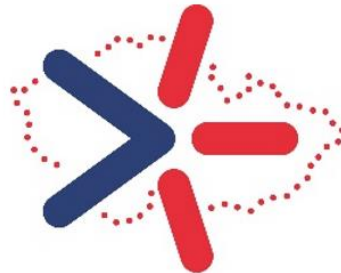




Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

MSMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

EPIGENETIKA

Miloslava Fojtová

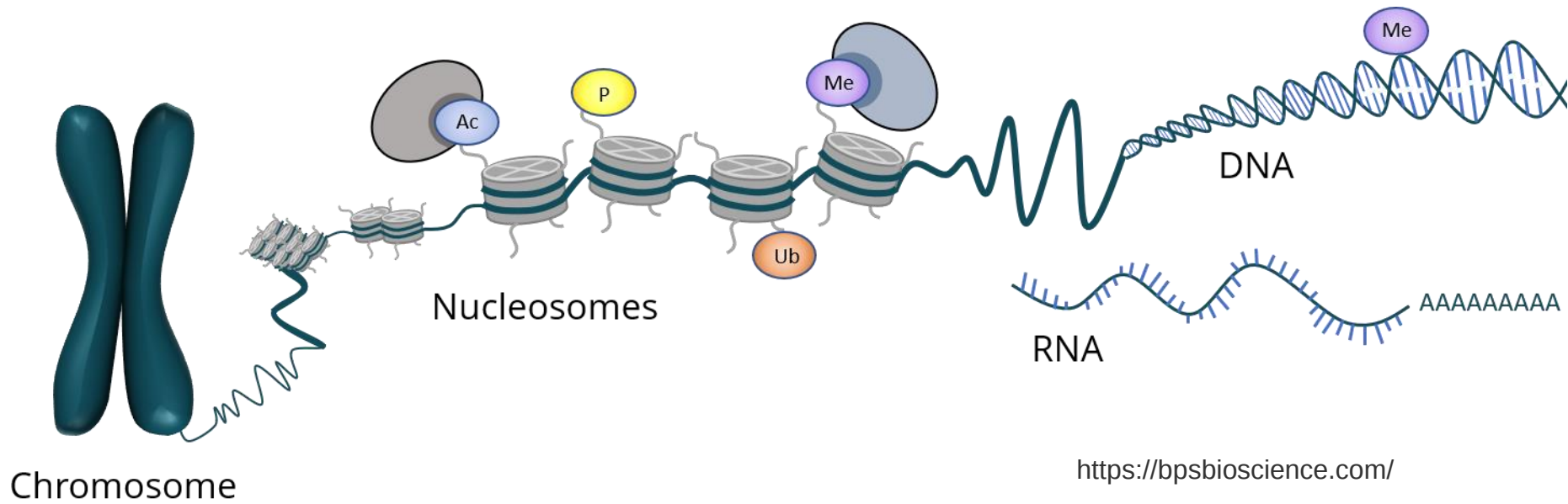
Molekulární komplexy chromatinu, Mendlovo centrum genomiky a proteomiky rostlin,
CEITEC MU

Národní centrum pro výzkum biomolekul, PřF MU

fojtova@sci.muni.cz



MUNI
SCI



<https://bpsbioscience.com/>

Epigenetická informace

Mitoticky i meioticky děděné změny genové exprese, které nesouvisí se změnou primární struktury DNA

Epigenetickou kontrolu zprostředkovávají

- modifikace makromolekul; DNA a histonů:

METHYLACE DNA

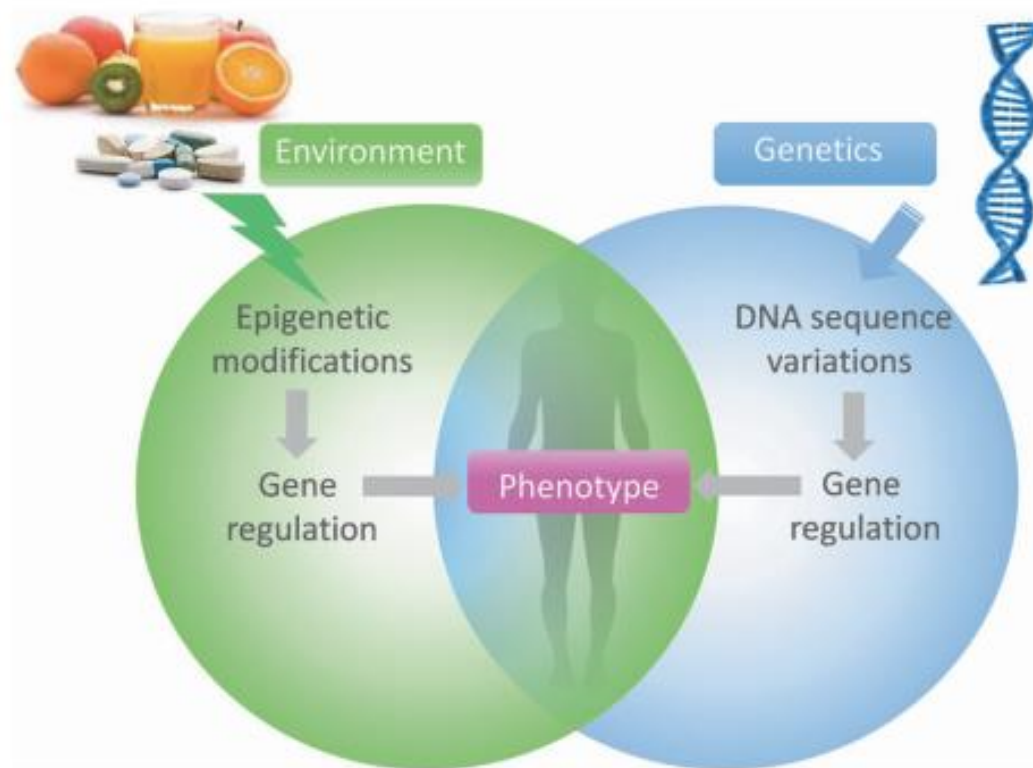
MODIFIKACE (methylace, acetylace, fosforylace, ubiquitinace) histonových proteinů

- malé a nekódující molekuly RNA
- architektura chromatinu



Regulace aktivity a exprese genů během vývoje a diferenciaci, reakce na změněné podmínky

Spojka mezi genotypem a fenotypem



Ariv et al., Hypertension Res 2019

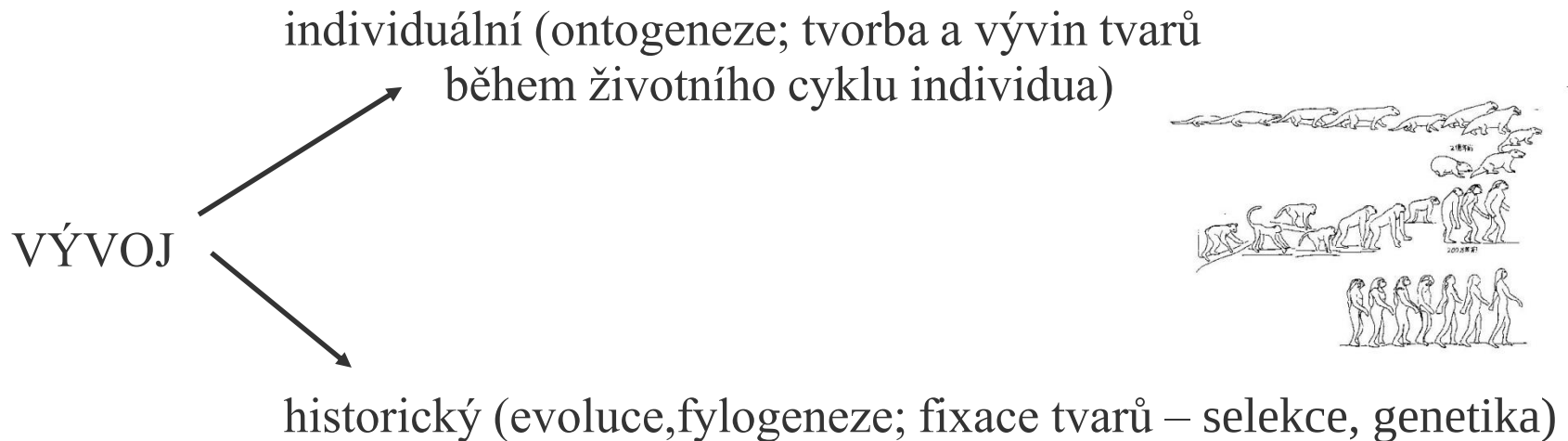
Historie termínu epigenetika

Epigeneze – Aristoteles, 384-322 př. n. l.

individuální vývoj organismů souvisí s postupným
růstem jejich komplexity (individuální tvorba tvarů během
ontogeneze)

X

Proreformismus – ontogeneze je řízena předem danými strukturami



Historie termínu epigenetika

Jean Baptiste Lamarck (1744-1829):

- první pokus o výklad evoluční teorie
- příroda se pod tlakem podmínek vyvíjí – teorie adaptivní evoluce
- adaptivní změny jsou dědičné (teorie dědičnosti získaných znaků)

