dopamin -
Myoglobin -

SVALOVÉ BUŇKY
Hemoglobin -
Dopamin -
Myoglobin +

Epigenetika jako „vědecký jazyk“

GENOVÁ EXPRESE

DNA ⟷ RNA → protein

- Aktivita specifických transkripčních faktorů
- Epigenetické modifikace na úrovni DNA a histonů

Čeština využívá 42 písmen (26 latinka), epigenetika v přeneseném slova smyslu funguje stejným principem jako znaménka a formátování textu.

Epigenetika jako „vědecký jazyk“ a znaménka v češtině?

Epigentickemodifikacemohoubytpovazovanyzaznamenkaneboznackyvgenomuaneznalostvyznamutohotojazykajevyzvyvajiciprovsechynzacinajicivedce

- Epigenetický kód slouží jako:
  - Formátování/styl textu (=aktivita nebo represe genu)
  - definuje mezery mezi slovy (=vyznačuje začátek nebo konec genu)
  - Definuje znaménka a tedy i význam slov (=jak a kdy mají být geny čteny)
  - Definuje kapitoly a odstavce (=struktura chromatinu a potažmo celého chromozomu)

NEURON
Hemoglobin = epigeneticky umlčen
Dopamin = epigeneticky aktivní
Myoglobin =epigeneticky umlčen

SVALOVÉ BUŇKY
Hemoglobin = epigeneticky umlčen
Dopamin = epigeneticky inaktivní
Myoglobin = epigeneticky aktivní

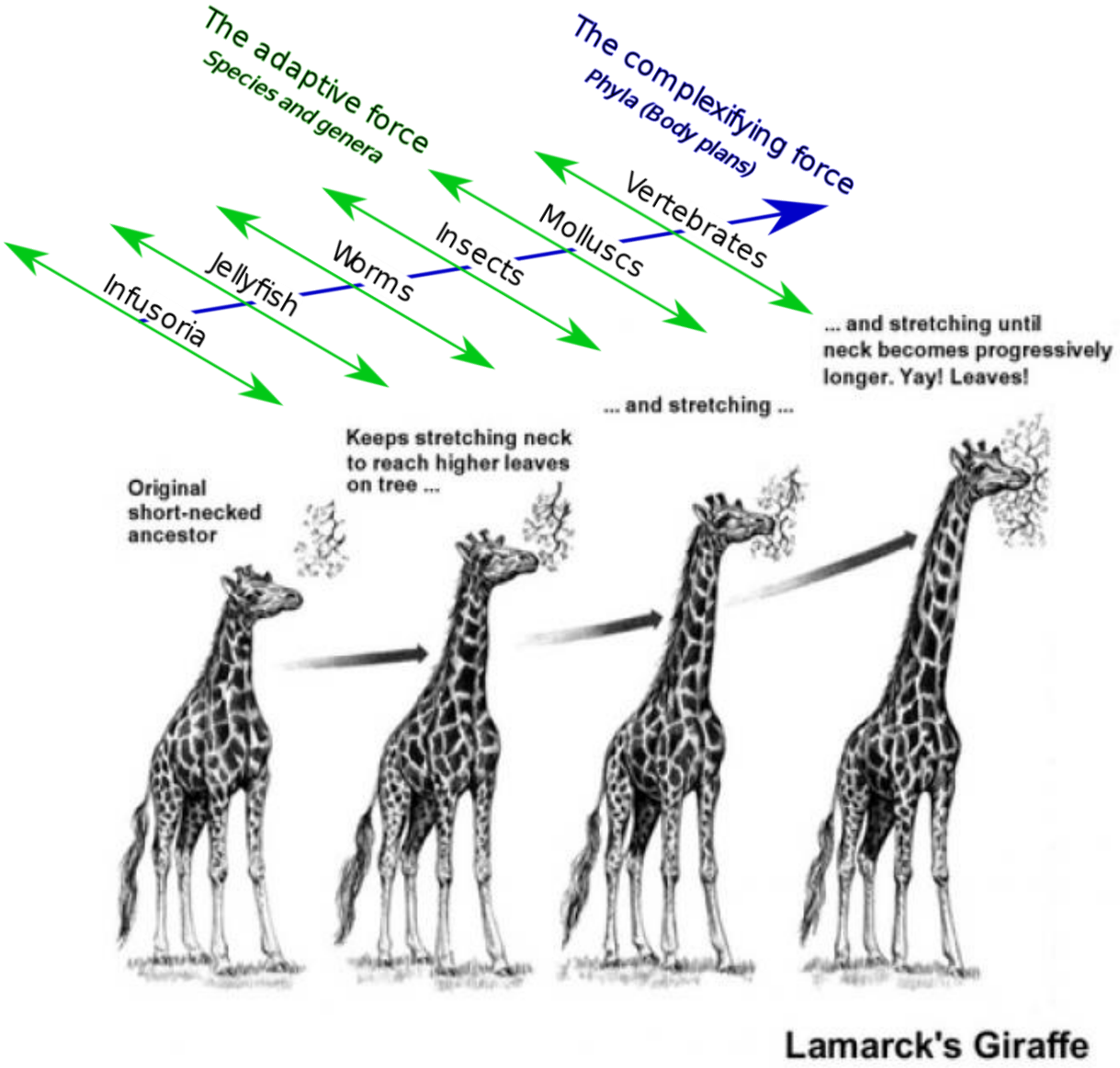
Počátky epigenetiky

Jean-Baptiste Lamarck 1744 - 1829

„Organismus může získat vlastnosti s užíváním a nevyužíváním orgánů, a tyto vlastnosti jsou předány do další generace.“

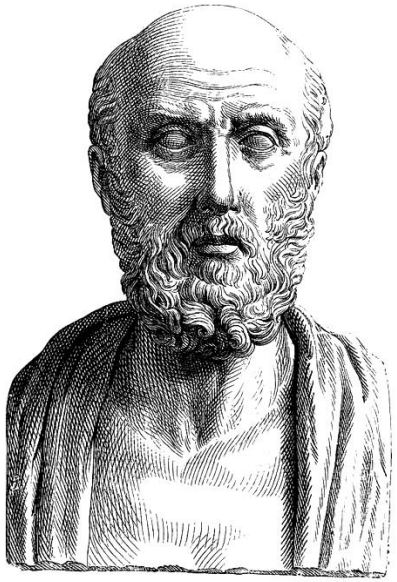
Lamarkismus

- **Teorie biologického vývoje**
  - **Vývoj probíhá od neživého k živému, od jednoduchého ke složitému, 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**



Teorie pangeneze

- J. B .Lamarck nebyl ale první, kdo teorii definoval, v podstatě zhrnul učení staré téměř 2200 let a pokusil se vysvětlit evoluci – dědičnost získaných znaků byla původně definována a pozměněna různými mysliteli - Hipokratus, Aristoteles, Galen, Bacon, Cardano aj.



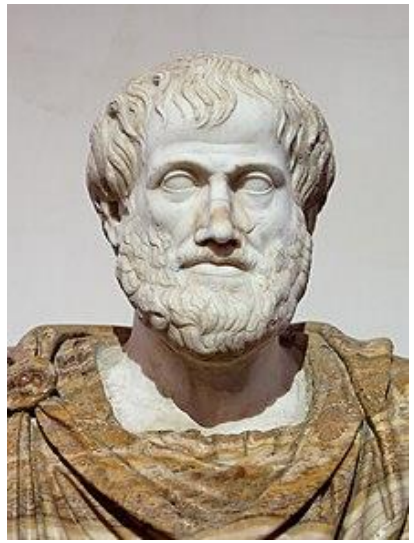
Hippokrates z Kosu

Pangeneze =

děděné znaky

pocházejí z celého

těla rodiče

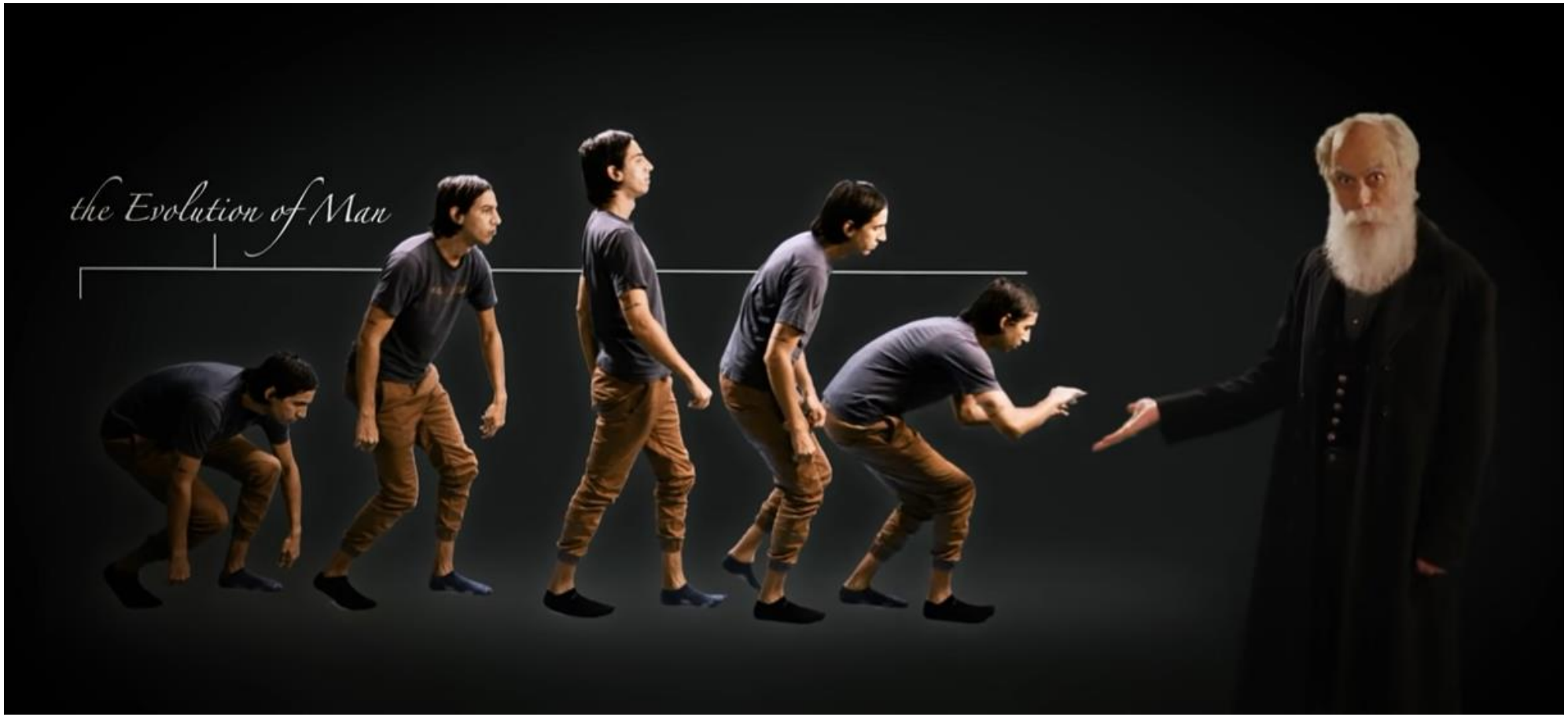


Aristoteles

Pangeneze = popíral dědičnost znaků z celého těla, zároveň souhlasil s dědičností získaných charakteristik během života (např. jizvy, slepota, ale děti nemusí být vždy stejné)

Co na to teorie přírodního výběru a dílo „O původu druhů“?

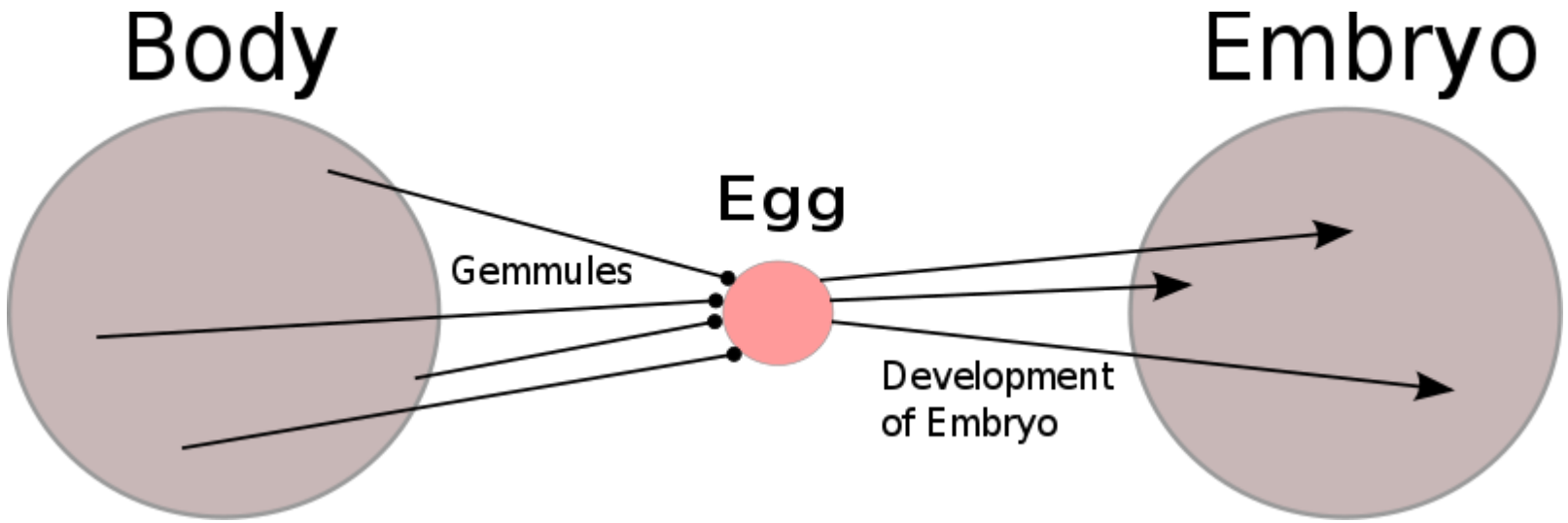
Charles Darwin (1809 – 1882)

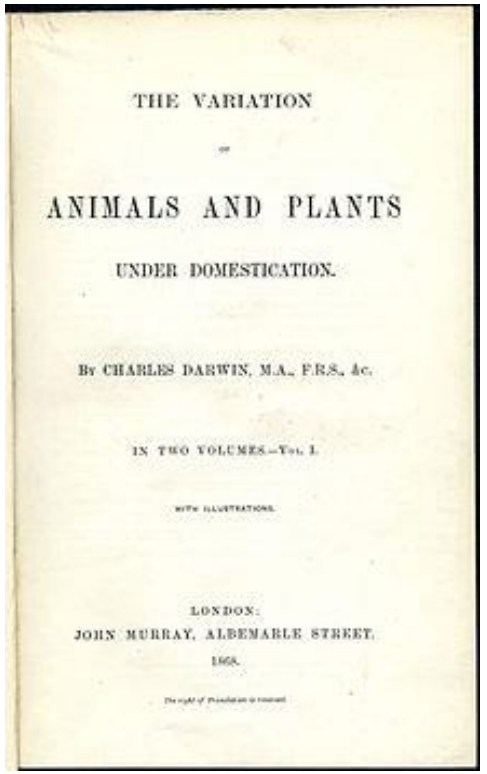


Evolution vs Charles Darwin. Epic Rap Battles of History.

Teorie přírodního výběru a teorie pangeneze

- Ačkoli Ch. Darwin definoval přírodní výběr jako hlavní mechanizmus vývoje organizmů, nevyvracel Lamarckovu teorii (naopak, přijal ji jako podpůrný mechanismus speciace)




THE VARIATION
OF
ANIMALS AND PLANTS
UNDER DOMESTICATION.

BY CHARLES DARWIN, M.A., F.R.S., &c.

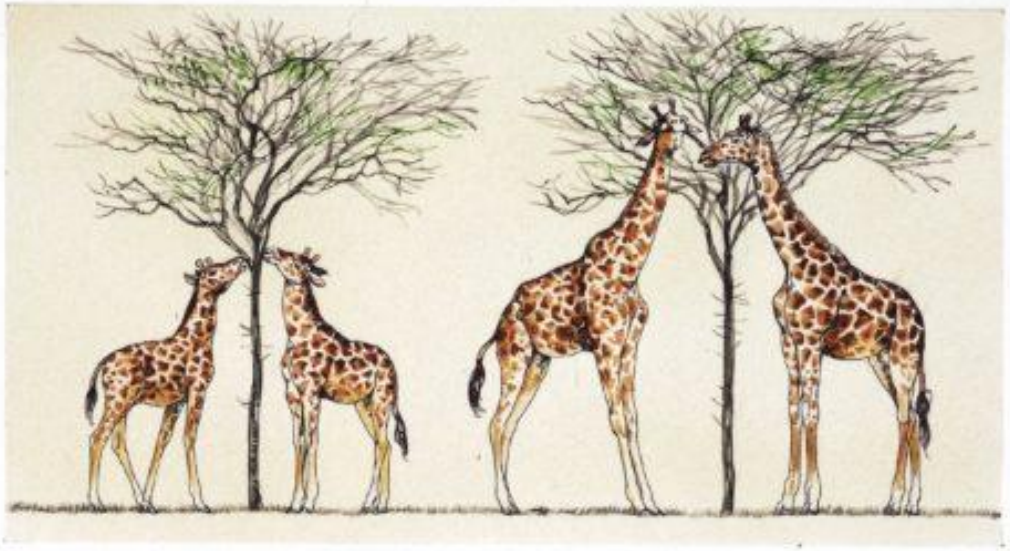
IN TWO VOLUMES.—Vol. I.