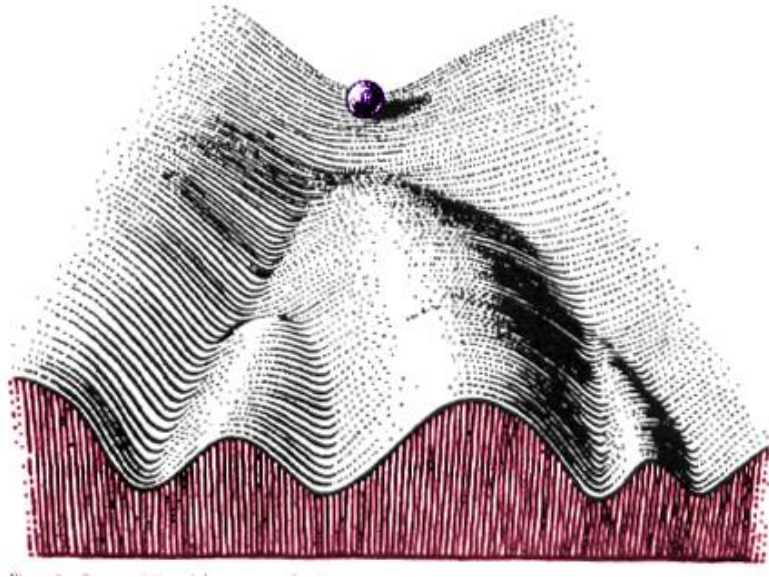
August Weismann (1834-1914):

- sledování dědičnosti indukovaných změn v somatické dráze
- teorie divergence zárodečné a somatické dráhy – Weismannova bariéra

Conrad Hal Waddington (1905-1975):

- „epigenetika“, výsledná podoba organismu není předem absolutně daná, vzniká postupnými kreativními procesy
- „epigenetická krajina“

epigenetická krajina

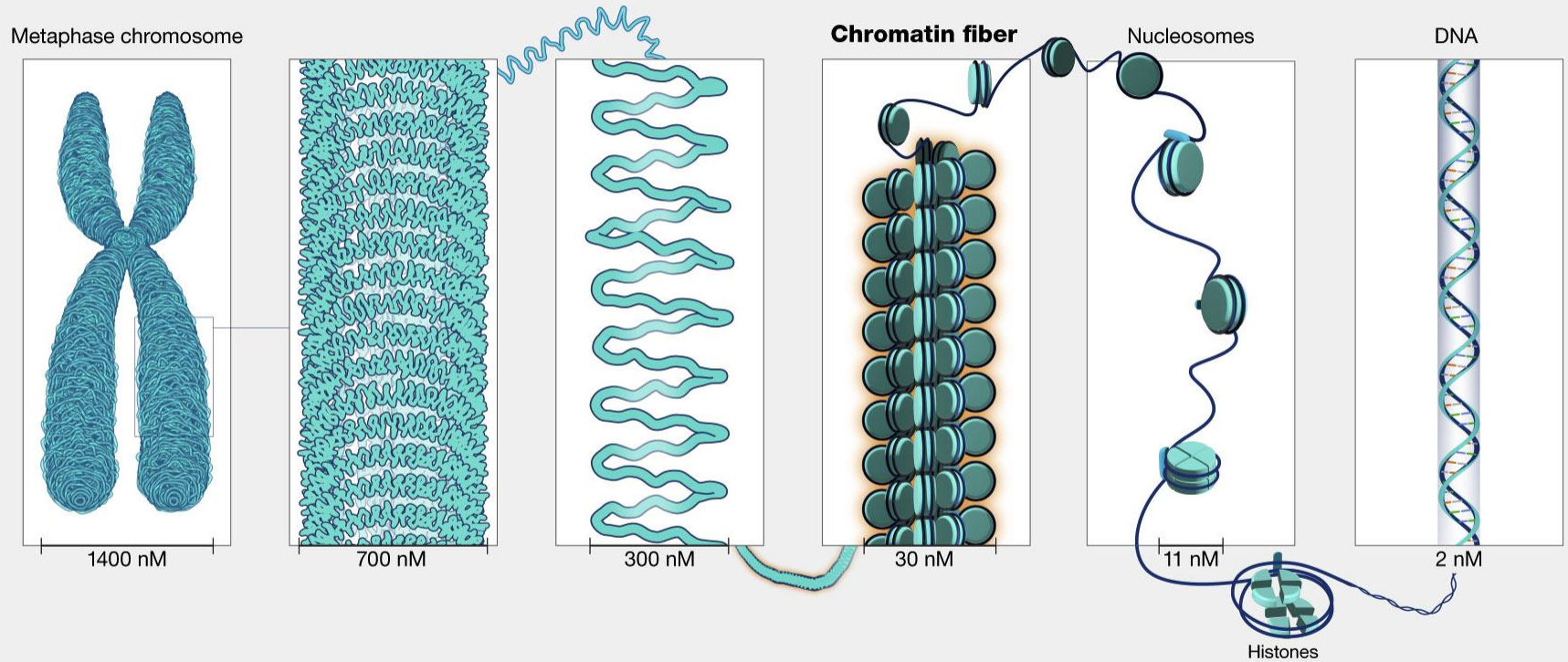


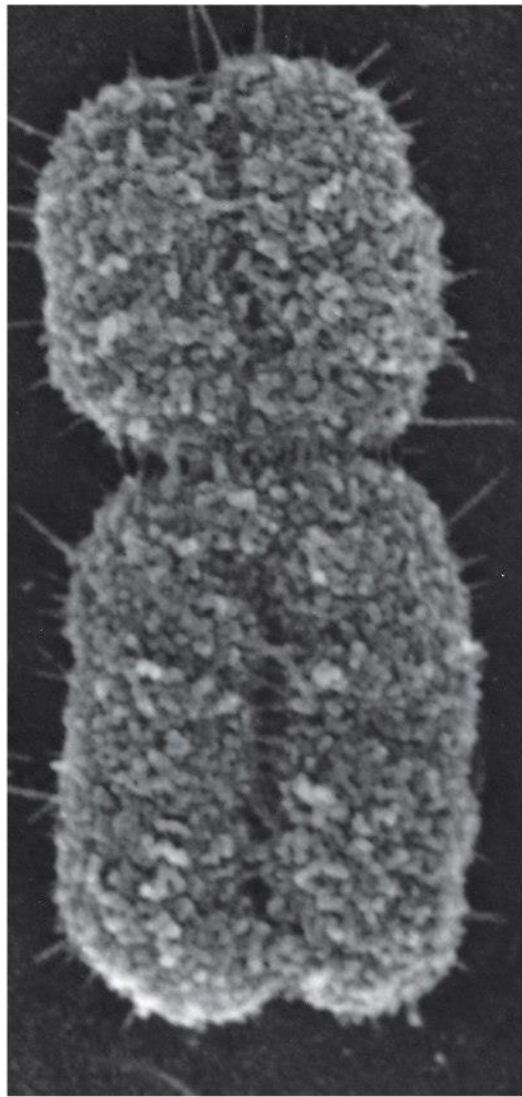
<http://chreoda.nosquare.net/?page=chreoda&action=history&time=20080812-1446.bak>

Richard B. Goldschmidt (1878-1958)

- fenotypová změna souvisí s vlivy prostředí
- vzniká jen omezený počet fenotypů

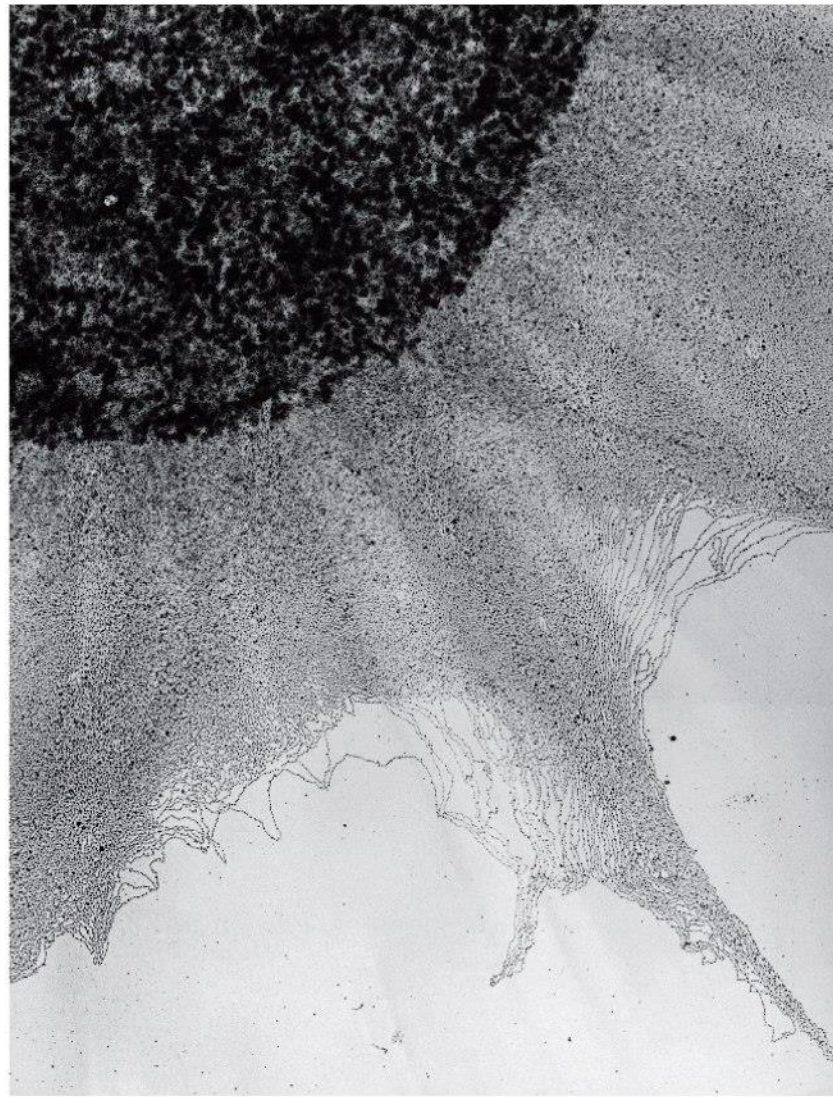
Chromatin





(A)

1 μm



(B)

10 μm

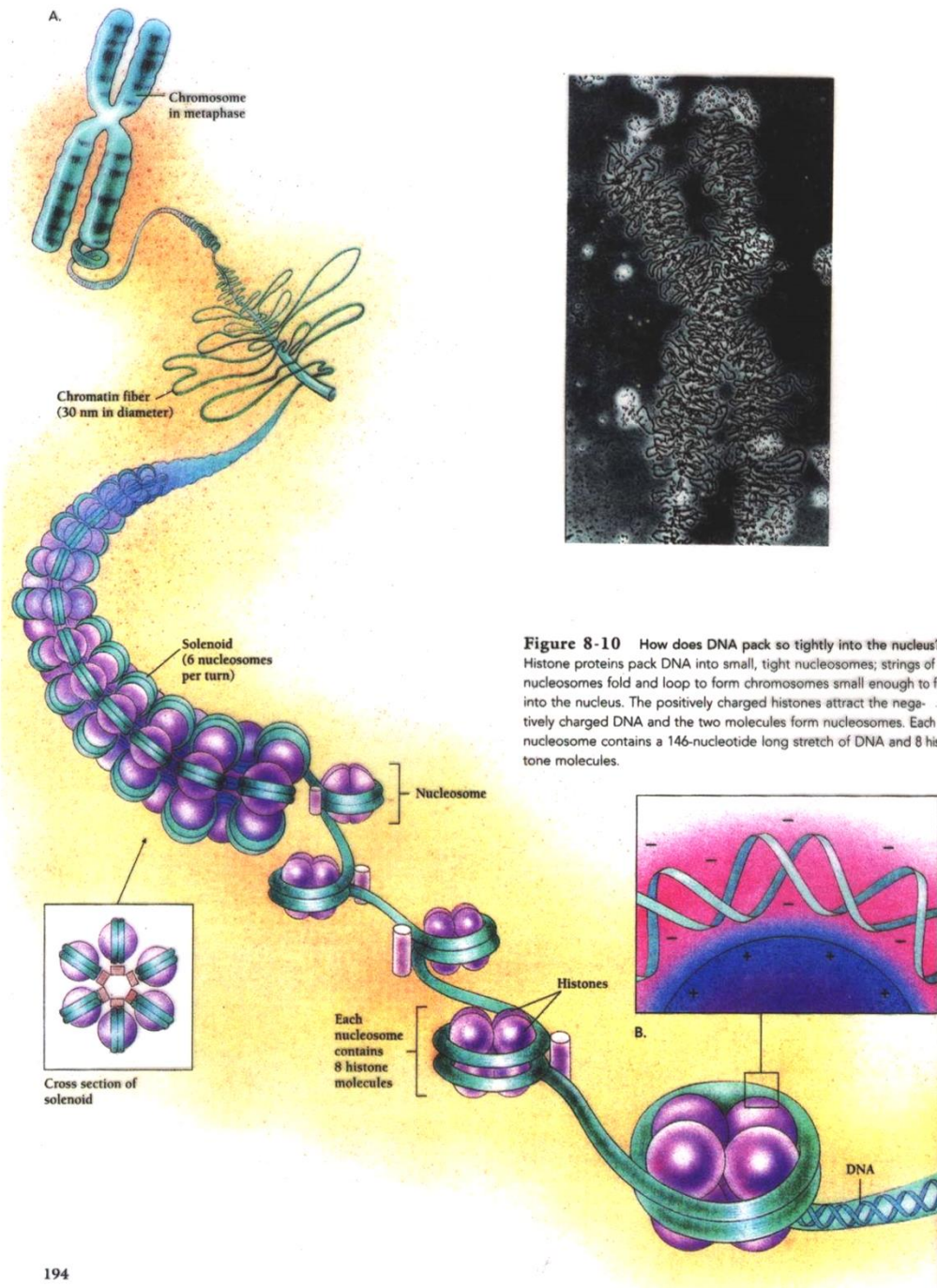
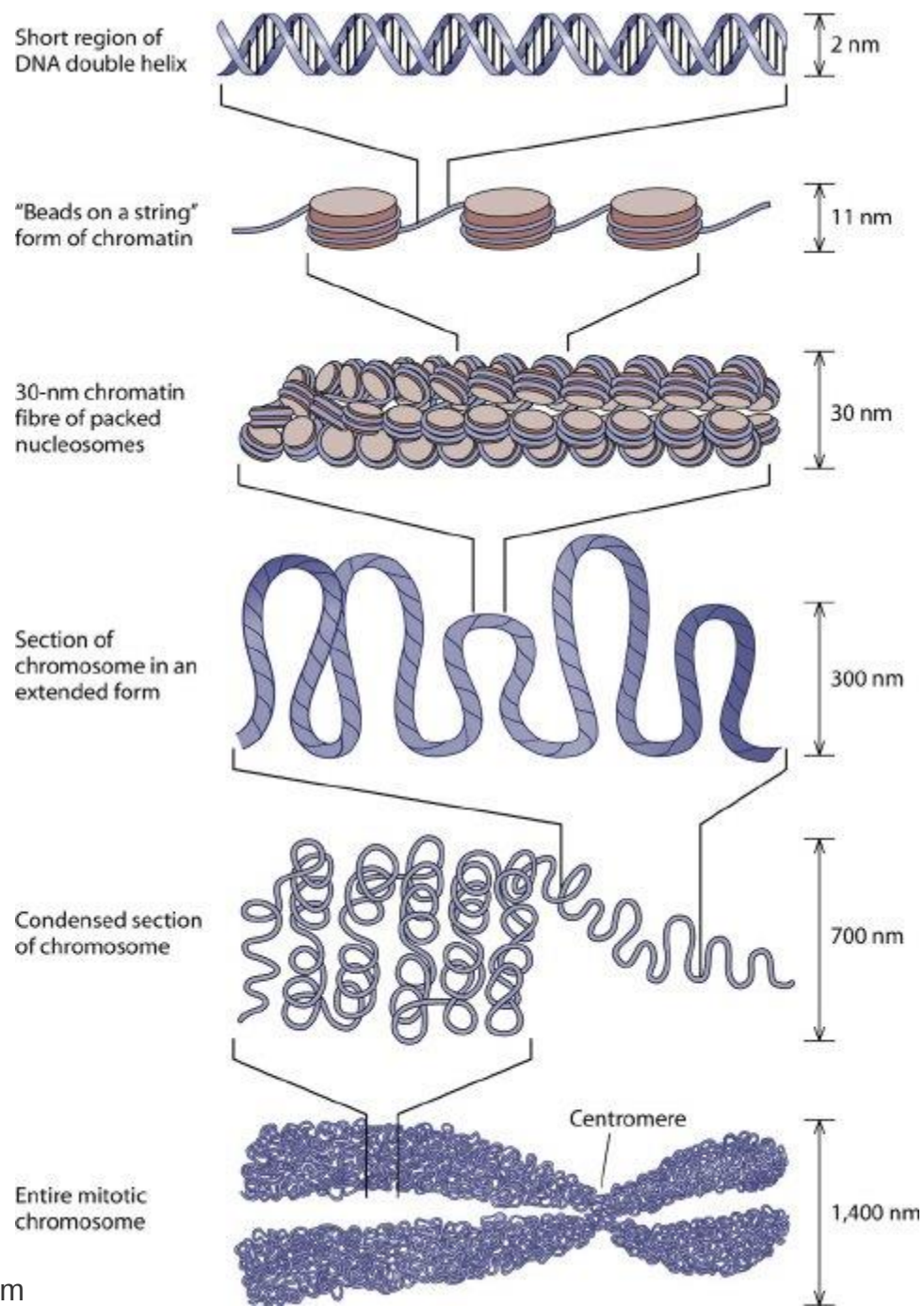


Figure 8-10 How does DNA pack so tightly into the nucleus? Histone proteins pack DNA into small, tight nucleosomes; strings of nucleosomes fold and loop to form chromosomes small enough to fit into the nucleus. The positively charged histones attract the negatively charged DNA and the two molecules form nucleosomes. Each nucleosome contains a 146-nucleotide long stretch of DNA and 8 histone molecules.