LONDON:
JOHN MURRAY, ALBEMARLE STREET.
1868.

Pangeneze – somatické buňky odpovídají na vnější podněty („use and disuse“=Lamarck) tvorbou gemulí nebo pangenů, které uvolují do těla, avšak nikoli výhradně krevním tokem

=pangeny nesou informaci rodičovských buněk a akumulují se v zárodečných buňkách, ve kterých přecházejí do dalších generací

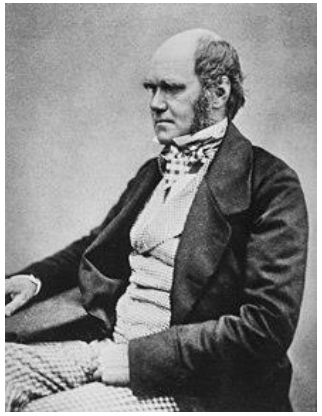
Lamarck



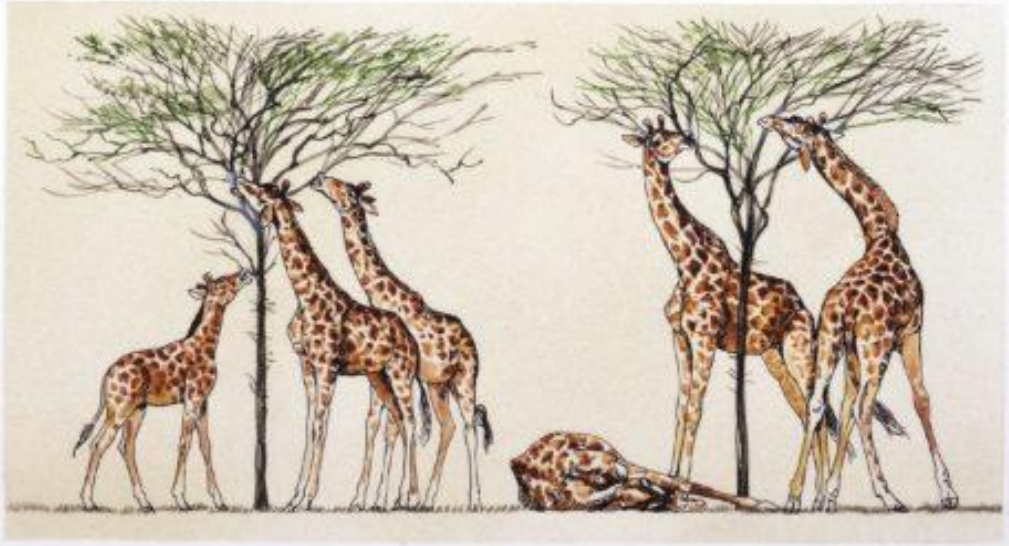
vs.

„then nature is cruel, cause the only thing you are winning is your cousin´s gene pool“

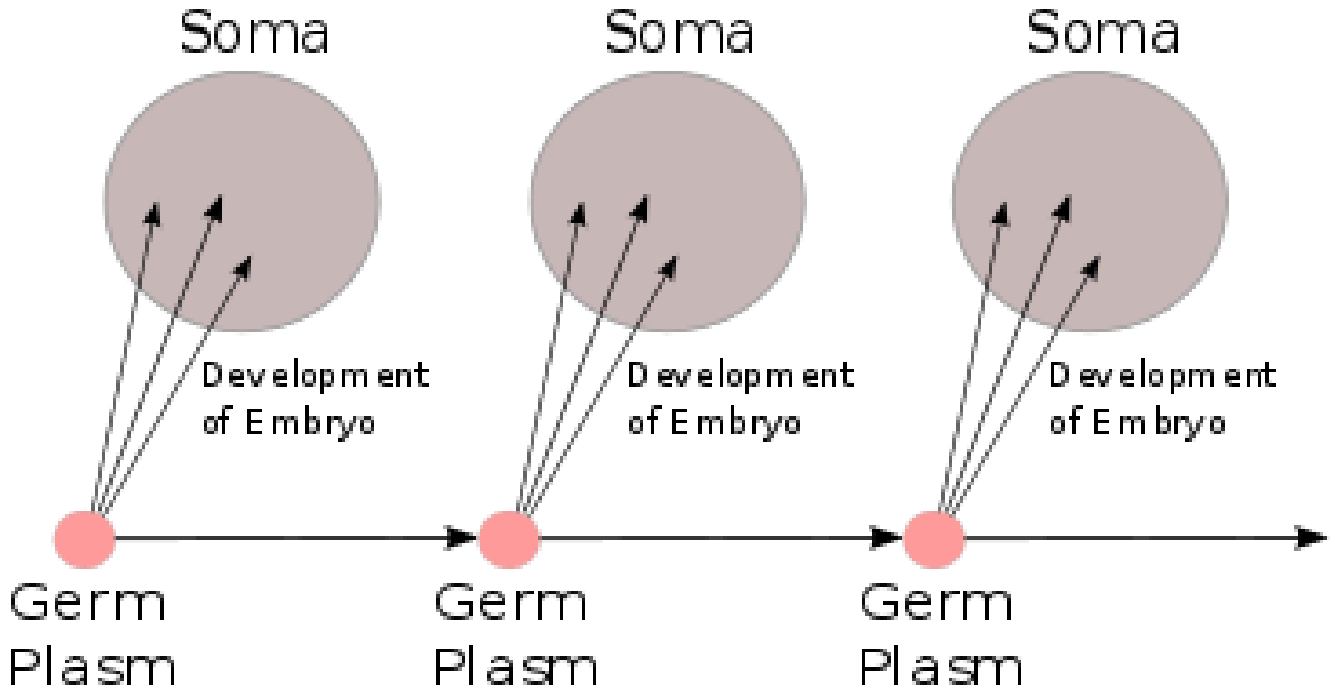
Who won?
Whos next?

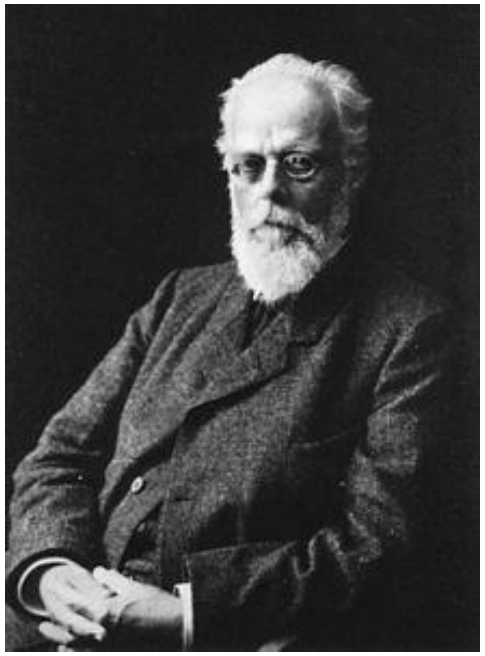


Darwin



August Weismann (1834 – 1914)





Weismannova bariéra – odstraňoval ocásky 68 myším a pozoroval jejich potomstvo po 5 generací = žádná z myší neměla chybějící ocas **= somatické změny získané v průběhu života neovlivňují reprodukční buňky či potomstvo**

(1990 – Peter Gauthier definoval, že odstranění ocasu neznamená nepoužívání orgánu a tedy tento experiment nevyvracuje Lamarkcovu hypotézu)

1880 – 1920 mezidobí Darwinovi teorie

- Období evoluční biologie mezi Darwinovou smrtí a objevem populační genetiky po roce 1920 („the eclipse of Darwinism“)
- **Problematické akceptovat Darwinovu teorii**, která neumožňuje rozhodnout živým organismů o svém dalším vývoji (jsou dány na milost prostředí a přírodnímu výběru)

=živé bytosti mohou do určité úrovně vybrat znaky, které budou děděny do další generace a umožní „svobodně“ rozhodnout o jejich osudu

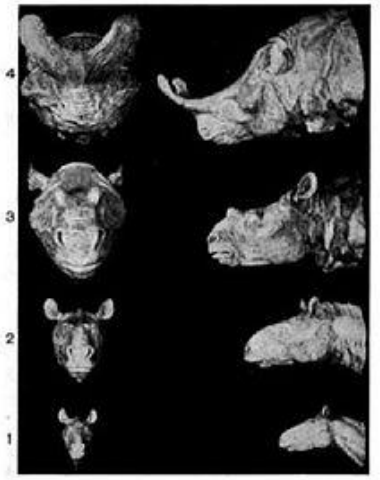
„Theistic evolution“ – evoluce je řízena stvořitelem

Neo-Lamarkismus – dědičnost znaků získaných během života

Orthogeneze – zákony vývoje (vnitřní zákony), které udávají evoluci určitým směrem

Mutualismus – evoluce je produktem mutací, dávající vzniku novým druhům ihned (existovala před Darwinovou teorií)

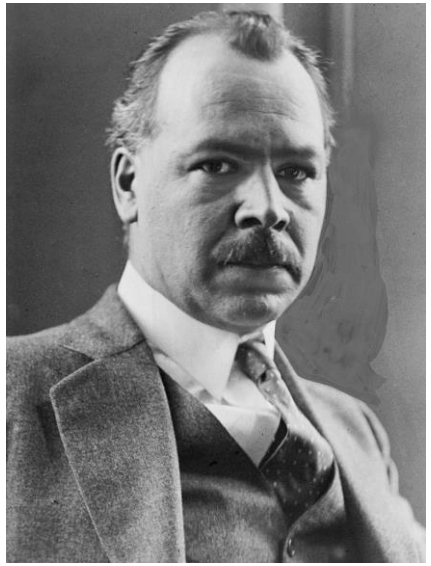
H. F. Osborn „teorie vzniku rohů nosorožce“



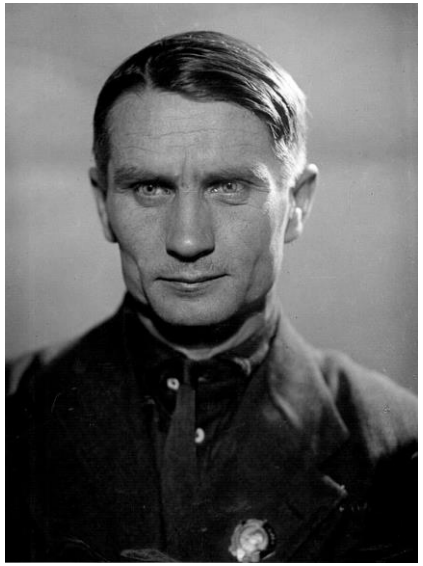
A co země Východního bloku a Sovětský svaz?

Trofim Denisovič Lysenko (1898-1976)

- Prezident Leninovy Akademie zemědělských věd a autor Lysenkismu, nového učení Východního bloku (opak genetiky),
- **„Lysenkismus“** – základ jednoty organismů a podmínek vnějšího prostředí je výměna látek, dědičnost rostlin a zvířat je možno řídit jen prostřednictvím životních podmínek (teorie akceptovaná až do konce 60.let) – zastánce Lamarkismu
  - procesem vernalizace měnil vlastnosti jarní pšenice (*Triticum durum*, 2n=4x=28) na zimní (*Triticum vulgare,* 2n=6x=42)
  - uvěznění učitele Nikolaie Ivanoviche Vavilova, všech kritiků i odpůrců



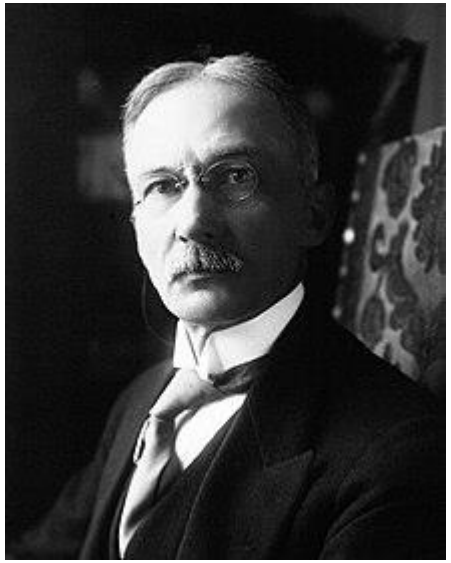
Nikolai Vavilov



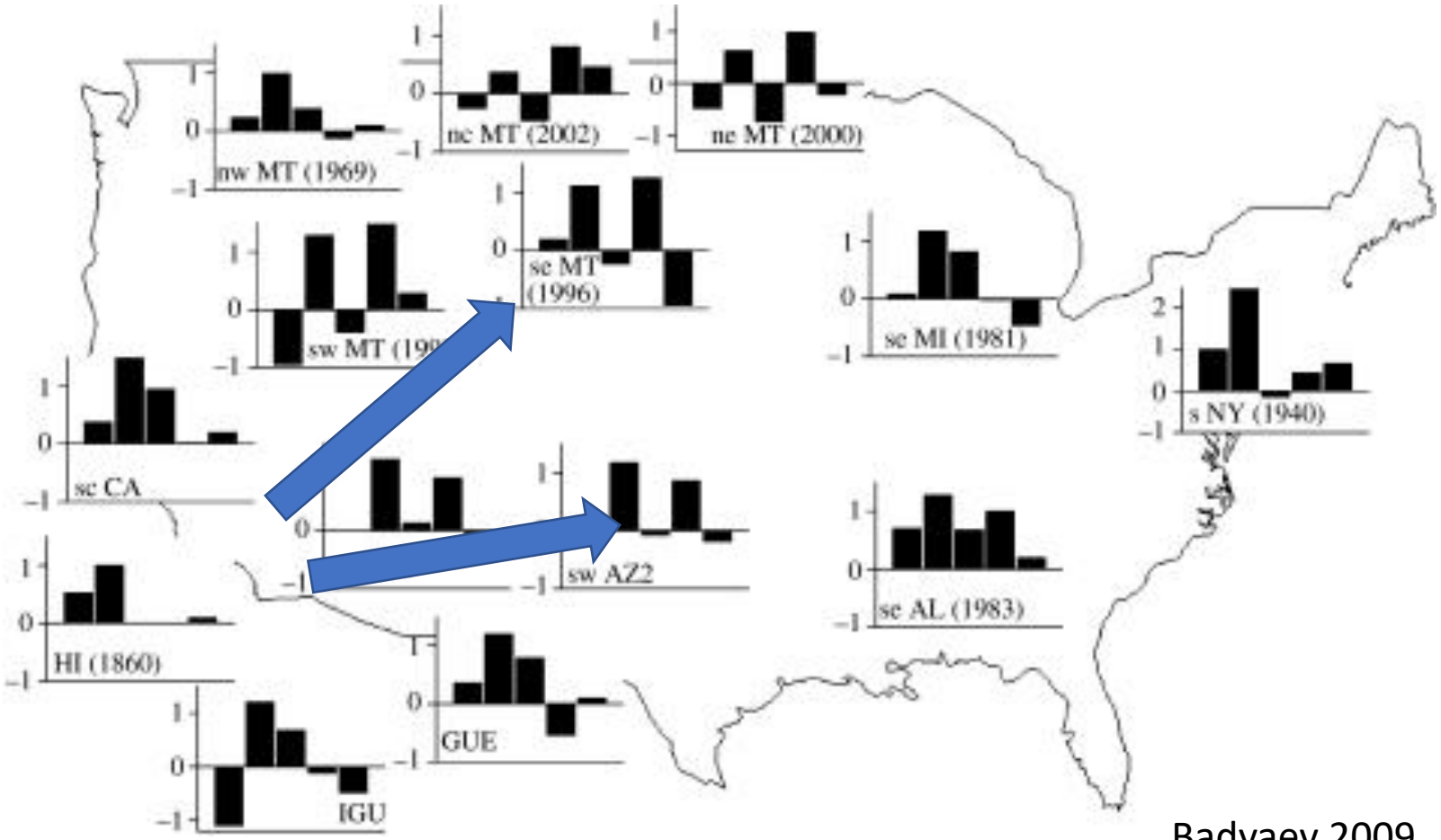
Wikipedia commons

James Mark Baldwin (1861 – 1934)

- Baldwinův efekt – nový faktor = fenotypová plasticita (flexibilita) = **schopnost organismu se adaptovat na vnější prostředí v průběhu svého života** (schopnost učit se, zlepšovat kondici, opálit se)
- Jedinci, kteří tak učiní mají výhodu a jejich genotyp může být zachován (v rámci několika generací bude výhodná vlastnost přírodně selektována)



Baldwinův efekt a jeho důkaz na pěnkavě domácí v Severní Americe

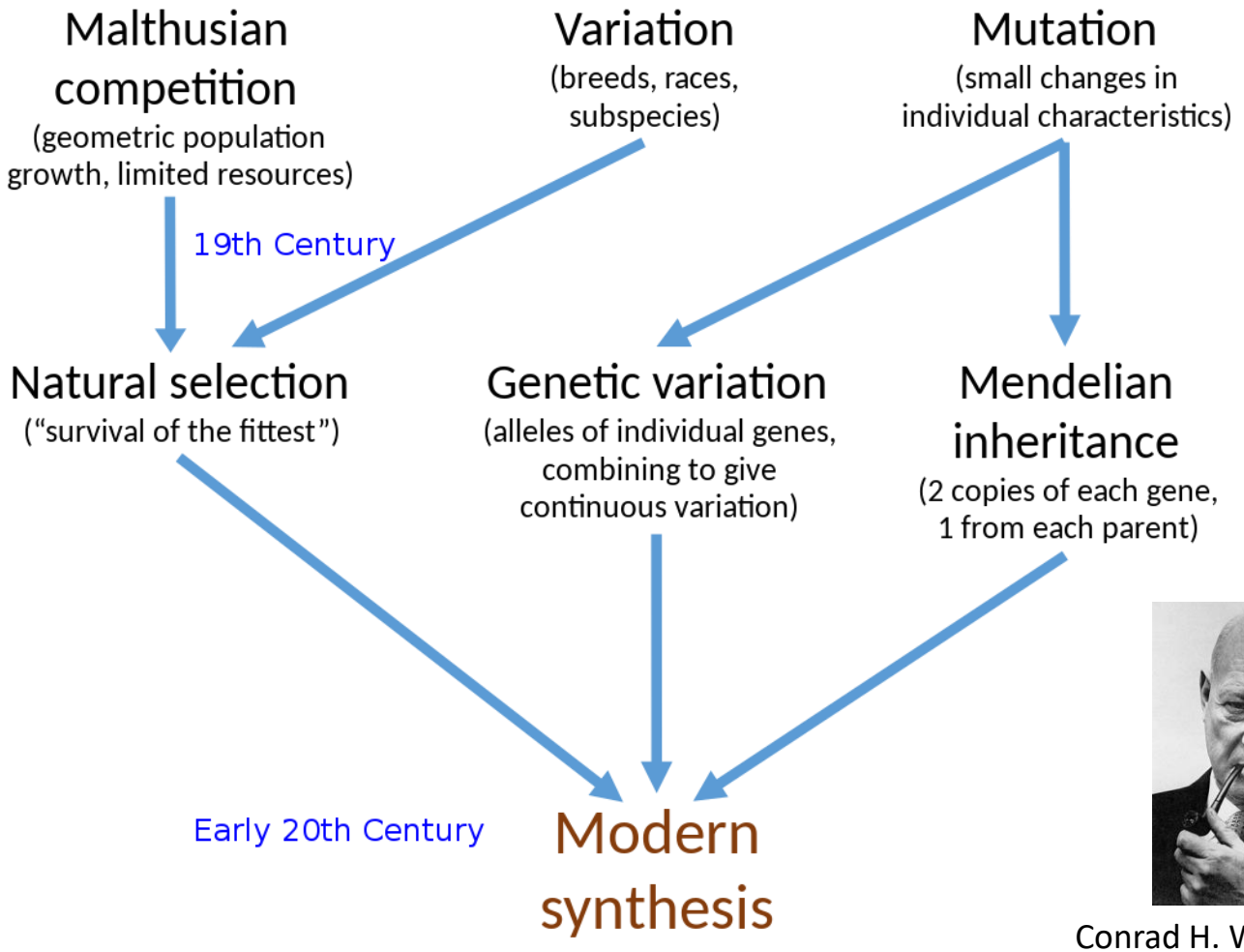


Badyaev 2009

- Délka těla
- Křídla
- Ocas
- Dolní končetiny
- Tělesná hmotnost

=vývojová plasticita specifikována prostředím!

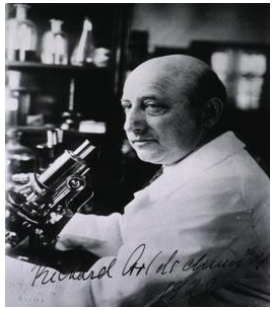
Konec zatmění a moderní syntéza



Syntéza genetiky a vývojové biologie

Conrad H. Waddington

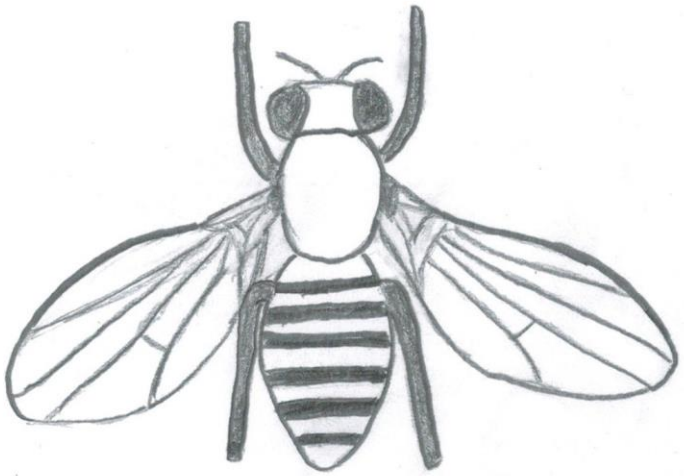
Ernst Hadorn

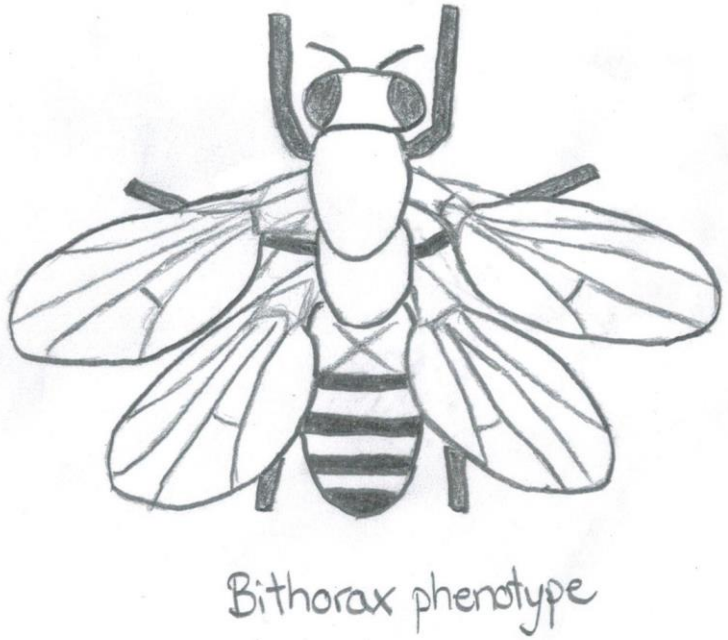


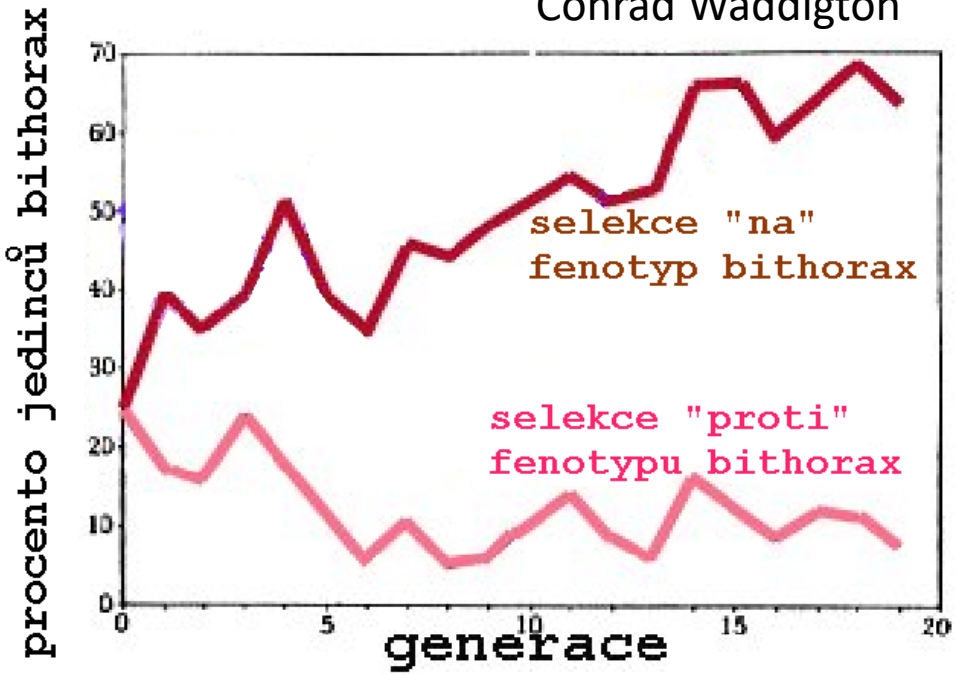
R. B. Goldschmidt

Genetická asimilace (1953)

Conrad Waddigton







- 1942 C. H. Waddington vystavil embrya Drosophily účinkum éteru – několik jedinců následně ukázalo fenokopii mutace bithorax (druhý pár křídel) = bithorax není vrozený, ale způsobený enviromentálně

„Asimilace“ „enviromentálně“ spuštěného znaku (1953) – odhalení skryté genetické variability

- Larvy *Drosophily* vystavené tepelnému šoku ukazují fenotyp bez příčných žilek (40% vykazuje fenotyp bez selekce) = fenotyp se udržuje i bez dalšího teplotního stresu = **znak spuštěný enviromentálně se stává v genomu asimilovaným**

Lamarck

Changed Environment

Changed Needs

Changed Behaviour

Use/Disuse of Structure

Learned Behaviour

Baldwin

Shock

?

Genetic Assimilation

Waddington

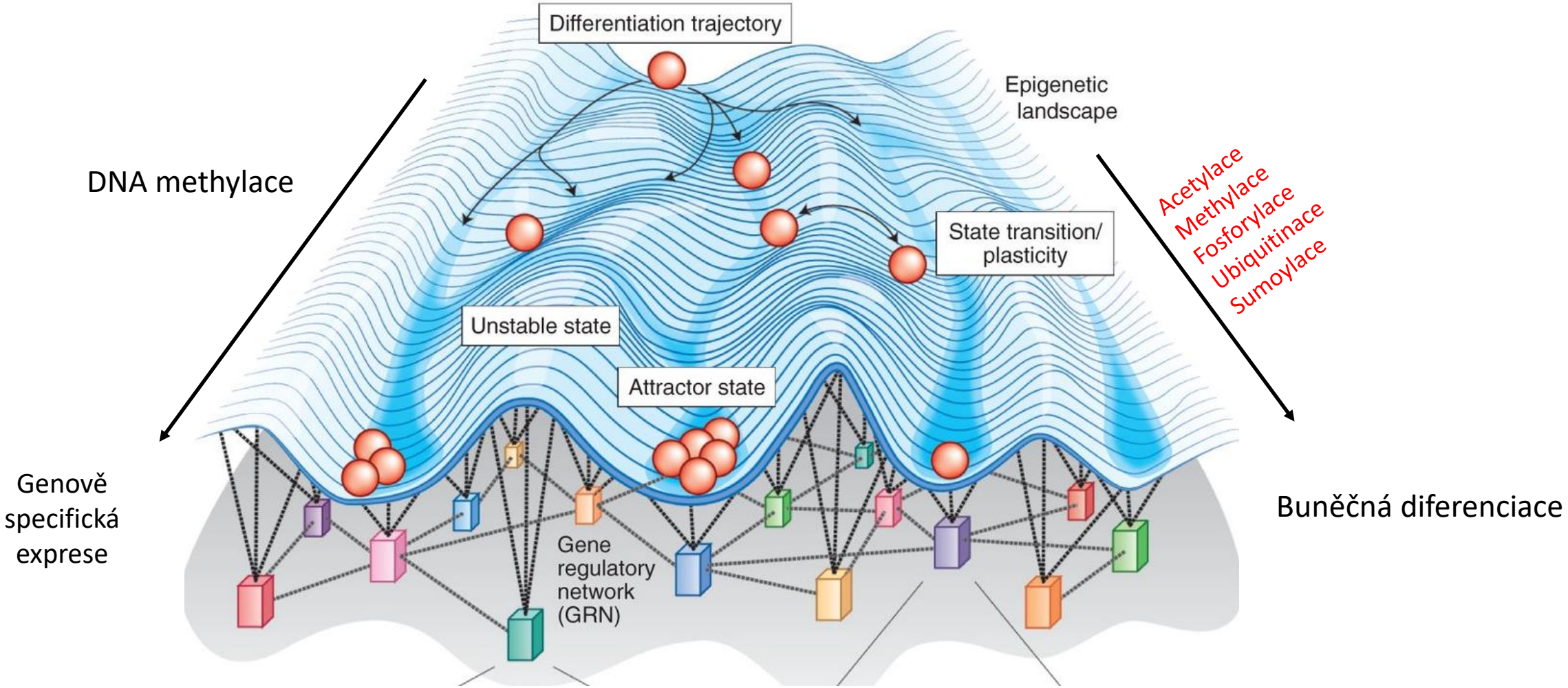
Natural Selection

Adaptive Inherited Change (Evolution)

Existing Variation

Darwin

Epigenetická informace jako „epigenetický“ krajiný model



- Waddington vysvětlil genetickou asimilaci jako proces „kanalizace“ (usměrňování) a epigenetickou krajinou

Gregor Mendel
(1822-1884)

EPIGENETICKÉ JEVY PŘEDSTAVUJÍ VÝJIMKY Z MENDELOVÝCH ZÁKONŮ

- Samostatnost alel. Genotyp je soubor samostatných genů určujících znaky. Každý je znak je určen dvojicí samostatných alel.
- Segregace alel. Princip NEZÁVISLÉ SEGREGACE ALEL : dvojice samostatných alel se při meióze rozcházejí a každá gameta dostává jednu z obou alel
- Nezávislá kombinace alel. (s výjimkou alel ve vazbě)
- IDENTITA RECIPROKÝCH KŘÍŽENÍ. (při vzájemném křížení homozygotních rodičů (P) vzniká první filiální generace (F1) potomků, kteří jsou genotypově i fenotypově jednotní.
- Zákon o štěpení v potomstvu hybridů.

Gregor Mendel
(1822-1884)