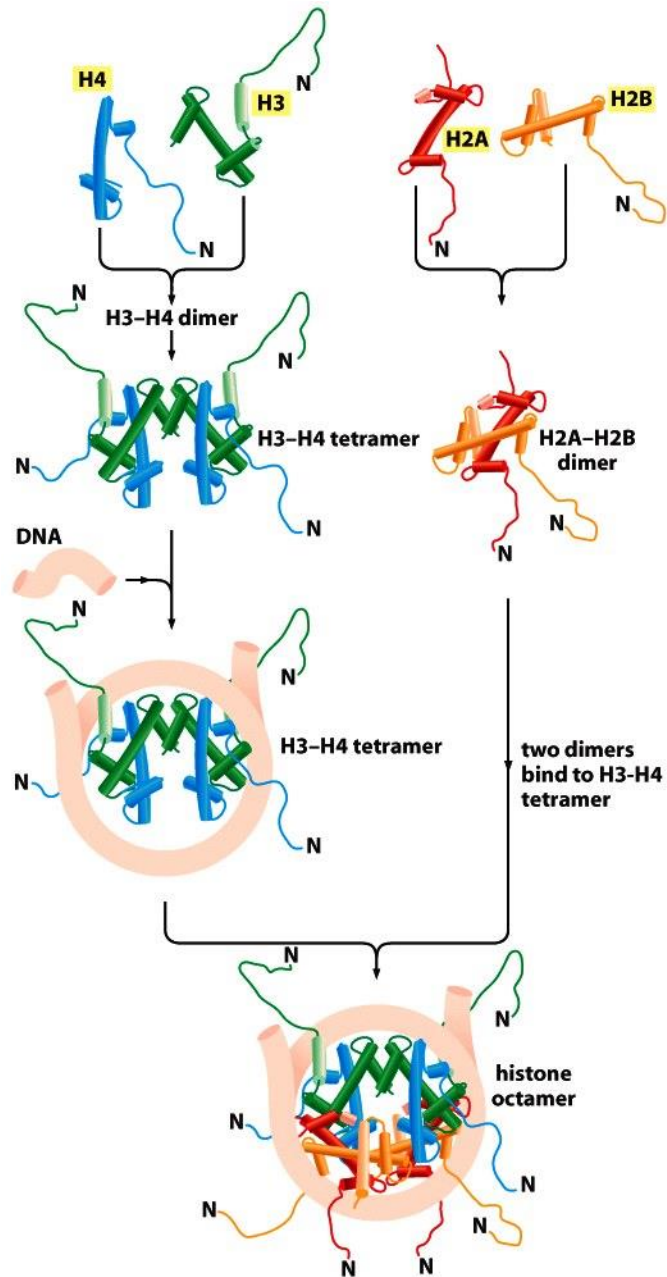
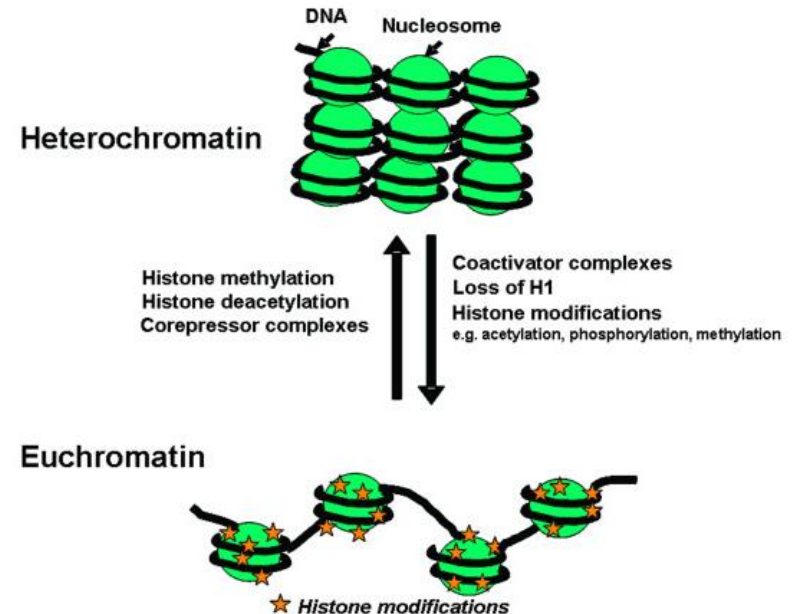


Figure 4-26 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

Stavy chromatinu

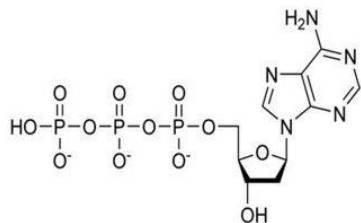
Heterochromatin – vysoce spiralizovaný (kompaktní) chromatin;
transkripčně neaktivní geny, repetitivní sekvence;
oblast centromer, pericentromer a telomer
Konstitutivní a fakultativní heterochromatin
(**methylovaná DNA, deacetylované histony,**
specifická methylace histonů)

Euchromatin – rozvolněné
uspořádání, obsahuje
transkribující se geny
(**nemethylovaná DNA,**
acetylované histony,
specifická methylace histonů)

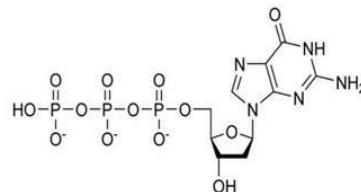


Methylace DNA

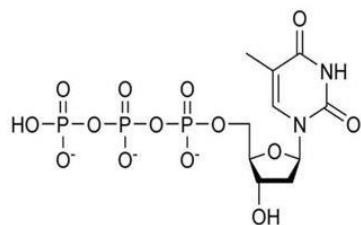
Modifikace cytosinu v poloze 5



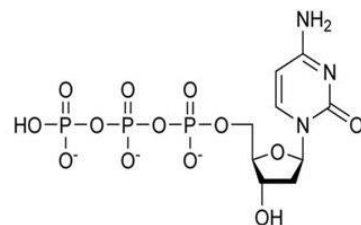
Deoxyadenosine triphosphate (dATP)



Deoxyguanosine triphosphate (dGTP)



Deoxythymidine triphosphate (dTTP)

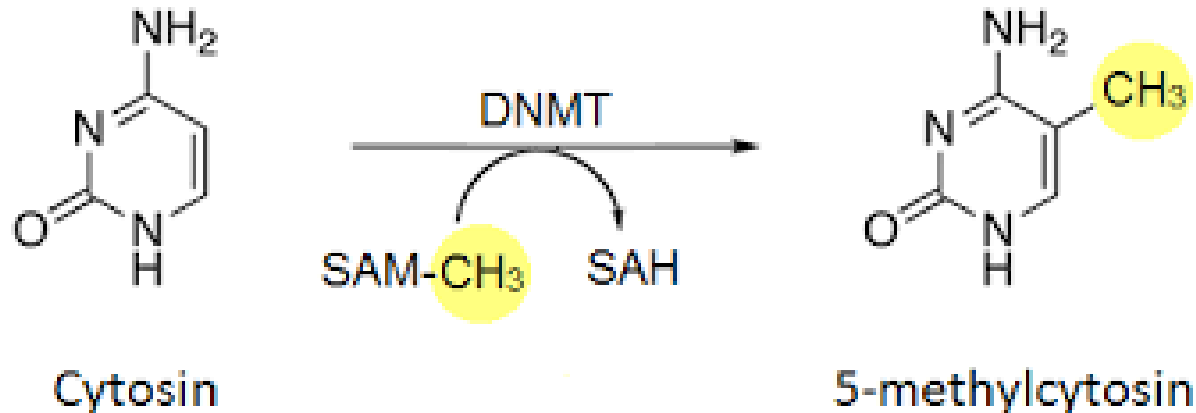


Deoxycytidine triphosphate (dCTP)

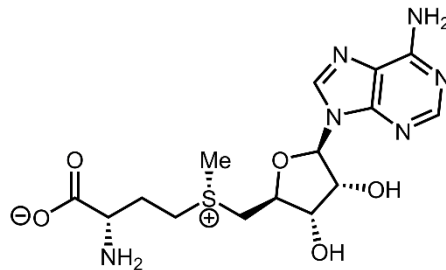
Methylace DNA

Modifikace cytosinu v poloze 5, nejčastější modifikace DNA u eukaryot

Postreplikativní modifikace



(B. Vyskot, Epigenetika 2010)



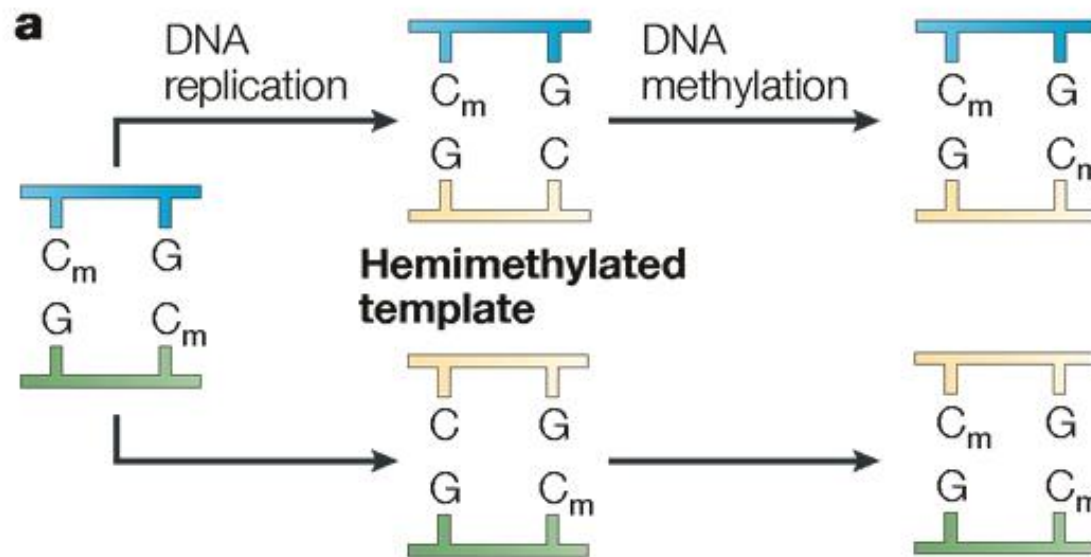
SAM – S-adenosyl-methionin; v transmethylační reakci se konvertuje na S-adenosyl-homocystein