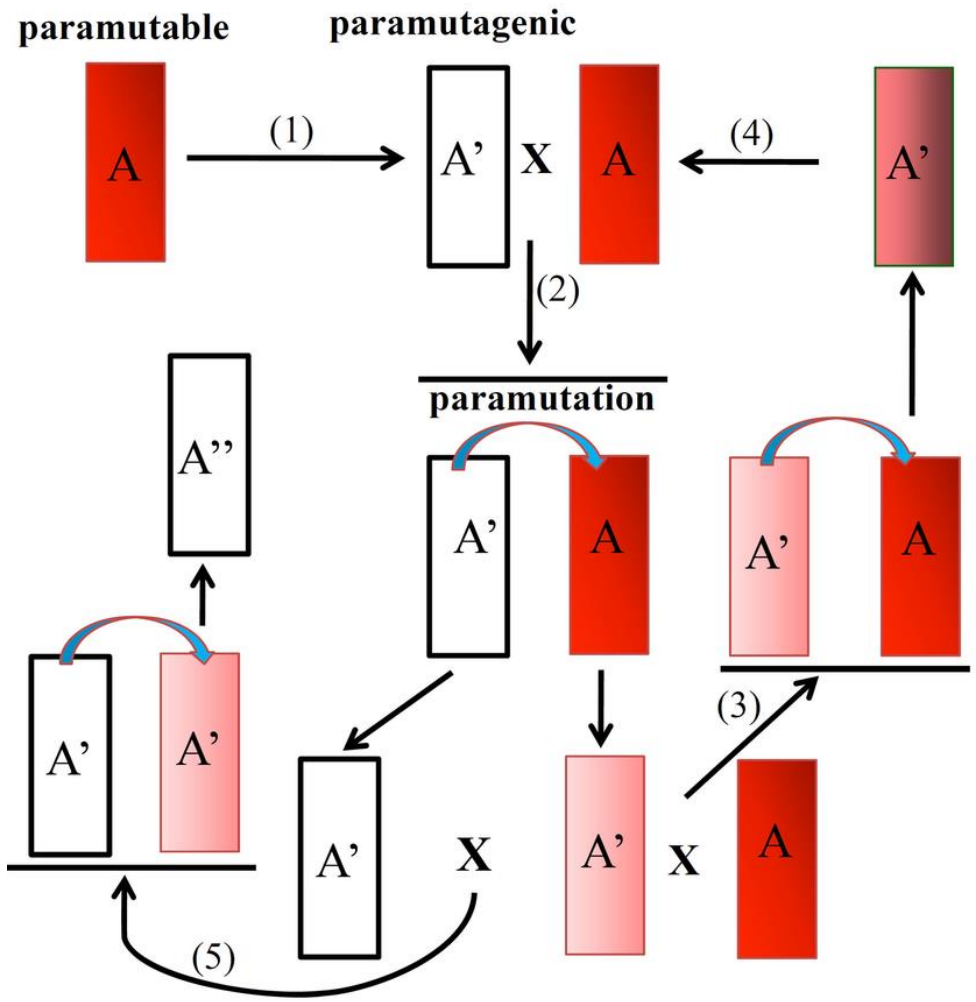
EPIGENETICKÉ JEVY PŘEDSTAVUJÍ VÝJIMKY Z MENDELOVÝCH ZÁKONŮ

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

Paramutace a její funkce

Paramutabilní alela – alela, která je exprimována



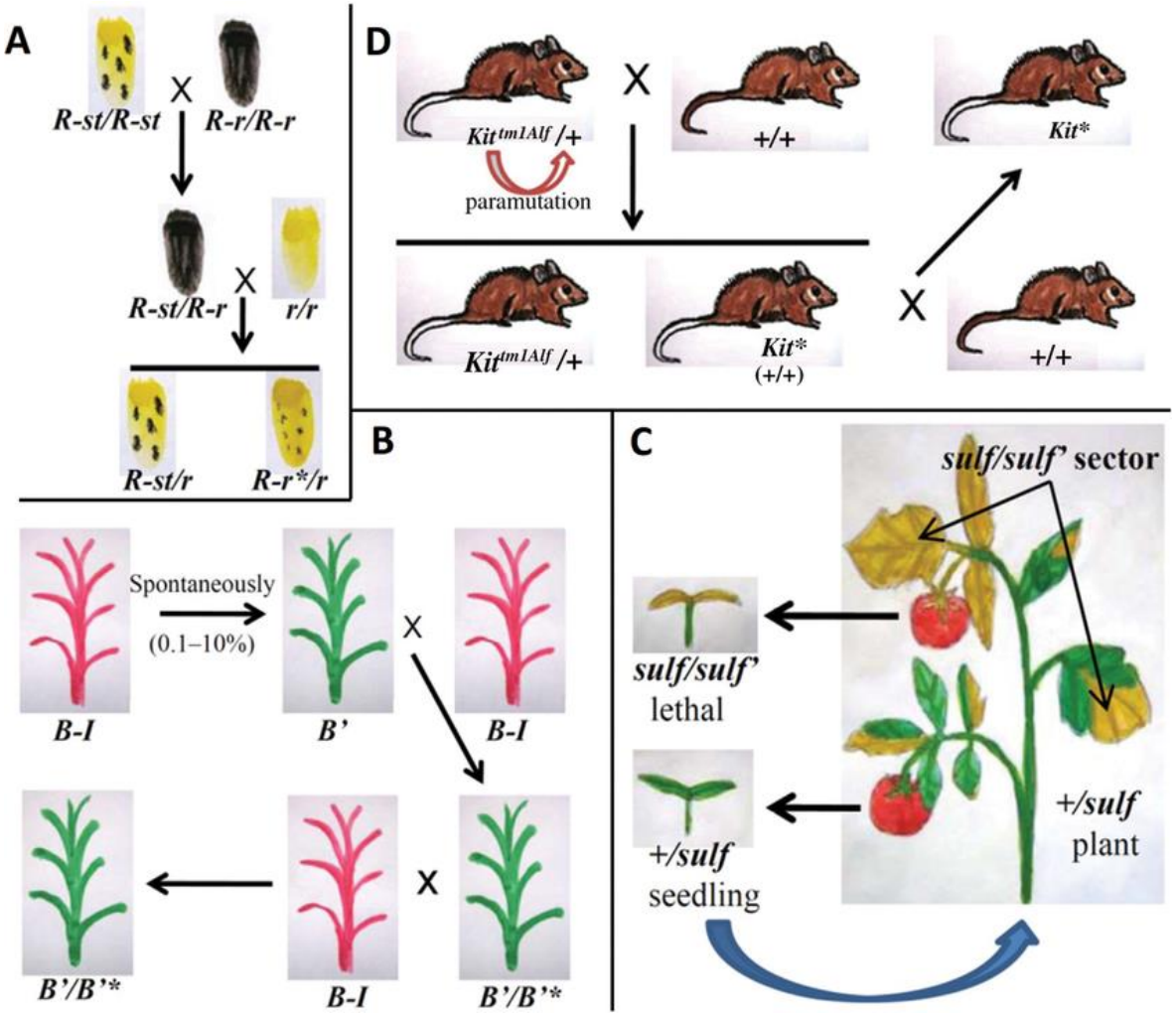
Paramutagenní alela – umlčená alela, která je schopna ovlivnit (umlčet) druhou alelu

Paramutace a její „nejslavnější“ demonstrace u různých modelových organismů

Akumulace anthocyaninu v obilce kukuřice v případě r1 lokusu (paramutabilní R-r a paramutagenní R-st)

nebo

v případě celé rostliny lokusu b1 (paramutabilní B-I a paramutagenní B´)



Kit lokus (tyrosine kináza receptor) – paramutabilní + a paramutegenní Kit^{tm1Alf}

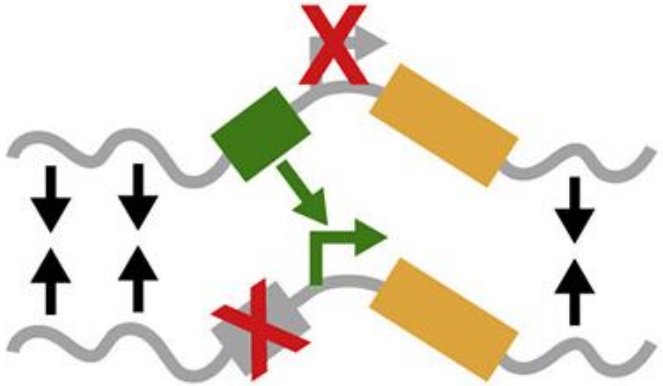
Sulf lokus způsobující nedostatek chlorofylu (paramutabilní + a paramutagenní *sulf*)

Pilu 2011

Transvekce – funkce a definice

- Edward Butts Lewis
  - získal Nobelovu cena 1995 za práci na modelu *Drosophila* a objevení transvekce na *bithorax* komplexu

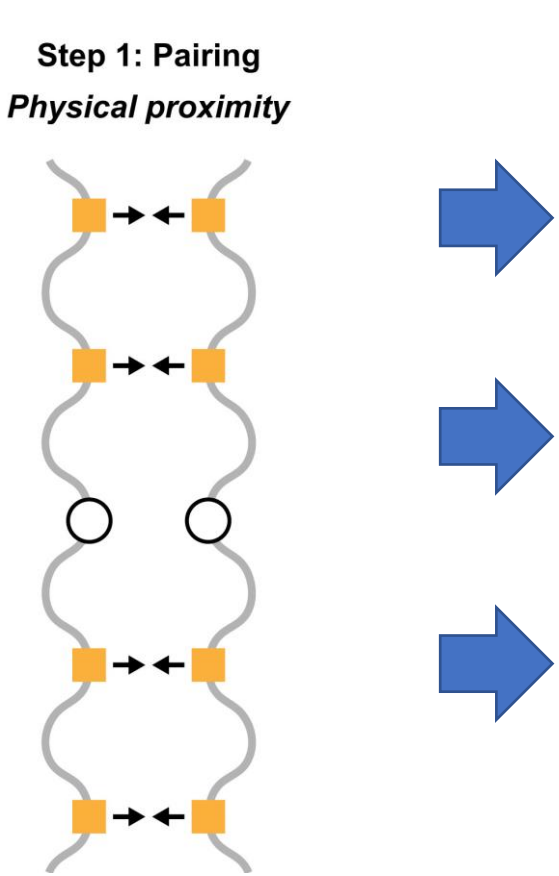
"Operationally, transvection is occurring if the phenotype of a given genotype can be altered solely by disruption of somatic (or meiotic) pairing. Such disruption can generally be accomplished by introduction of a heterozygous rearrangement that disrupts pairing in the relevant region but has no position effect of its own on the phenotype"

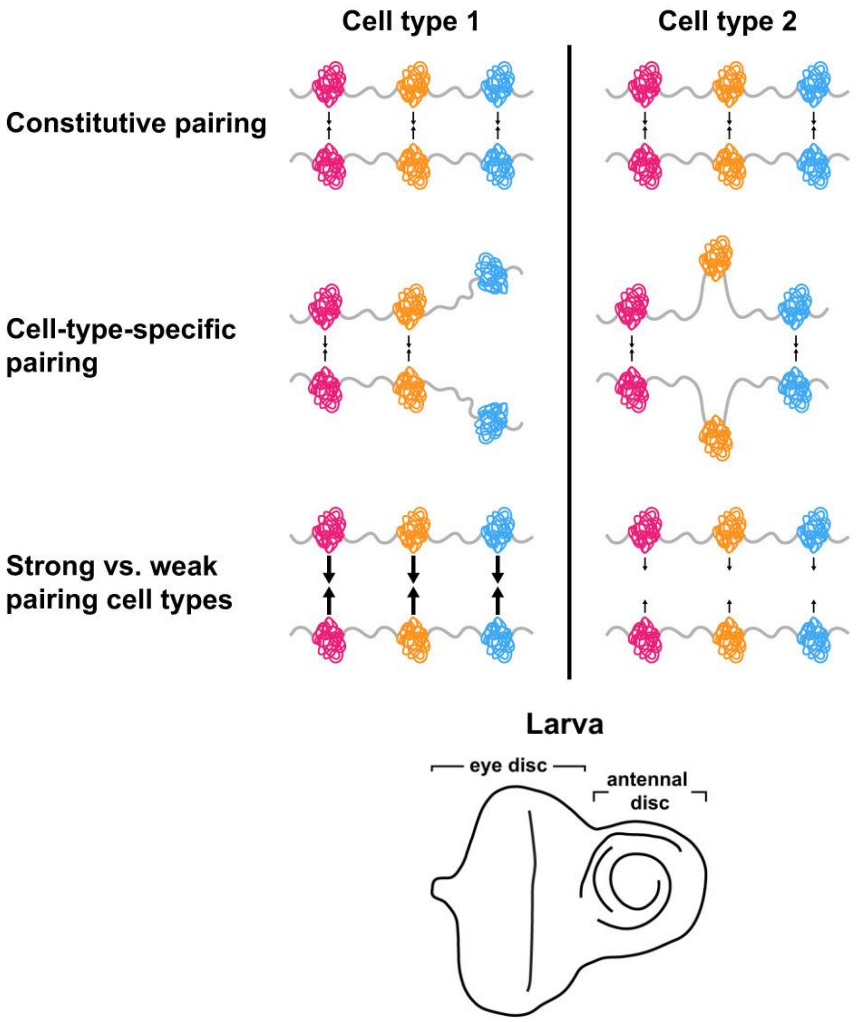


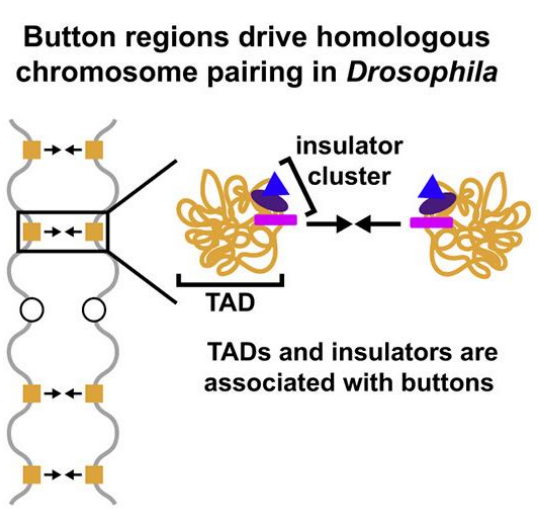
Viets et al. 2019

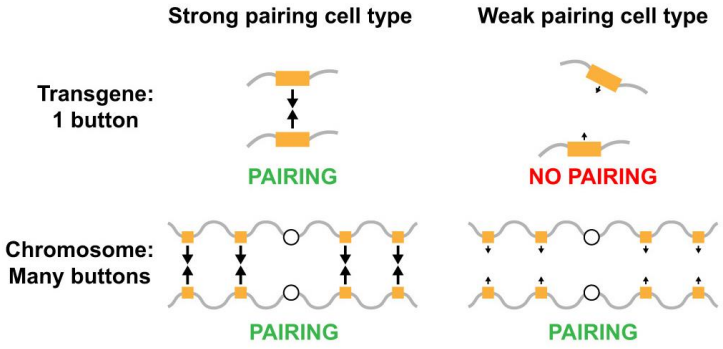
- Popsána u lidí, myší, rostlin, nematod, hmyzu a hub

Trasnvekce – molekulární mechanismus



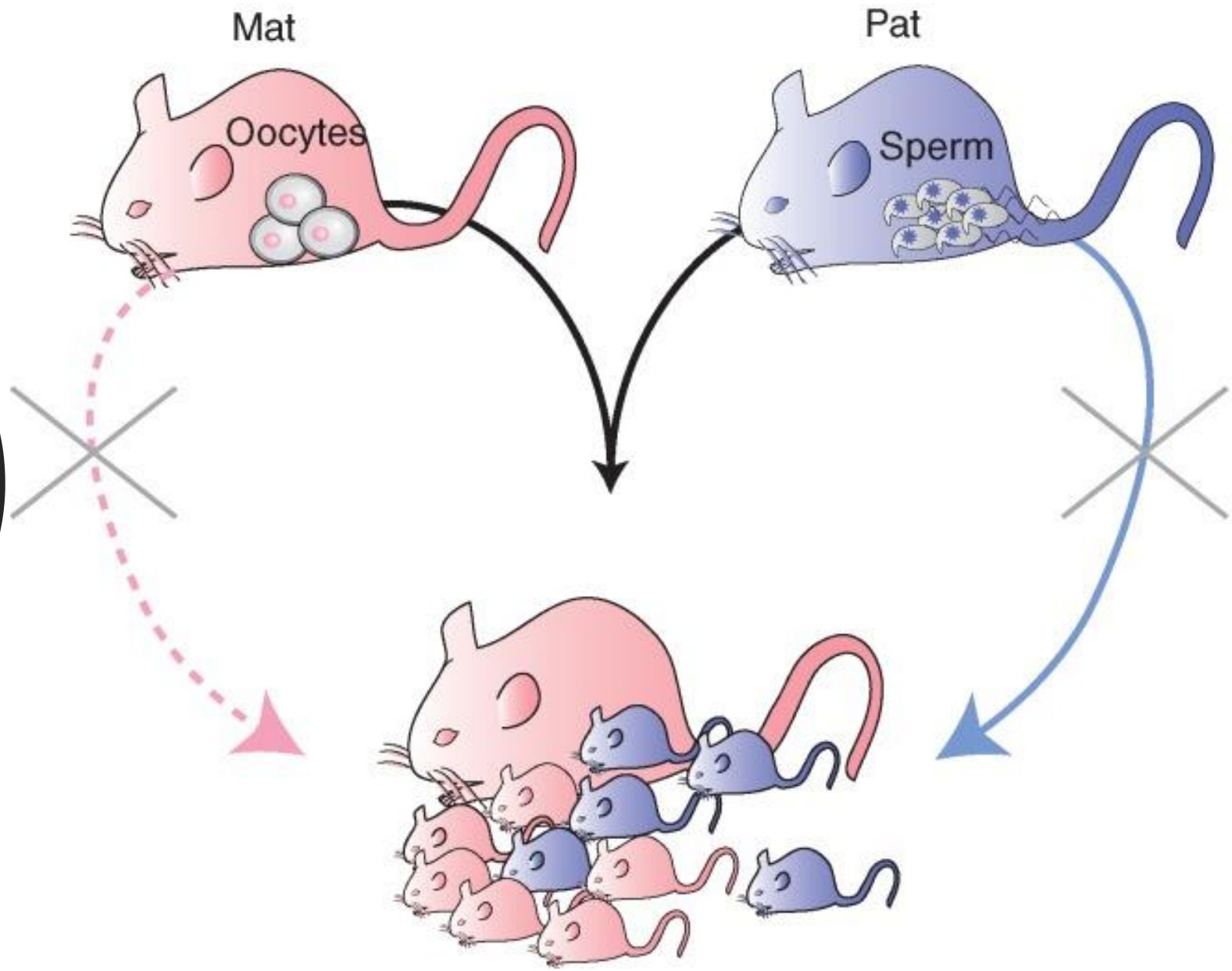






Viets et al. 2019

Genomický imprinting

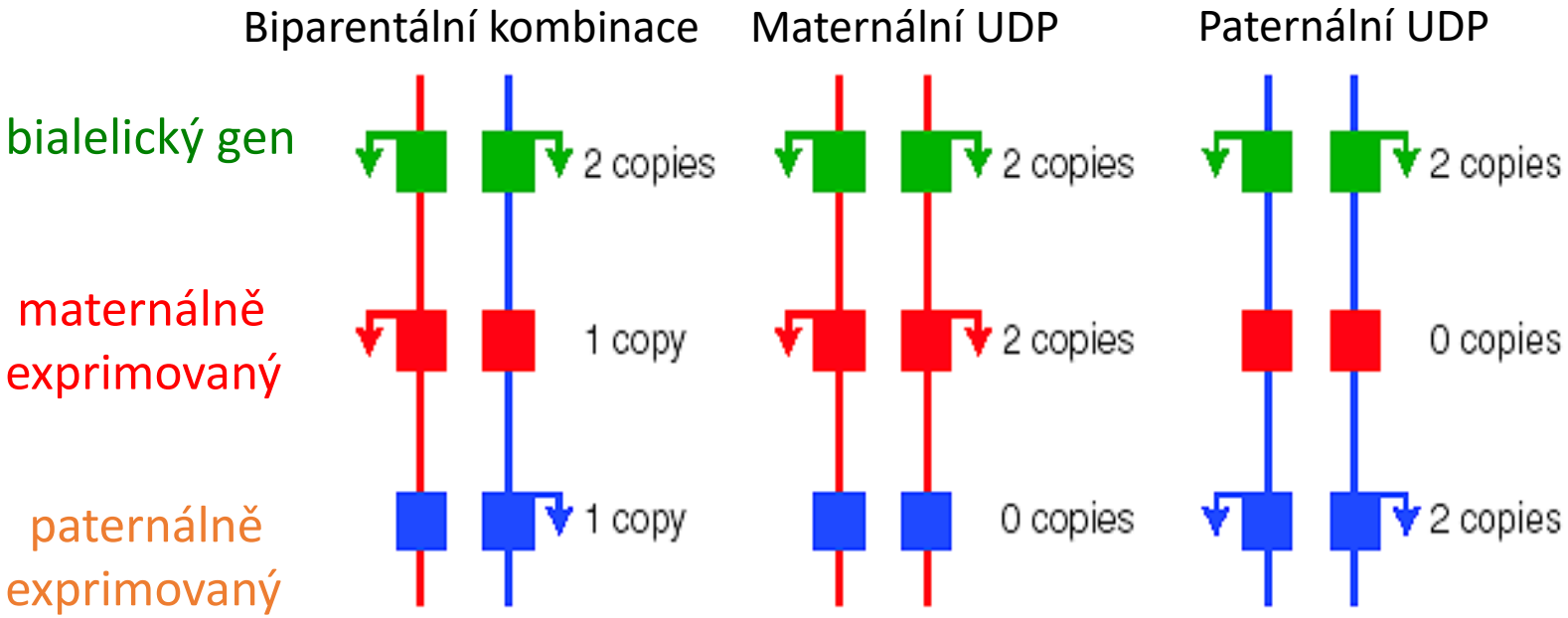


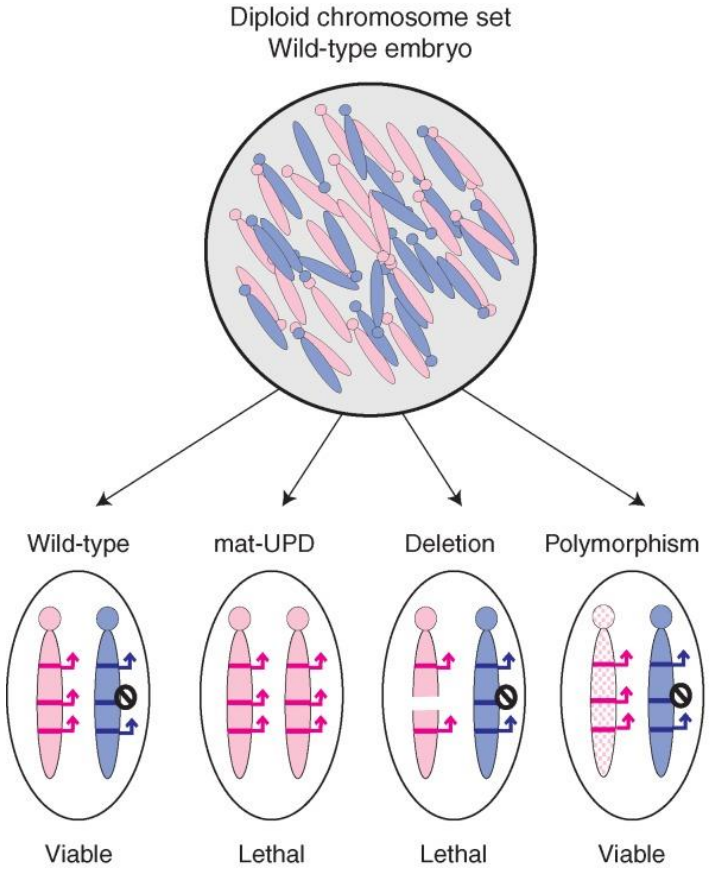
Barlow et al. 2014

Genomický imprinting - definice

- Pouze ovlivněny některé skupiny genů, které mají maternální nebo paternální expresi
- Mnoho genů je umístěno v celých skupinách (ovlivněny specifickými insulátory a lncRNAs)
- Nastaveny během vývoje zárodečné linie a diferenciace gamet (úloha DNA methylace, histonových PTMs, lncRNAs, insulátory a vyšší struktura chromatinu)
- Nepostradatelné při vývoji a reprodukci (ačkoli pouze samice u savců mohou nést plod, geny nezbytné pro jeho vývoj jsou exprimovány výhradně z paternálních chromozomů=**reciproký imprinting**, nedochází k partenogenezi)
- Reciproký imprinting zajišťuje přiměřený vývin plodu :
- **paternálně exprimované geny (*Peg*)** podporují pre- i postnatální růst
- **maternálně exprimované geny (*Meg*)** jsou růstovými supresory

Genomový imprinting a uniparentální disomie



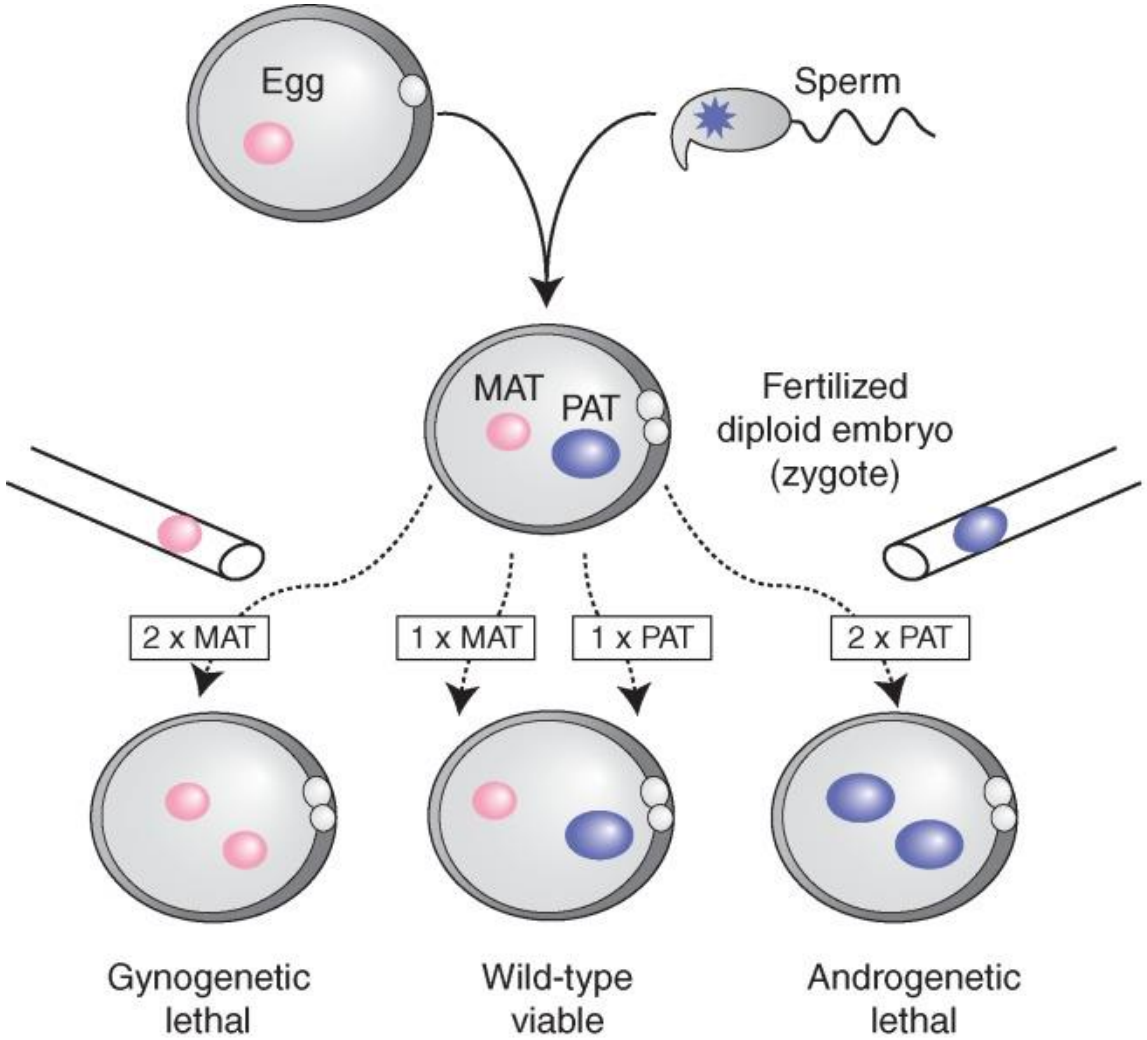


Barlow et al. 2014

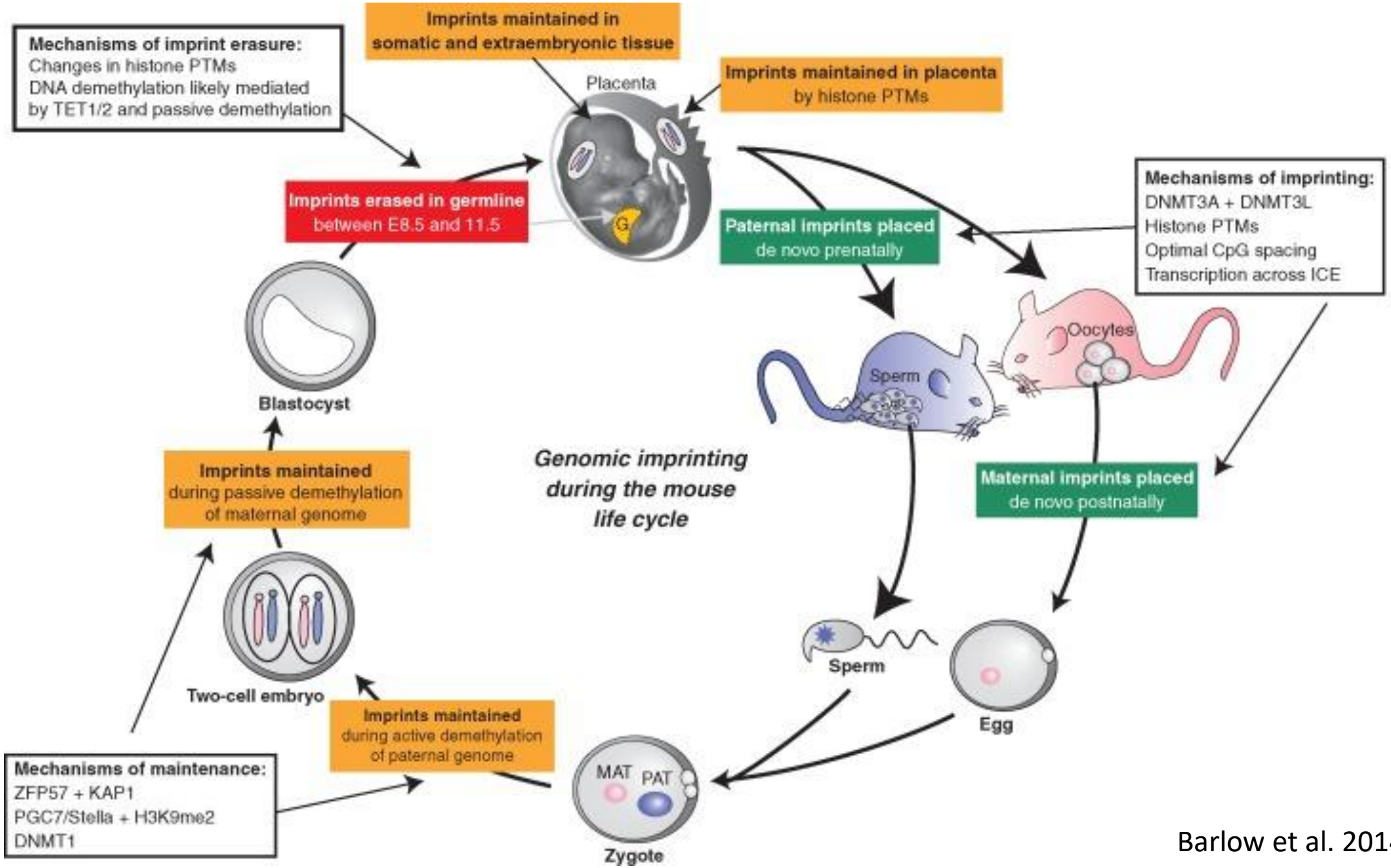
Non - ekvivalence parentalních genomů a důkaz imprintingu u savců

Azim Surani (1984)

- Odstranění maternálního nebo paternálního jádra v oplodněném vajíčku a jeho vložení do enokluovaného sekundárního vajíčka vede k **androgenezi** nebo **gynogenezi** (obě jsou letální v ranném stádiu)



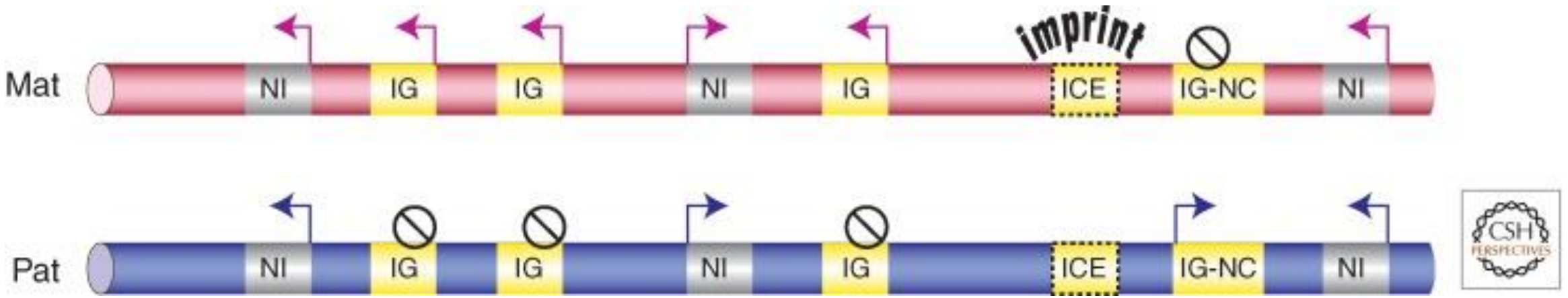
Barlow et al. 2014



Barlow et al. 2014

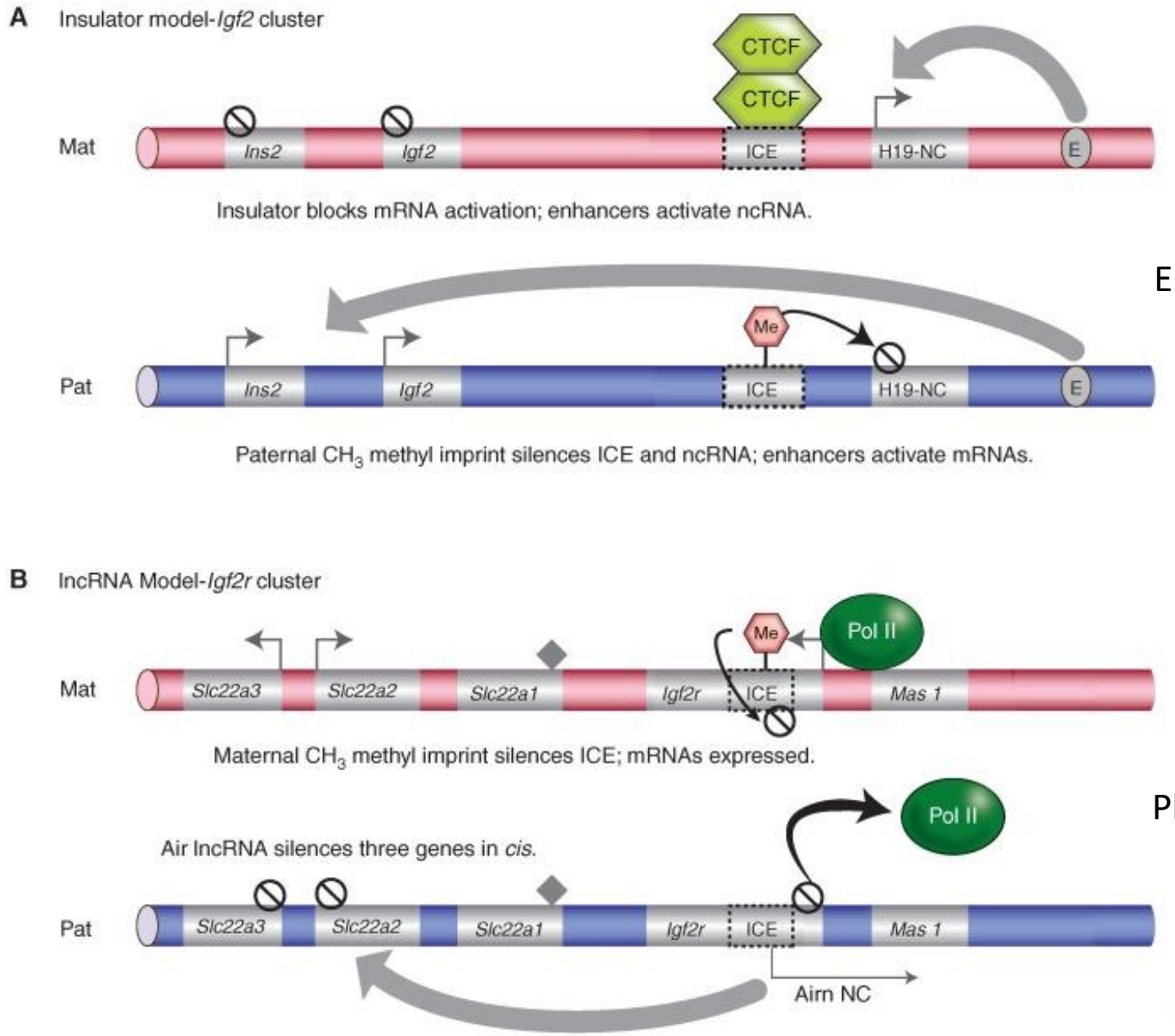
Struktura imprintovaných oblastí v genomu

- IG – soubor imprintovaných genů zahrnující protein kódující mRNA
- IG-NC – nekódující RNA (alespoň jedna nebo více)
- NI – neimprintované geny
- ICE – kontrolní element imprintingu