Methylace DNA

Distribuce methylace v genomech:

Methylace C v **symetrických** sekvencích – klíčové pro dědičnost methylačního obrazu

- CpG (dublety)
- CpHpG (triplety; rostliny; H = A,T,C)



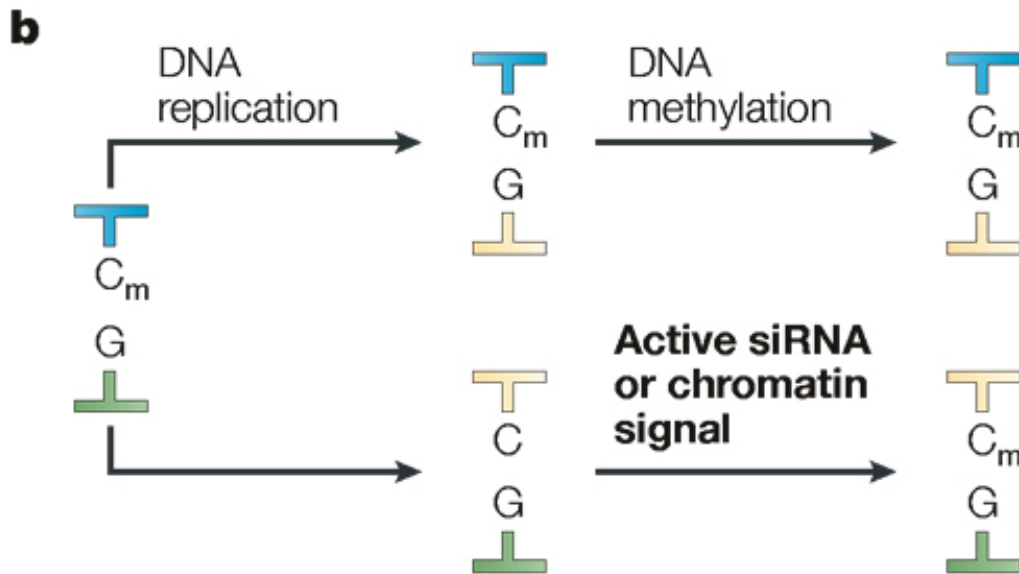
Methylace DNA

Distribuce methylace v genomech:

Methylace C v **symetrických** sekvencích – klíčové pro dědičnost methylačního obrazu

- CpG (dublety)
- CpNpG (triplety; rostliny)

Methylace C v **asymetrických sekvencích**
(rostliny, omezeně u živočichů)

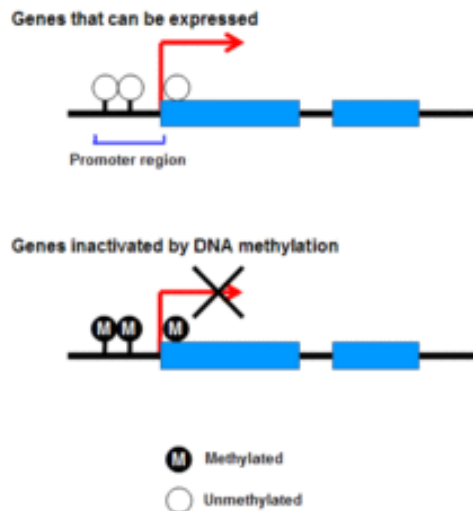


Chan et al., Nat Rev Genet 2005

Methylace DNA a exprese genů

UMLČENÍ GENU

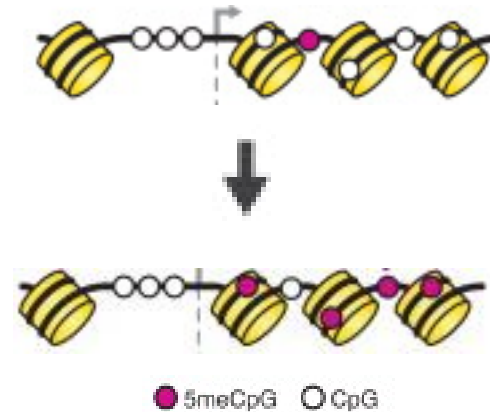
TRANSKRIPČNÍ



- inaktivní promotor
(žádný transkript
nebo pouze malé
množství)

- methylace DNA v
oblasti promotoru

POSTTRANSKRIPČNÍ



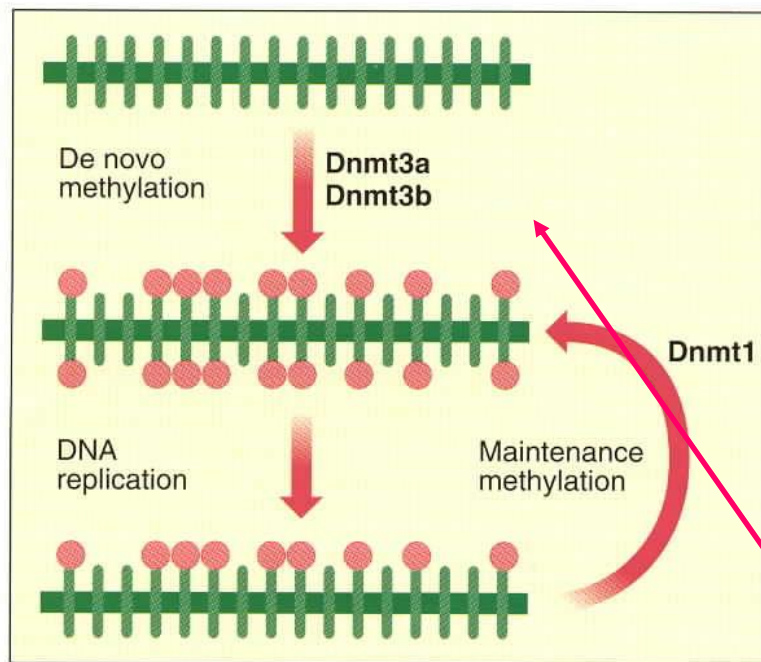
- normální transkripční
aktivita promotoru

- nestabilní transkript

- methylace DNA v
transkribované oblasti
(hlavně na 3'konci genu)

upraveno podle Kasinathan a Henikoff, 2014 000

Živočišné DNA methyltransferázy



(Bird A, Science, 1999)

Udržovací (maintenance):
methylace hemimetylovaných
vláken po replikaci DNA;
cytosiny v symetrických
motivech (správný embryonální
vývoj, imprinting, inaktivace chr. X)

de novo: methylace dosud
nemetylovaných úseků;
musí existovat podnět (třeba
přítomnost regulačních molekul
RNA-dokázáno pouze v rostlinách;
interakce DNA-DNA v repetitcích;
neobvyklé struktury DNA)

Dnmt2 - u savců, rostlin;

Drosophila – slabá non-CG methylace v časných
fázích vývoje;

S. pombe – mutace, kóduje nefunkční

protein, ale je exprimován

2006 - v savčích buňkách

methyluje tRNA (Asp)

DnmtL – DNA methyltransferázový motiv, katalyticky inaktivní

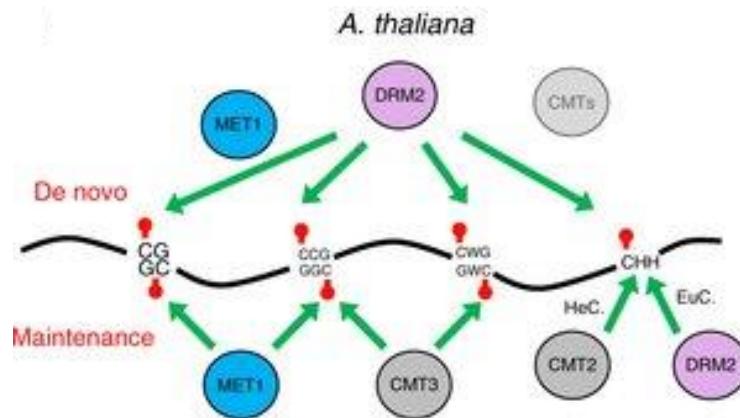
Funkční kooperace s Dnmt3a/b, nezbytná pro genový imprinting

Rostlinné DNA methyltransferázy

MET1 (Methyltransferase 1) - udržovací methylace cytosinů v dubletech CG; homolog Dnmt1

CMT2/3 (Chromomethylase 2/3) - methylace cytosinů v tripletech CHG; unikátní pro rostliny

DRM2 (Domains Rearranged Methyltransferase 2)



Yaari et al., Nat Commun 2019

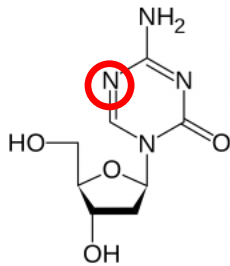
(DDM1 (Decrease in DNA methylation 1) – kóduje protein, který je součástí komplexu remodelujícího chromatin, role v udržování CG i non-CH methylace)

Demethylace DNA

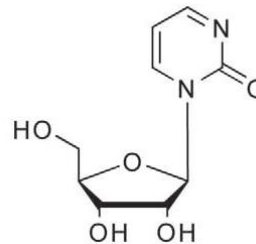
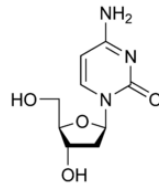
1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

Inhibitory DNA methyltransferáz

Analogy cytosinu:

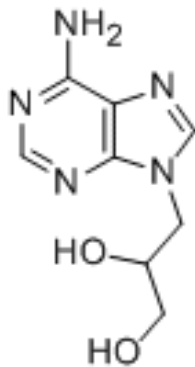


5-aza-deoxycytidine

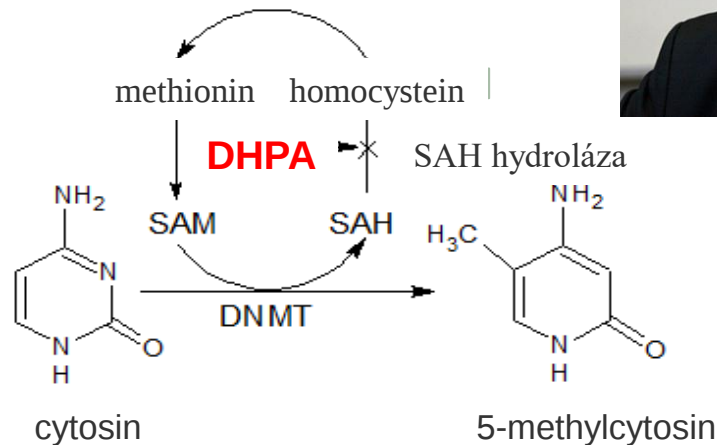


zebularine

DHPA:



(S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenin
(inhibitor SAH-hydrolázy)



Prof. Antonín Holý

Demethylace DNA

1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

2. AKTIVNÍ (v rostlinách)

DEMETER (DME)

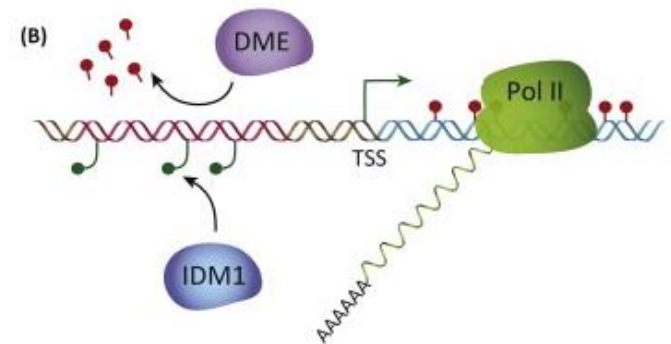
REPRESOR OF SILENCING (ROS)

DNA glykosylázová doména – odstraní 5-mC, lyáza otevře vlákno.

Polymerázy a ligázy doplní mezeru.

DME – vývoj rostliny; kontroluje parentální imprinting
genů v endospermu – hypomethylace promotorů maternálních
alel genů *MEA* (regulátor vývoje endospermu) a *FWA*
(transkripční faktor, podílí se na kontrole doby kvetení).