Barlow et al. 2014

Cis mechanismus – model *Igf2* a *Igf2r*

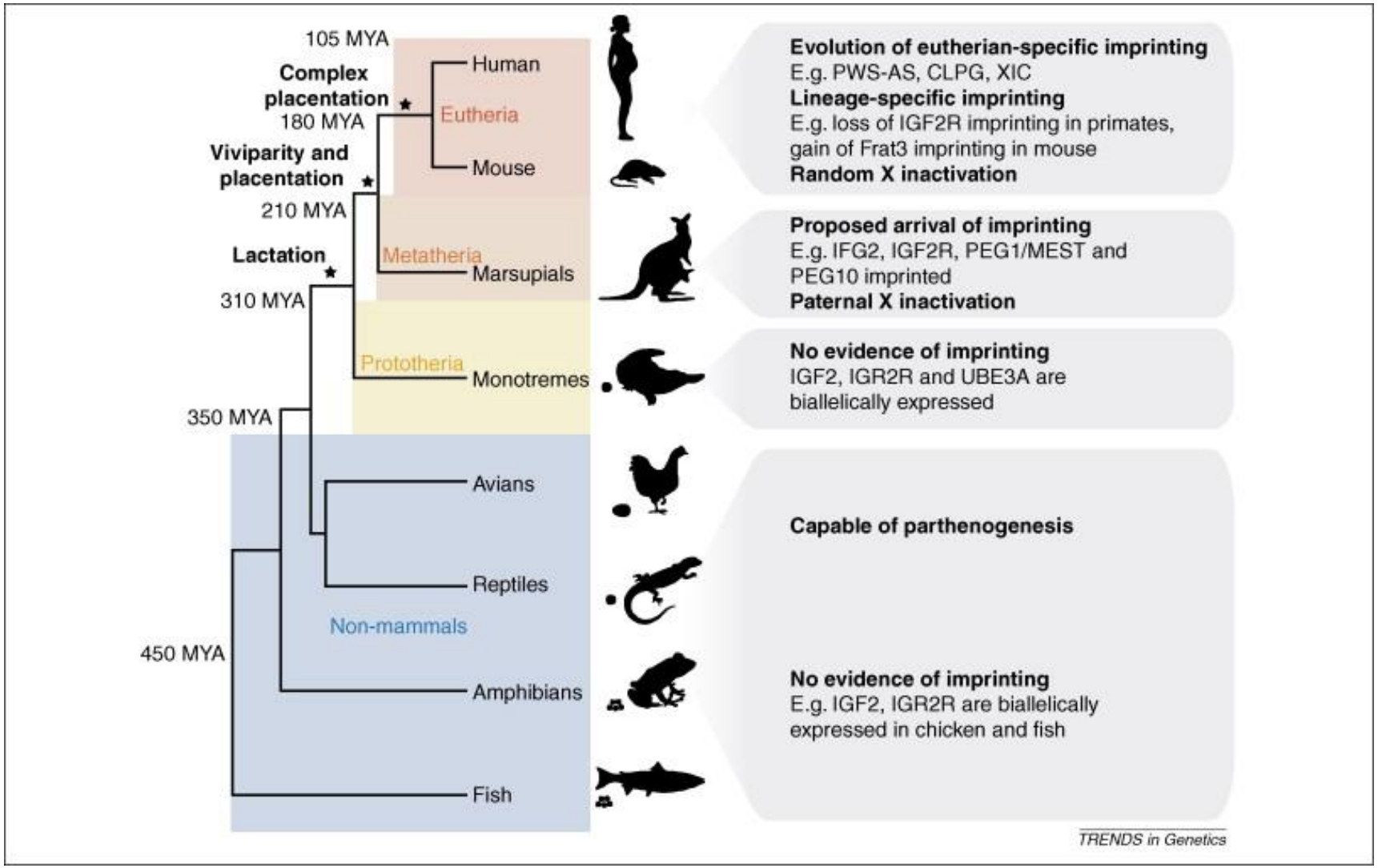


Endoderm

Placenta

Barlow et al. 2014

Evoluce genomického imprintingu

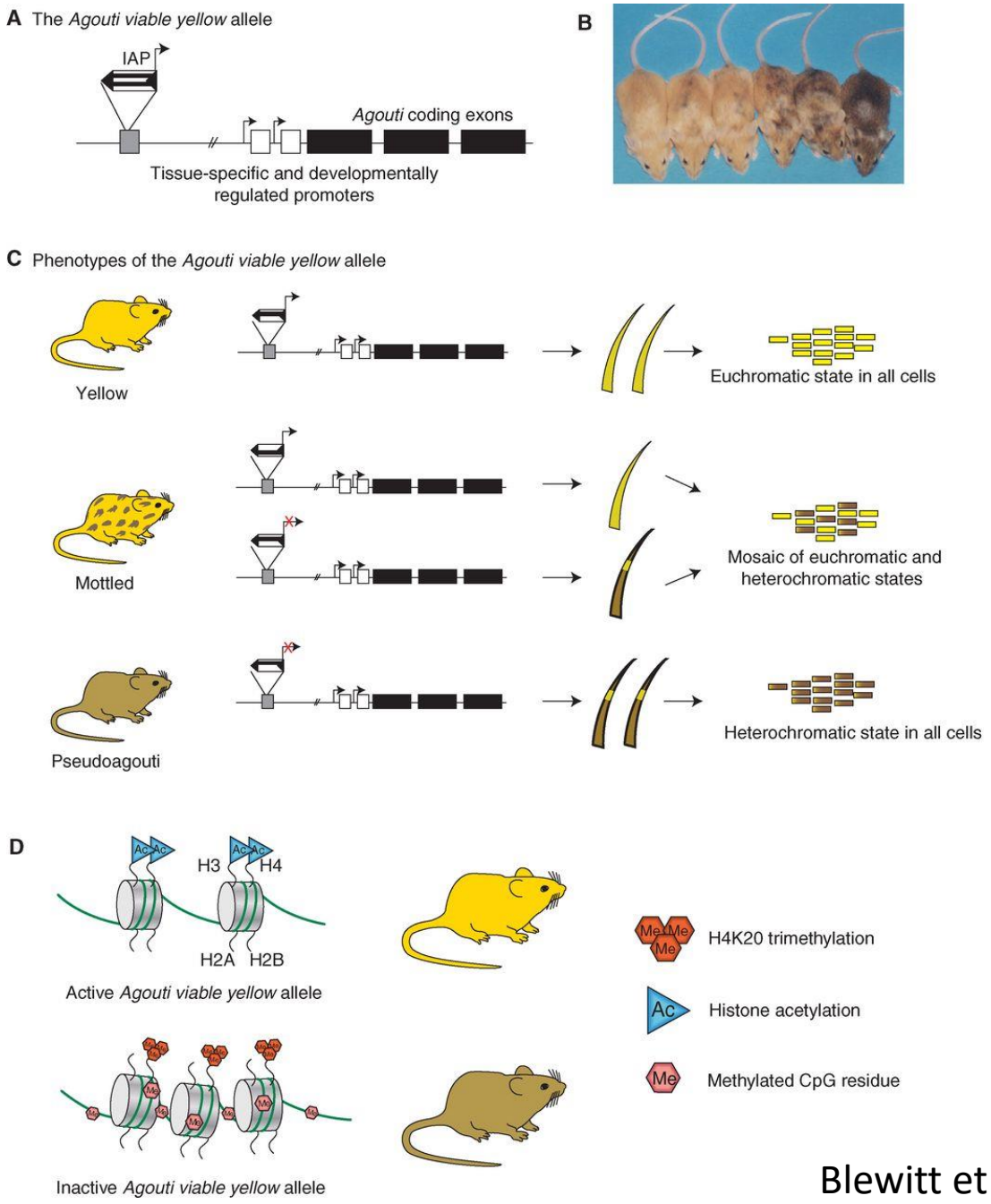


Hore et al. 2007

Agouti Viable Yellow – epigenetický mozaicismus

- metylace retroelementu vede k inaktivaci ektopické exprese

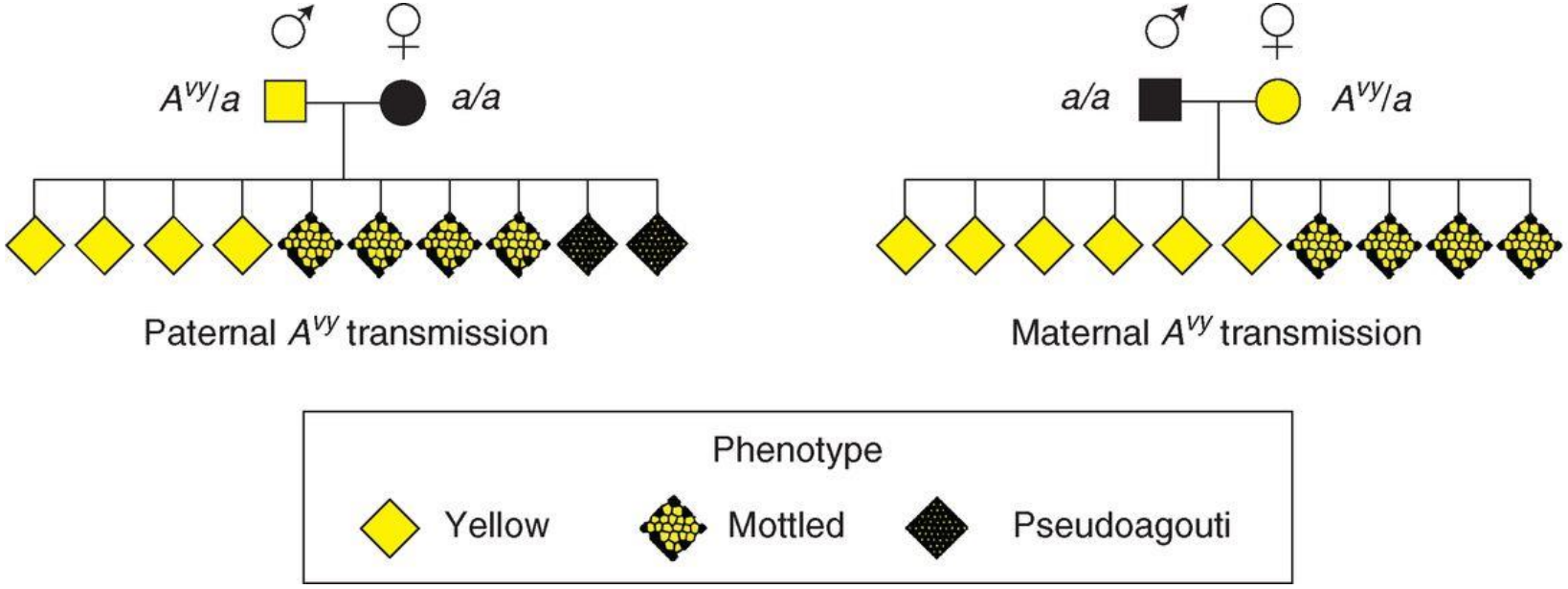
- Případ metastabilní epialely *Axin* ^{Fused} :
  - paternální exprese, lokus *kinked tail* je však epigeneticky labilní, expresivita variabilní



Blewitt et al. 2014

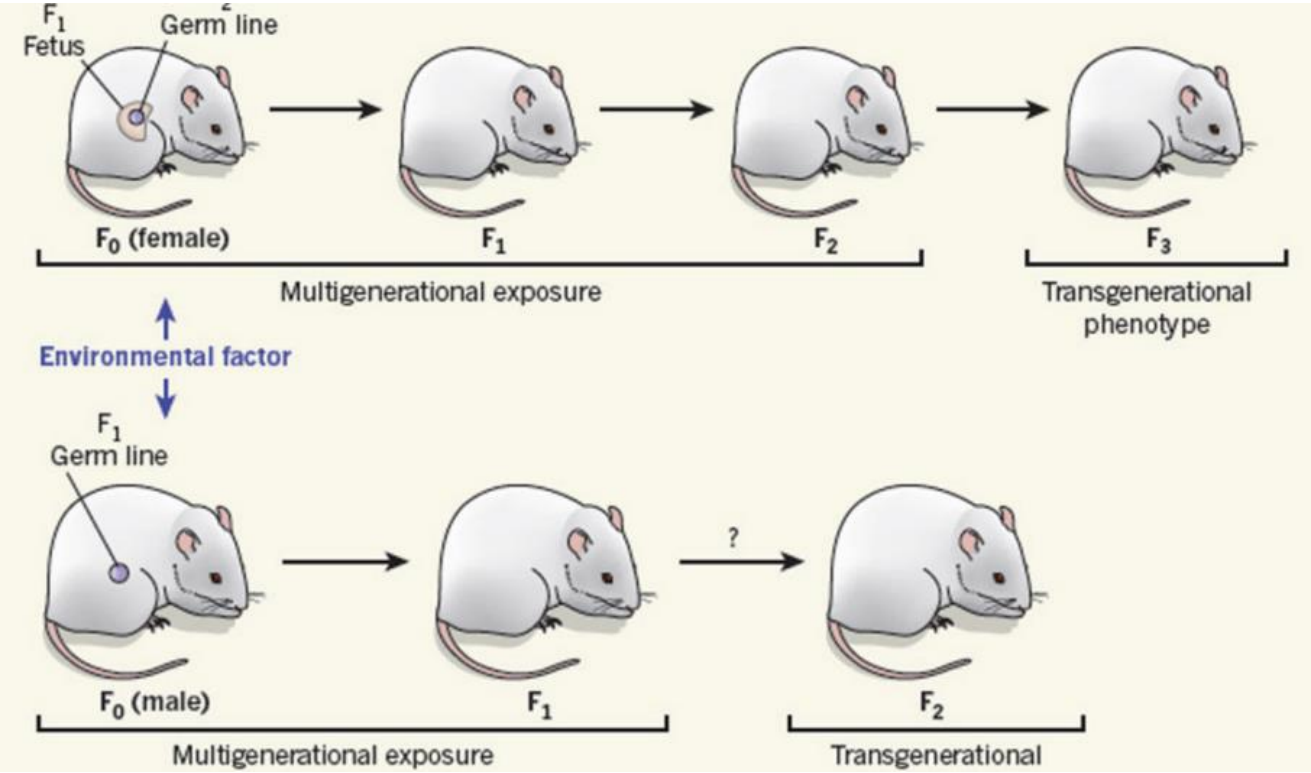
Výsledky reciprokých křížení s recesívním mutantem a fenotypová (maternální) dědičnost *Agouti Viable Yellow* alely

- $\underline{A^{vy}/a}$ x $\underline{a/a}$
- Výsledky reciprokých křížení s recesívním mutantem ukázaly „subtle parent-of-origin“ efekt exprese (=neúplné odstranění pasivních epigenetických markerů IAP LTR oblasti v paternální linii)



Blewitt et al. 2014

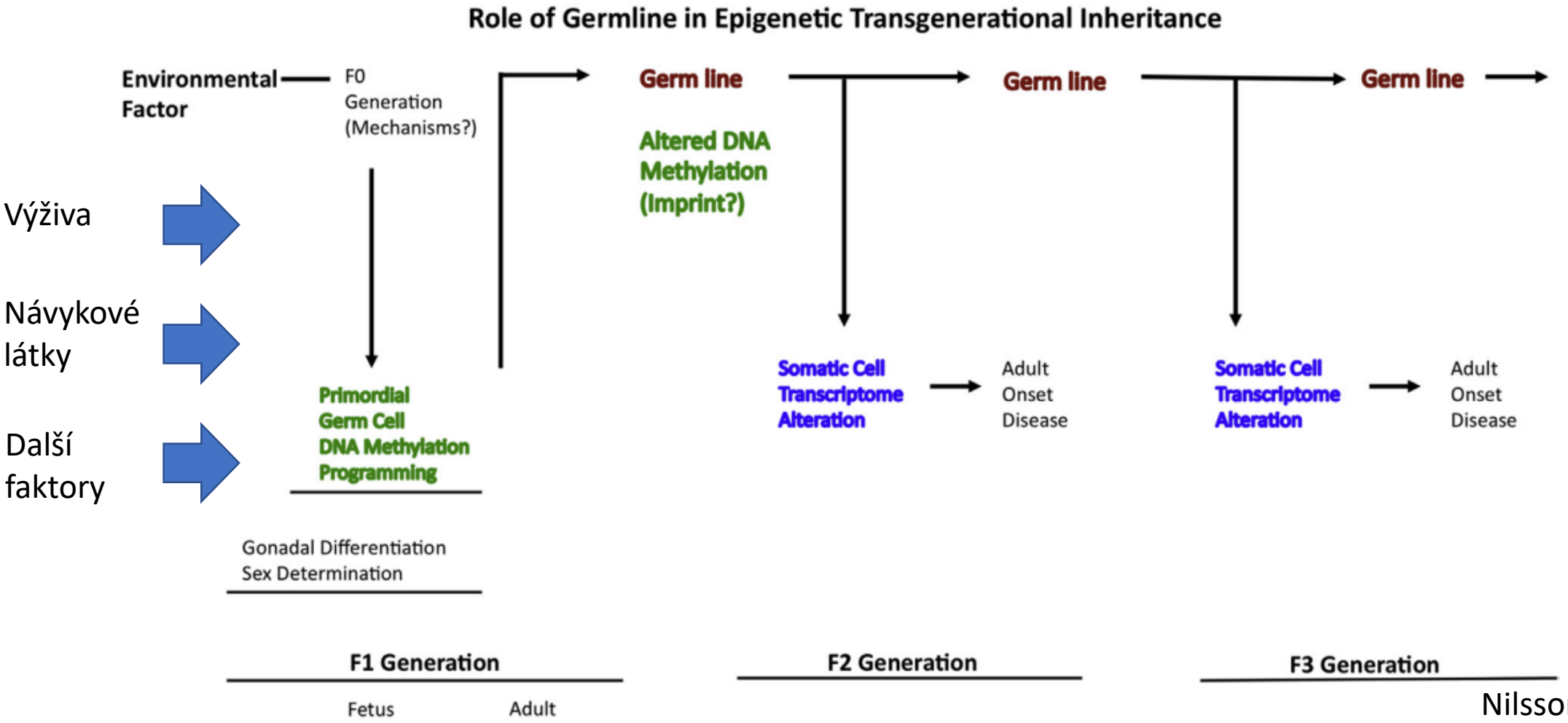
Transgenerační epigenetická dědičnost



Nilsson et al. 2014

- Mezigenerační dědičnost epigenetických změn zárodečnou dráhou bez vlivu prostředí působící na fenotypovou variabilitu
- Vystavení zárodečné dráhy působení vnějších vlivů ovlivňuje u samic až tři generace (epigenetická dědičnost; u samců pouze dvě), za transgenerační epigenetický fenotyp je považována až „de-novo“ zárodečná dráha F3 generace (u samců F2)