ROS – uvolňuje TGS transgenů s hypermetylovanými
promotory



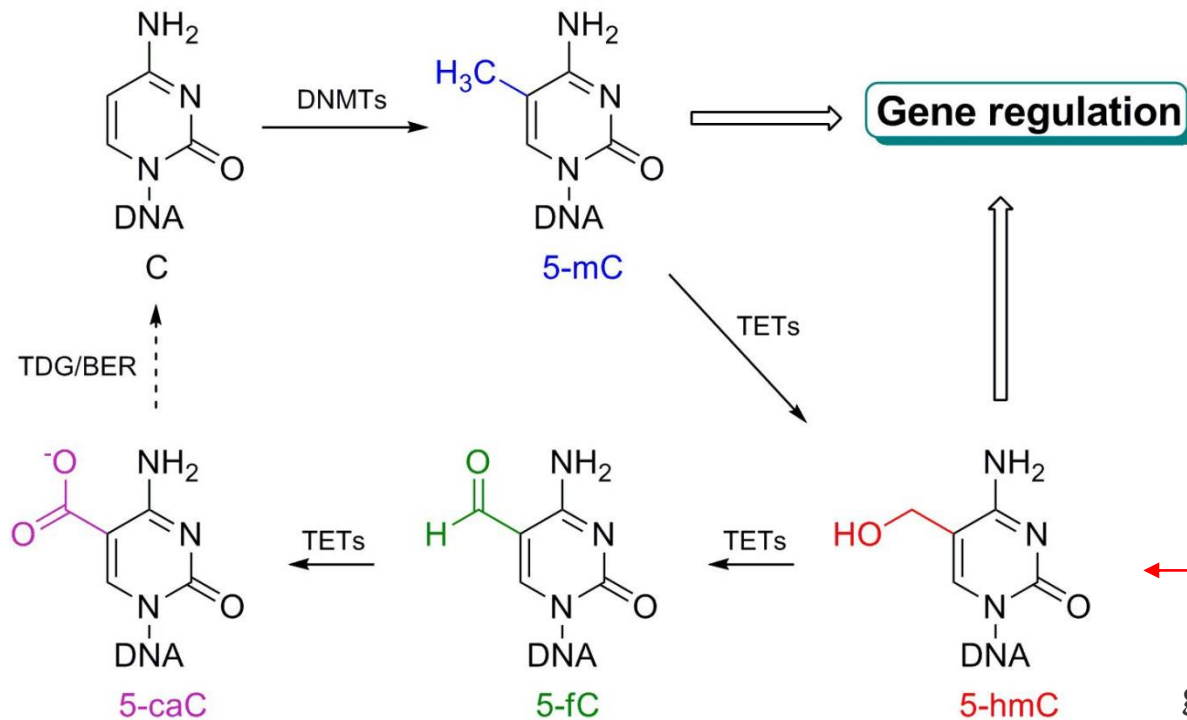
Demethylace DNA

1. PASÍVNÍ – ne-funkce udržovacích methyltransferáz

2. AKTIVNÍ (v živočišných buňkách)

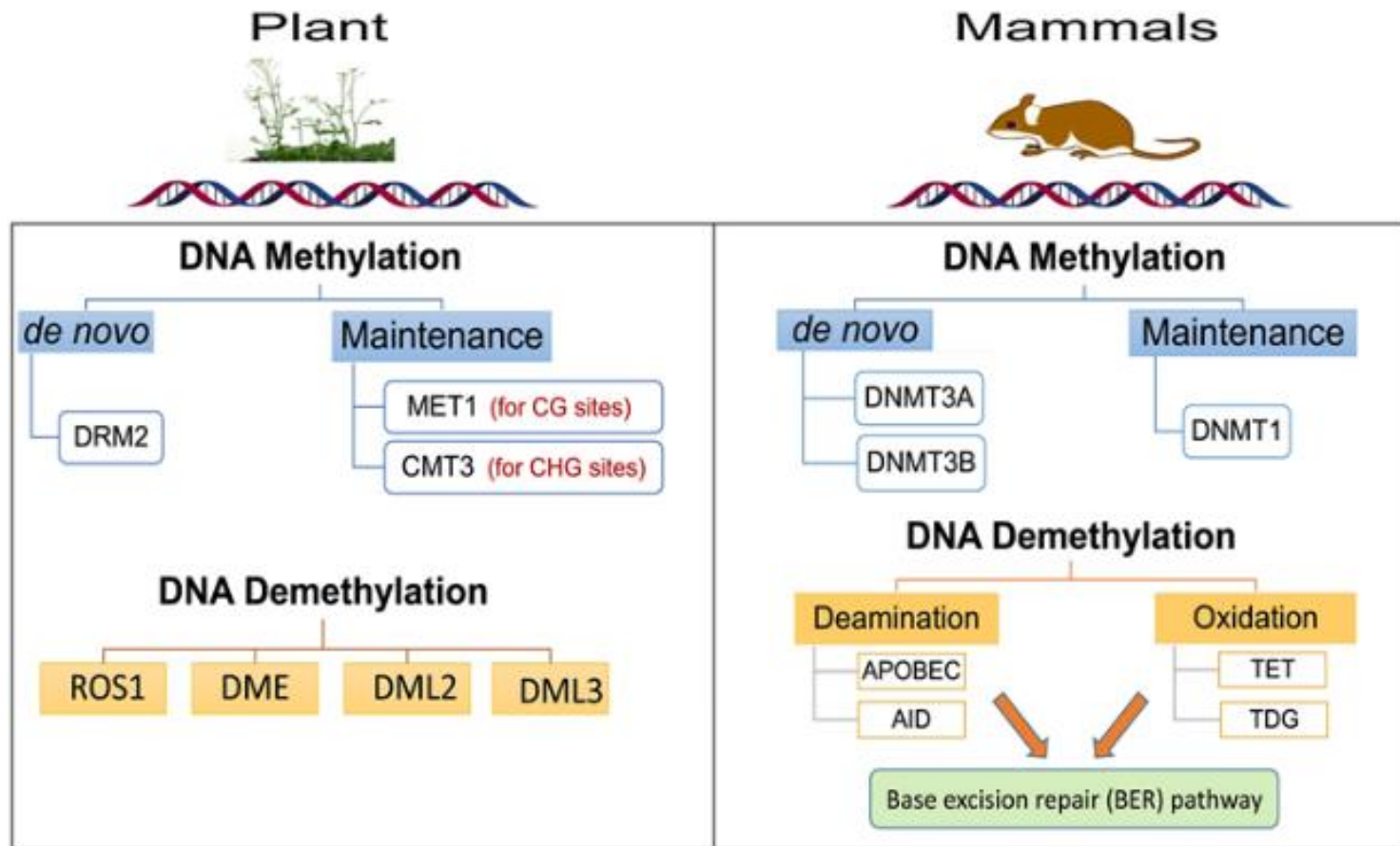
TET – methylcytosine
dioxygenase

TDG /BER
thymin DNA glycosylase /
base excision repair



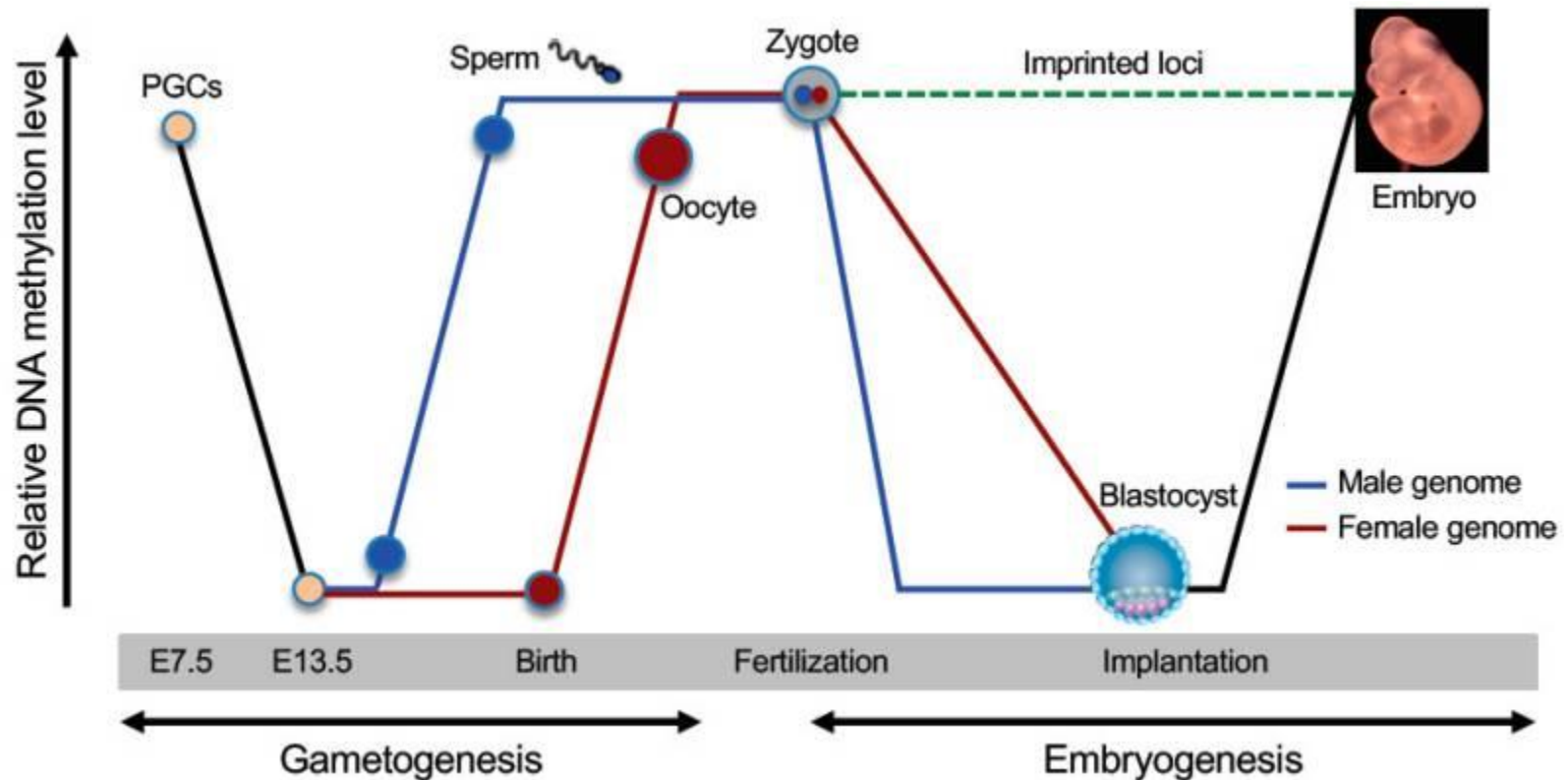
5 – hmC
2006 – objeven v myších
a lidských mozcích

Funkce (?) v regulaci exprese
genů, korelace s acetylací histonů
(pozitivní epigenetické značka)



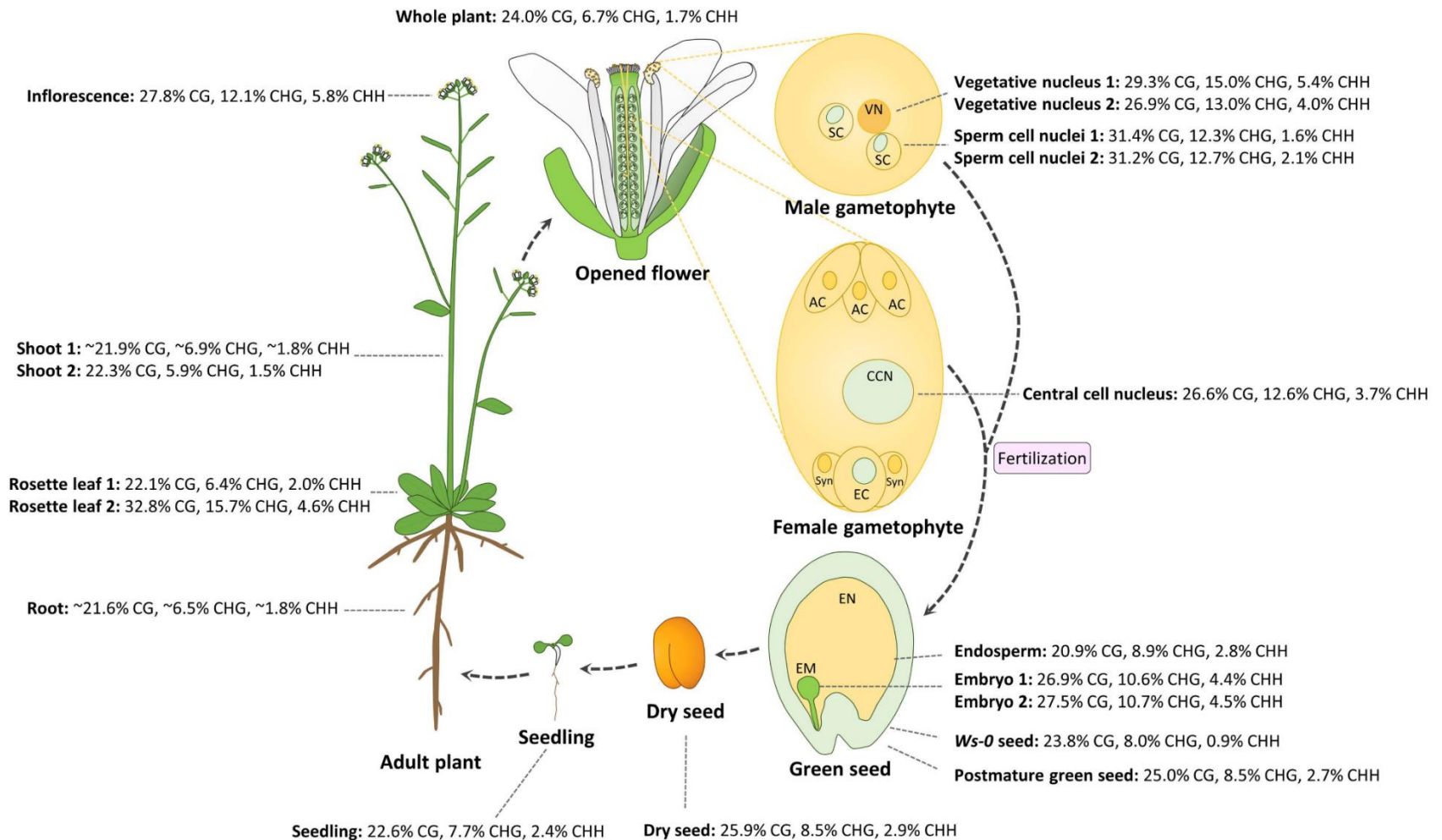
(Elhamamsy, Cell Biochem Funct 2016)

Změny methylace DNA během vývoje - savci



(Zeng and Chen, Genes 2019)

Změny methylace DNA během vývoje - rostliny



(Han et al., Plants 2019)

Modifikace histonů

Methylace - např. lysin v poloze 9 na histonu H3 (H3K9)



Distribuce euchromatinových a heterochromatinových značek v *Arabidopsis thaliana* a myši (podle Fransz et al., 2006)

Modifikace	Stupeň	<i>A. thaliana</i>		myš	
		euchromatin	heterochromatin	euchromatin	heterochromatin
H3K9	mono	-	+	+	-
	di	-	+	+	-
	tri	+	-	-	+
H4K20	mono	-	+	+	-
	di	+	-	+	-
	tri	+	-	-	+
5m-C		-	+	-	+