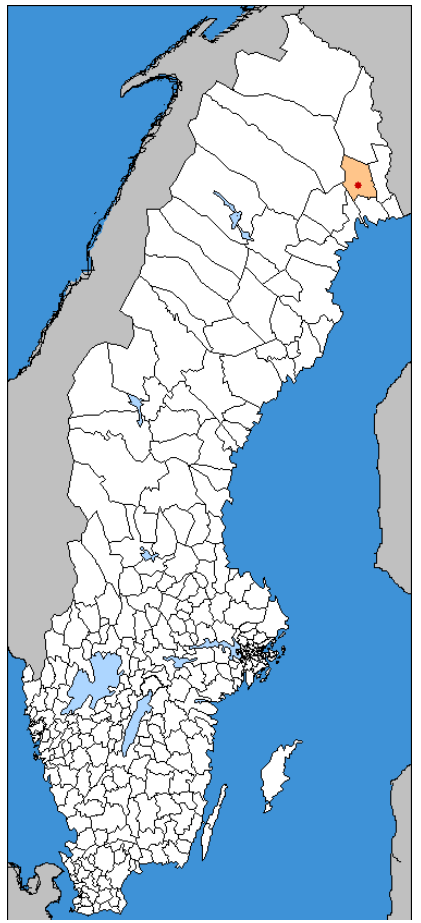
Důsledek a význam transgenerační epigenetické dědičnosti v biologii nemocí a fenotypových změn



Nilsson et al. 2014

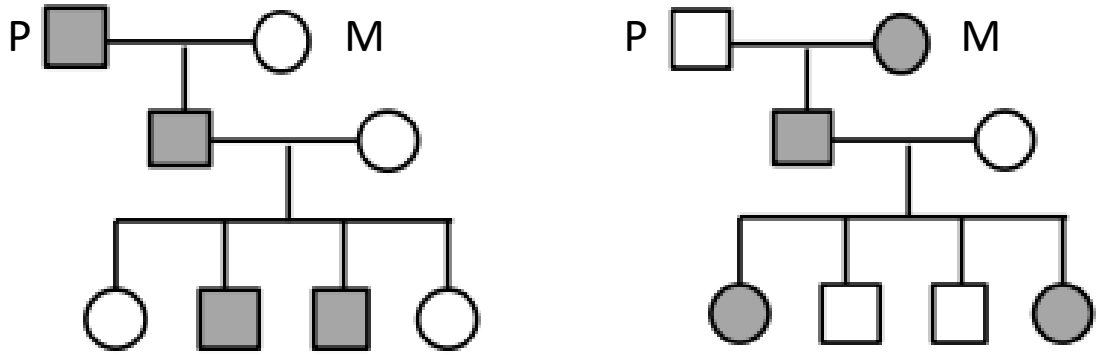
Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – Overkälix

- Izolovaná oblast v severním Švédsku
- Časté periody hladomoru, přesně dokumentovány záznamy sklizně vs. cena potravin
- Korelace mezi hladověním u prarodičů a sníženou životaschopností vnoučat
- Sensitivní doba ovlivněná přijmem jídla v období „pomalého růstu“= 9-12 let pro mužskou linii; 8-10 let u žen



Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – Overkälix

- Transgenerační efekt na potomstvo (rodiče-děti-vnuci)
- Pohlavně vázaná
- Paternální (ne)dostatek obživy (vliv prostředí) děděný přes mužskou linii (CVD,diabetes)
- Maternální (ne)dostatek obživy (vliv prostředí) děděný přes dceřinou linii (vysoká úmrtnost)

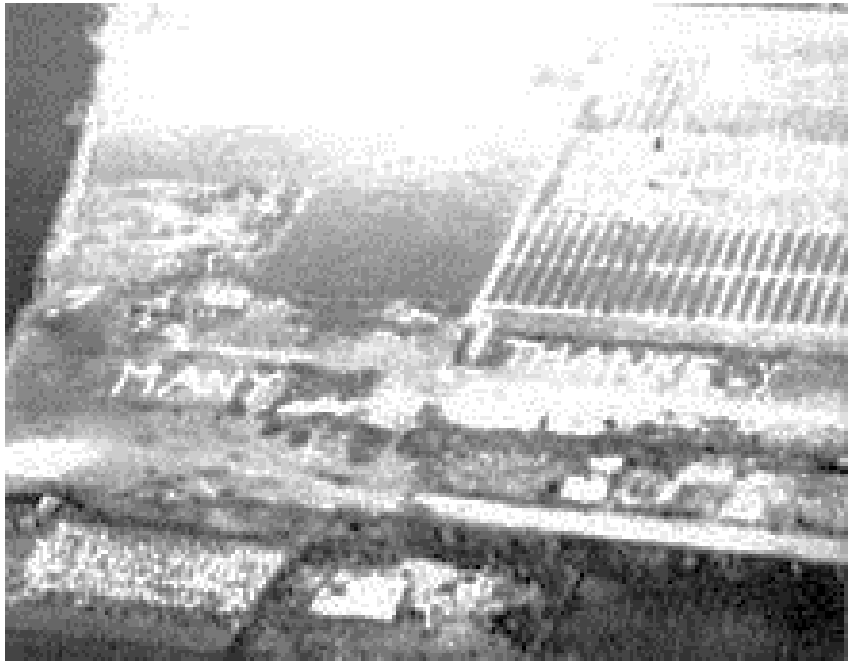


Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – holandský hladomor (studie na lidech)

- Hladomor během německé blokády 1944 – 1945, zesílený zimou a nedostatkem ostatních potravin
- Zásoby jídla se propadly nejdříve na 2200-1800g chleba/týden, později 1400-1000-400g+1kg brambor (cca. 600 – 1000 kalorií/den) na osobu
- Hladomor byl ukončen osvobozením v květnu 1945

Vliv prostředí na epigenetickou dědičnost – holandský hladomor (studie na lidech)

- „Manna“ záchranné operace („Švédský chléb“ a „Royal Airforece Manna“)
- **Studie souboru jedinců, kteří byli vystaveni hladomoru během kojení nebo během početí**
  - **Hladovění před početím-po početí vedlo ke zvýšení mentálních a metabolických poruch+poruchy zpracování glukózy (vyšší frekvence diabetu v potomstvu, obezita a kardiovaskulární choroby)**
  - **Žádné/nízké riziko u dětí, které nebyli vystaveny hladovění během početí nebo pokud se hladovění objevilo později během kojení**

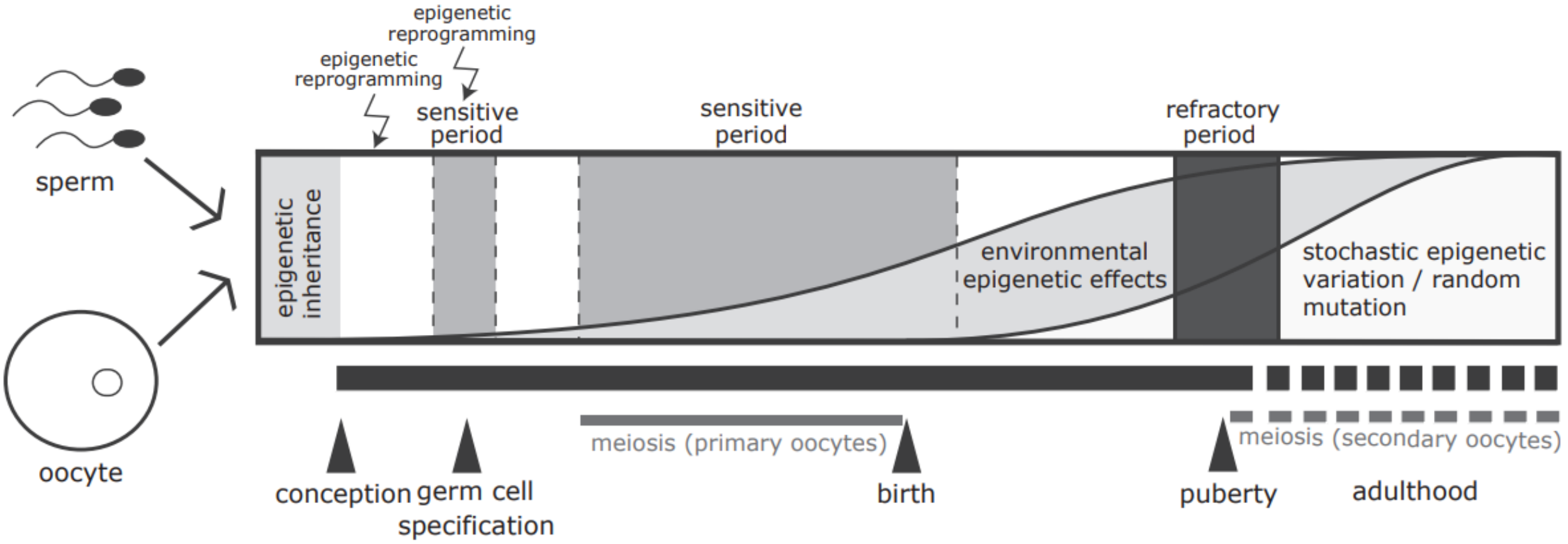


Holandský hladomor – epigenetické faktory

- Zvýšený výskyt poruch byl asociován se změnami DNA methylace malého počtu genů
  - IGF2
  - GNAS
  - MEG ICRs (imprintované geny)
  - Geny metabolických drah

- Současná data však ukazují nízkou transgenerační dědičnost!
  - „Vývojový původ zdraví a nemoci dospělých jedinců“ = **Barkerova hypotéza** (vysvětluje významné a permanentní změny dospělých jedinců způsobené vlivy *in utero* a po početí) – Holandský hladomor – podvýživa způsobuje nízkou porodní váhu, která koreluje s obezitou, diabetem II. Typu
  - „Thrifty phenotype“ – hypotéza programovaného ukládání energie u jedince, pokud není dostatek před a po početí (**mající zřejmě epigenetický základ**)

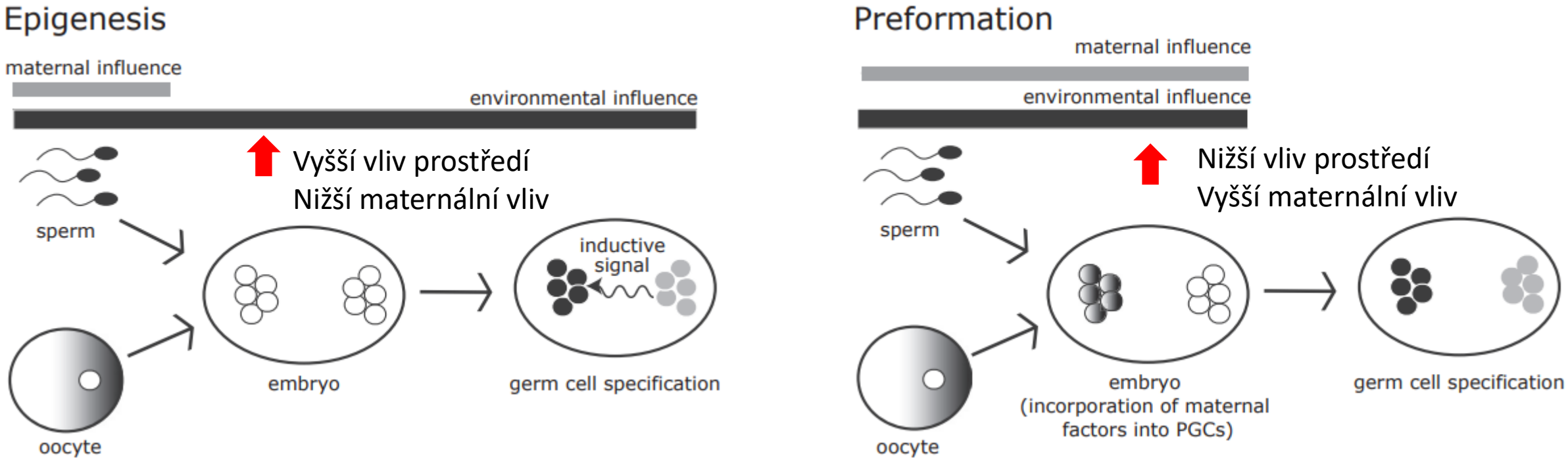
Epigenetické reprogramování během vývoje a sensitivní období



Osborne et al. 2014

Strategie formování zárodečné dráhy a epigenetická dědičnost

- **Epigeneze** – zárodečné buňky jsou specifikovány později během vývoje na základě vnějších signálů (vliv změn, ke kterým dochází v post-zygotickém období)
- **Preformace** – vliv dědičného materiálu (větší maternální efekt, menší vliv prostředí)



Osborne et al. 2014

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]

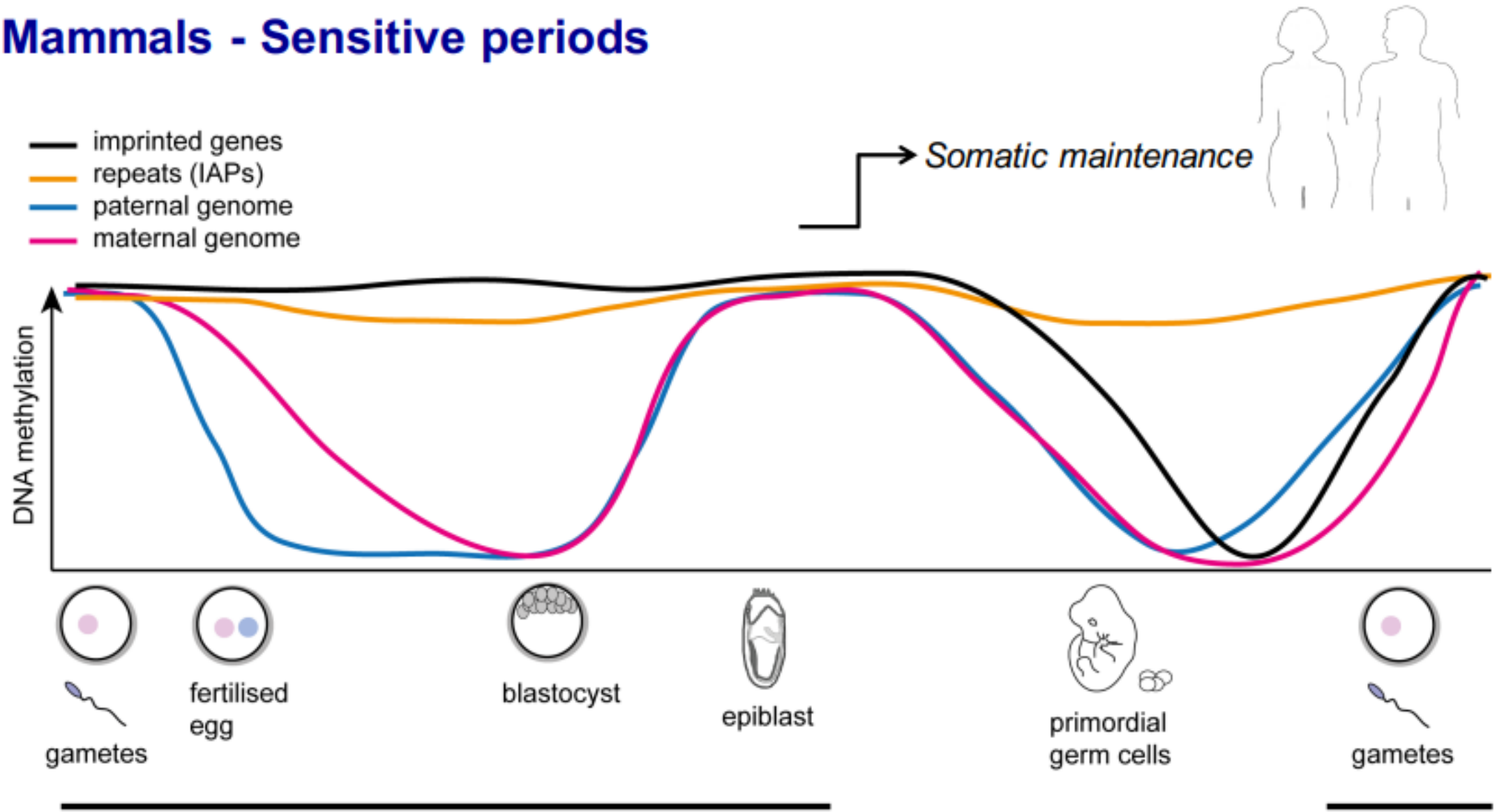
[1]Department of Radiation Oncology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA; [2]University Program in Genetics and Genomics, and [3]Integrated Toxicology Program, Duke University, Durham, North Carolina, USA; [4]Department of Pediatrics, and [5]Department of Molecular and Human Genetics,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

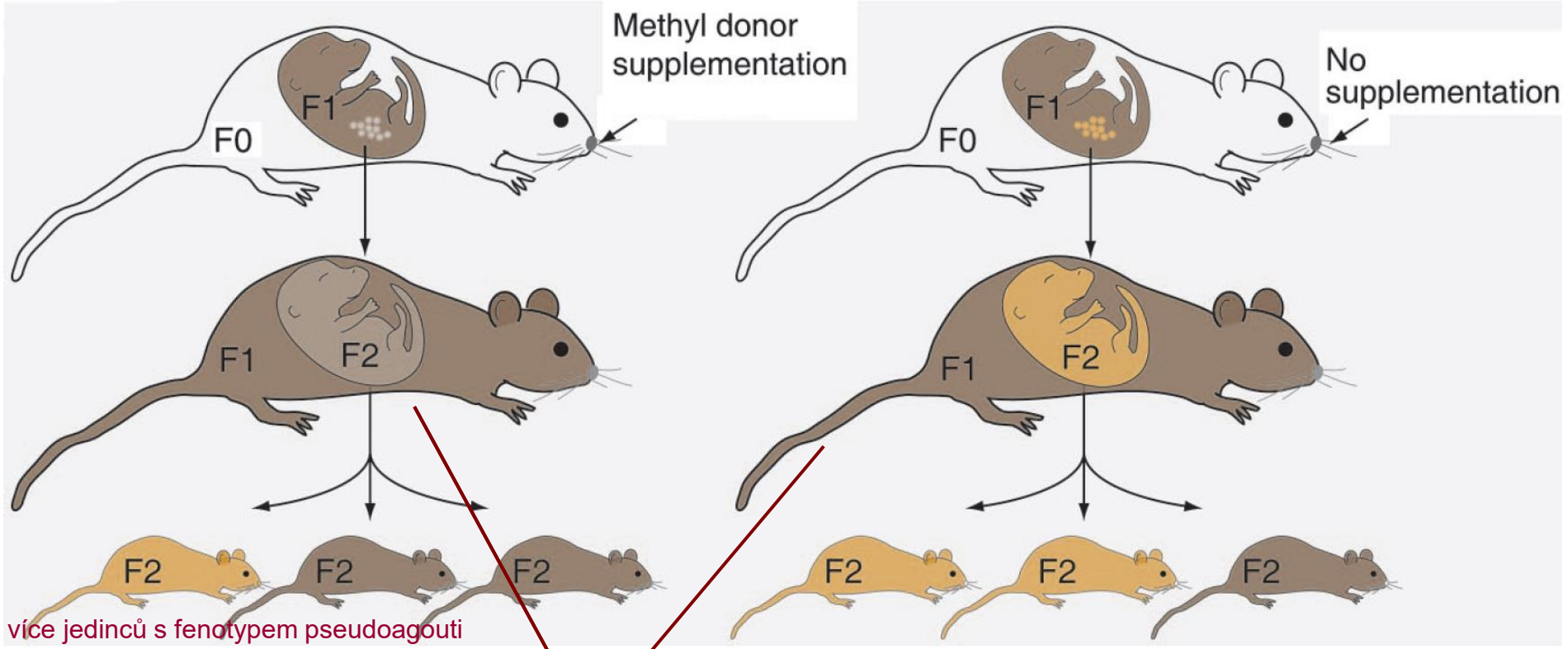
- GENISTEIN

+ GENISTEIN

Mammals - Sensitive periods



Blewit, University of Melbourne



více jedinců s fenotypem pseudoagouti

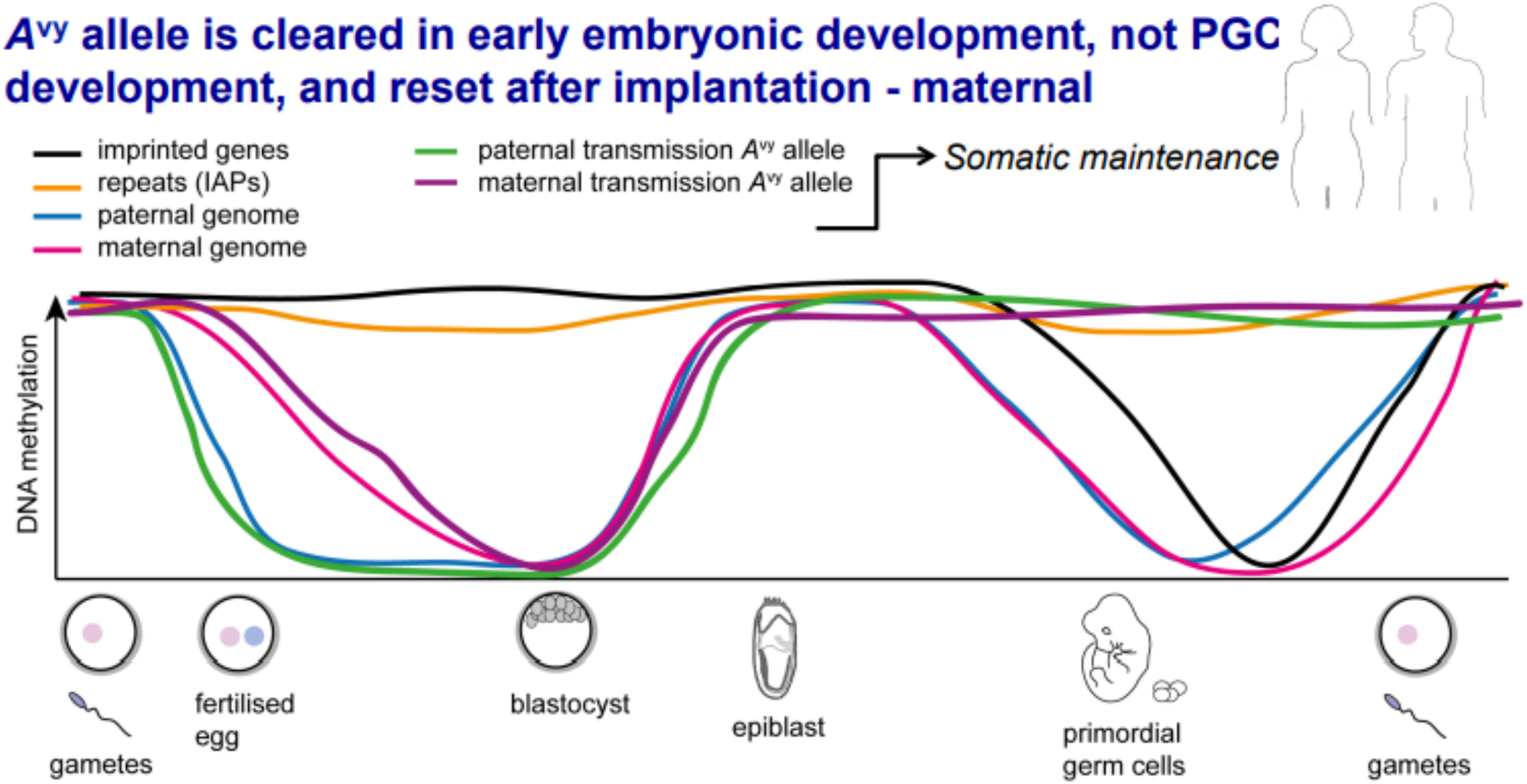
Tyto dvě myši mají stejný genotyp (*A*^{vy}/*a*) i fenotyp (pseudoagouti) … ale odlišné potomstvo

PNAS

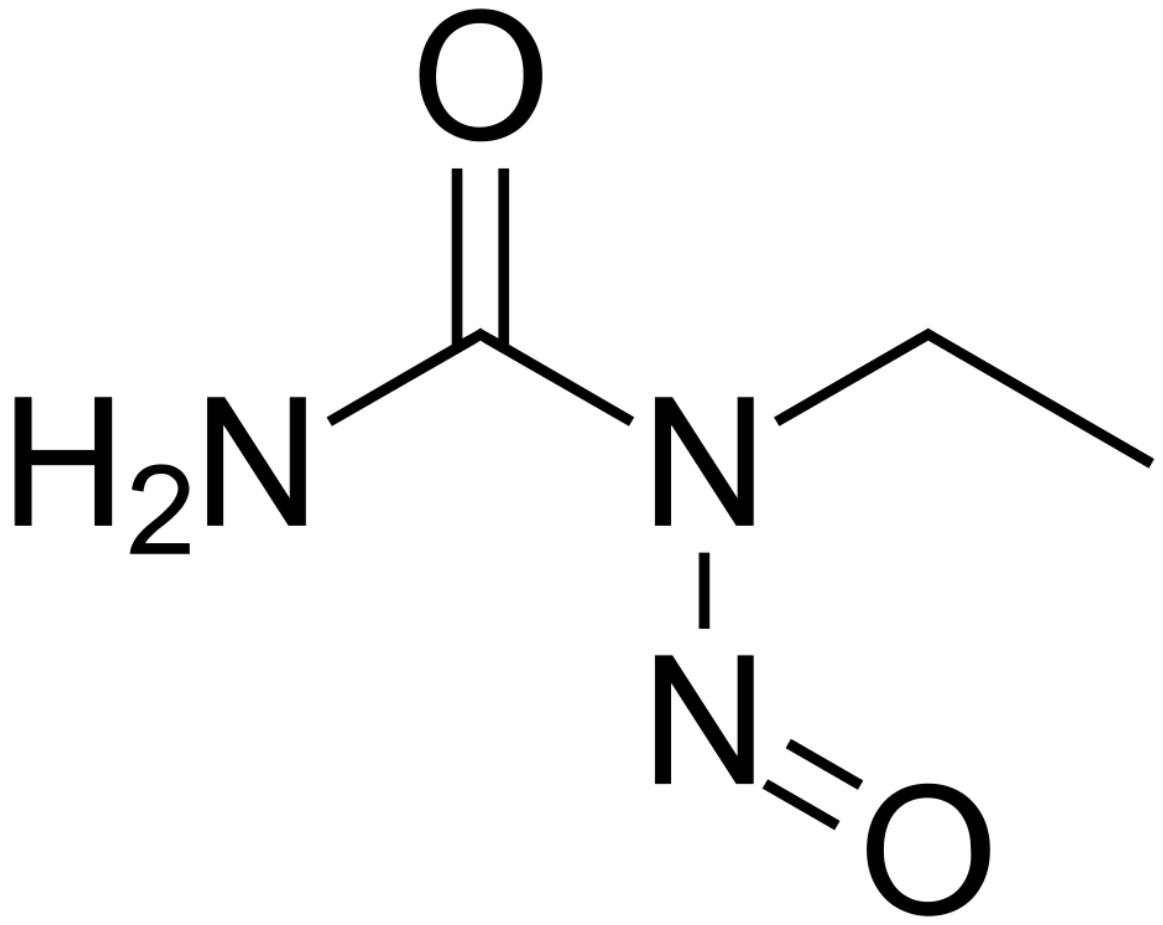
Germ cells carry the epigenetic benefits of grandmother's diet

Craig A. Cooney*
Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR 72205

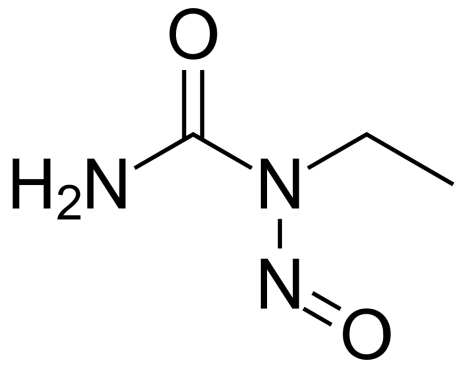
A^{vy} allele is cleared in early embryonic development, not PGC development, and reset after implantation - maternal



Momme – honba za epigenetikou

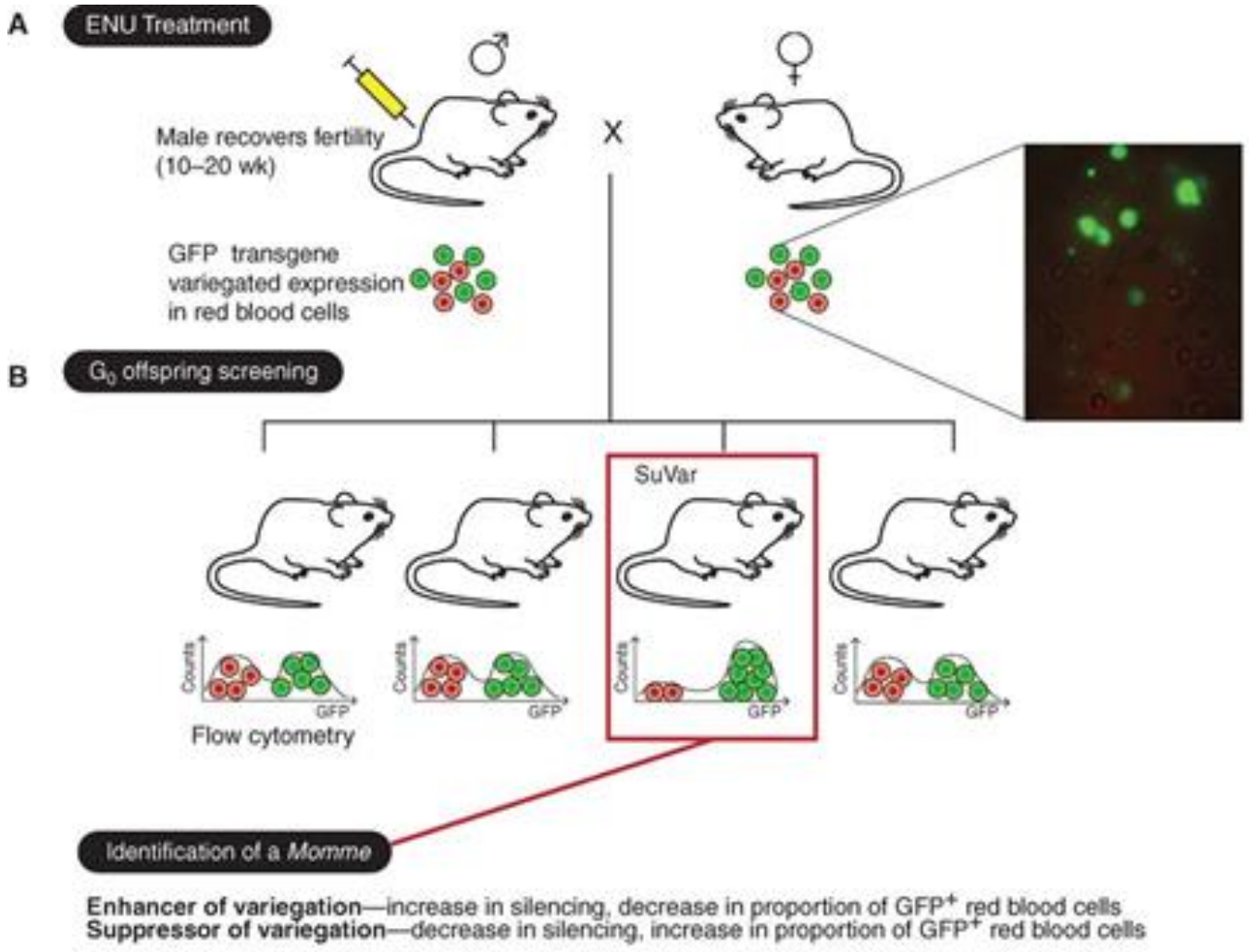


Momme – hledání genů odpovědných za epigenetické reprogramování



ENU –

- vysoce toxický mutagen působící 1 mutaci/700 různých oblastí
- Účinky hlavně ve spermatocytech



Blewitt et al. 2014

C

Mapping the mutation

F2 offspring
Mutant or wild type by GFP expression

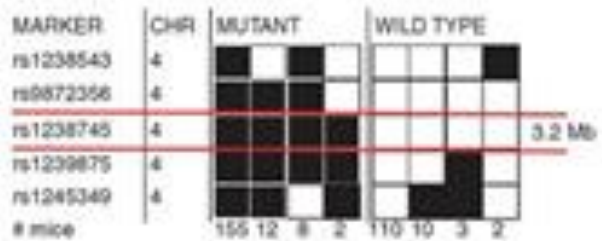
Positional cloning

Microsatellite markers
(historically)

OR

SNP array
(current)

Fine mapping



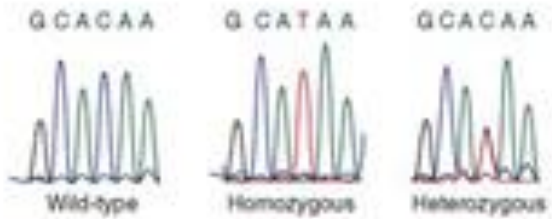
D

Mutation identification

Candidate gene sequencing
(historically)

OR

exome capture and deep sequencing
(current)



Blewitt et al. 2014

Děkuji za pozornost!