Jde o druhově- a dokonce lokus-specifické, dynamické modifikace

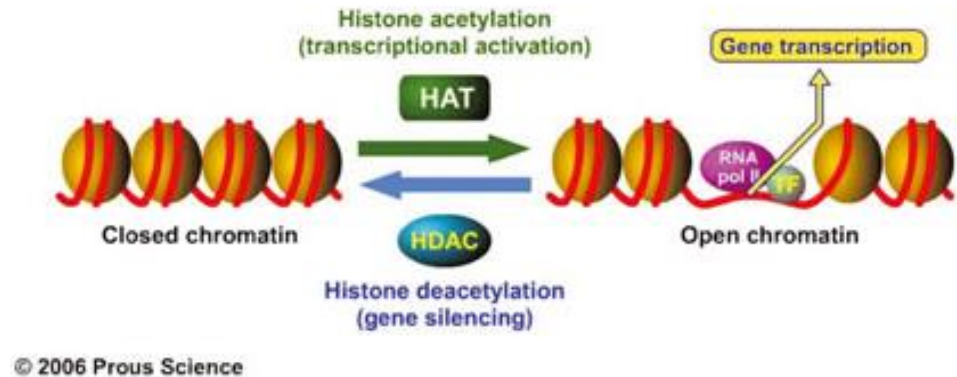
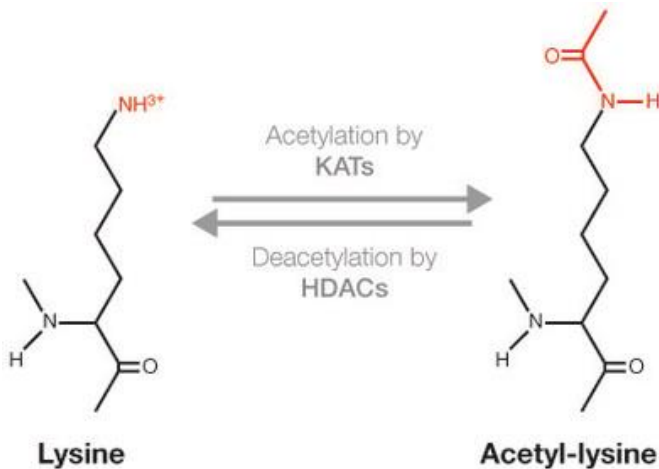
Modifikace histonů

Acetylace – přidavek acetylové skupiny kompenzuje kladný náboj lysinových zbytků – oslabení interakcí mezi DNA a histony

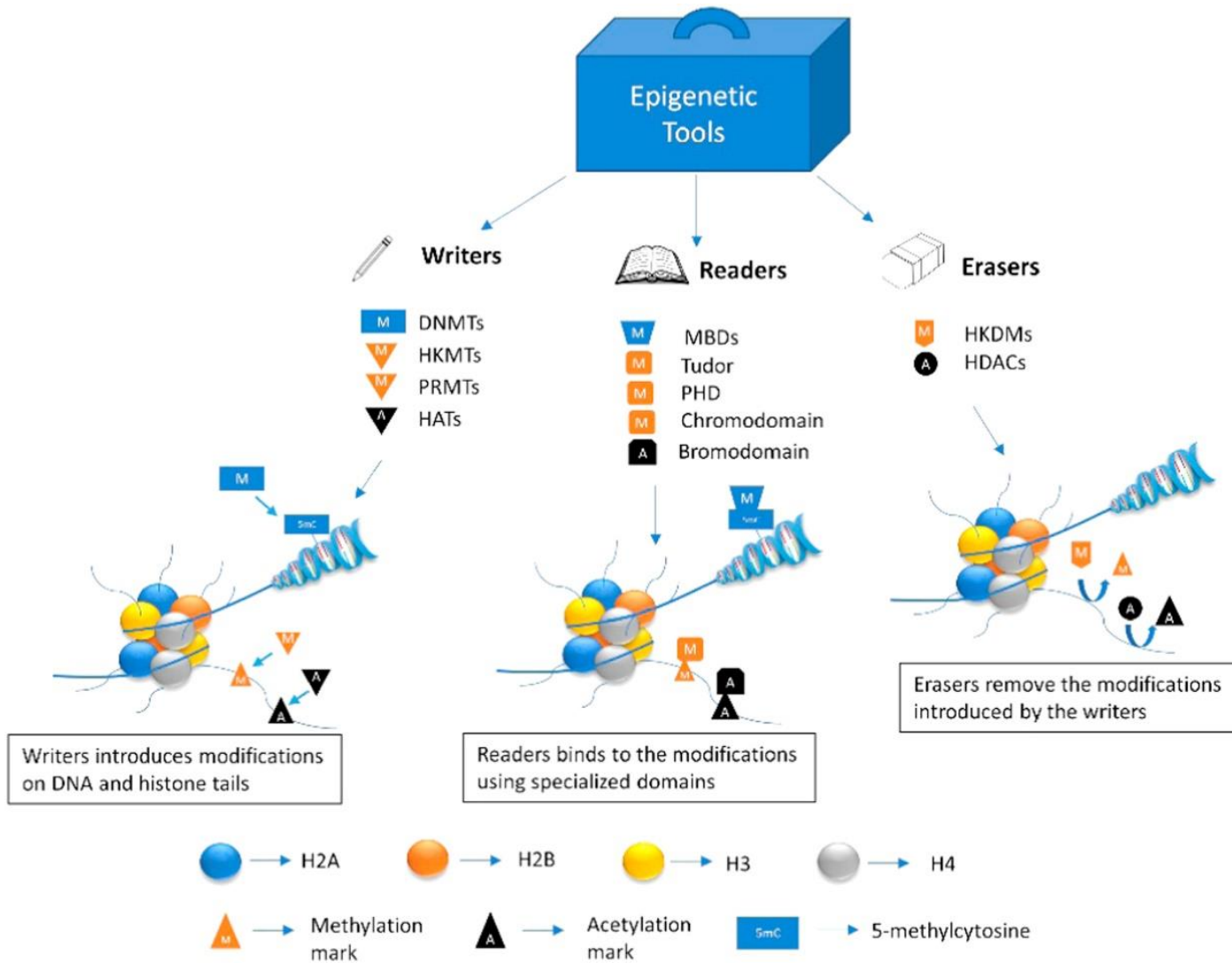


Acetylovaný chromatin – euchromatin
Deacetylovaný chromatin – heterochromatin

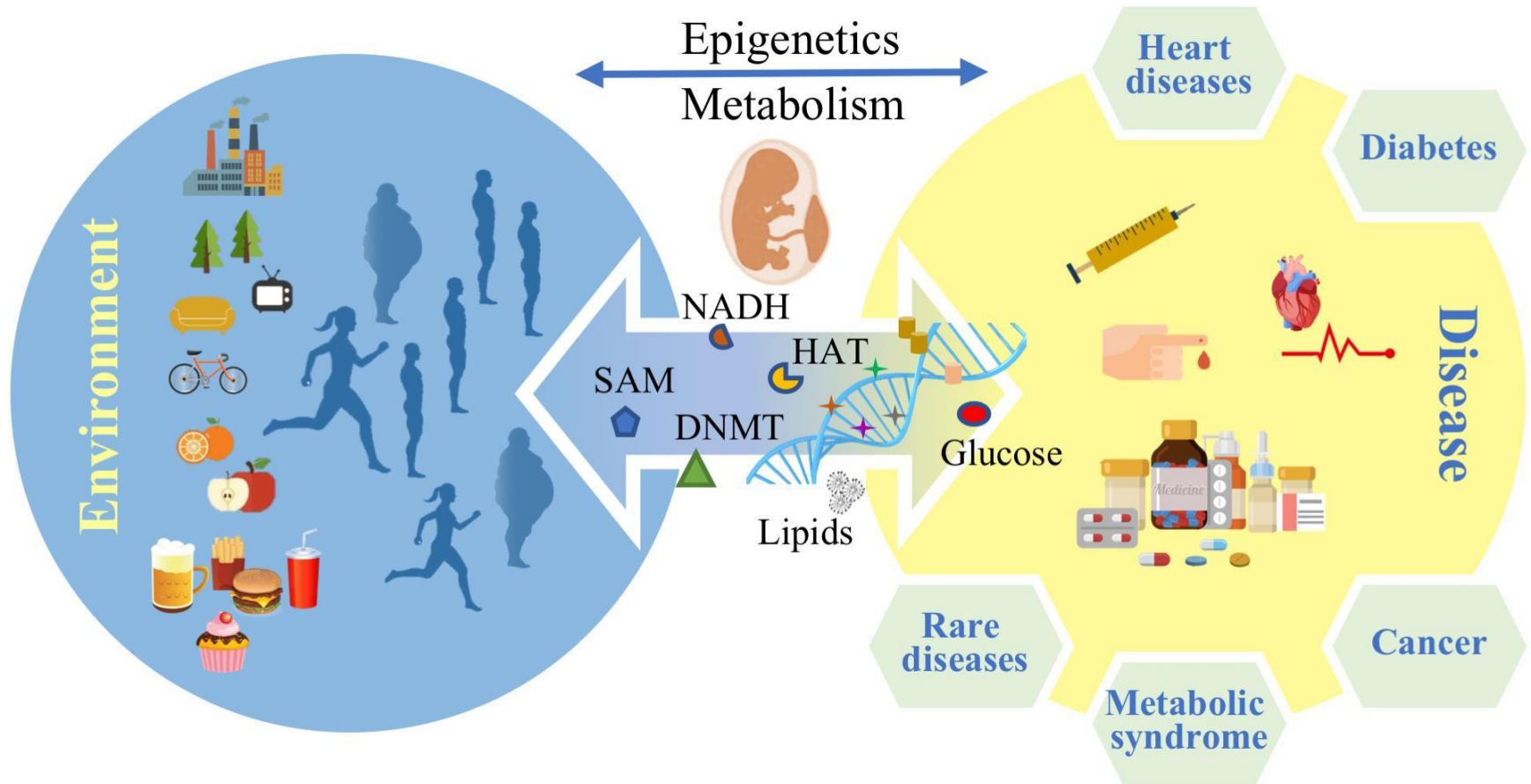
**Enzymy: histon acetyltransferázy
histondeacetylázy**



Writers, readers, erasers

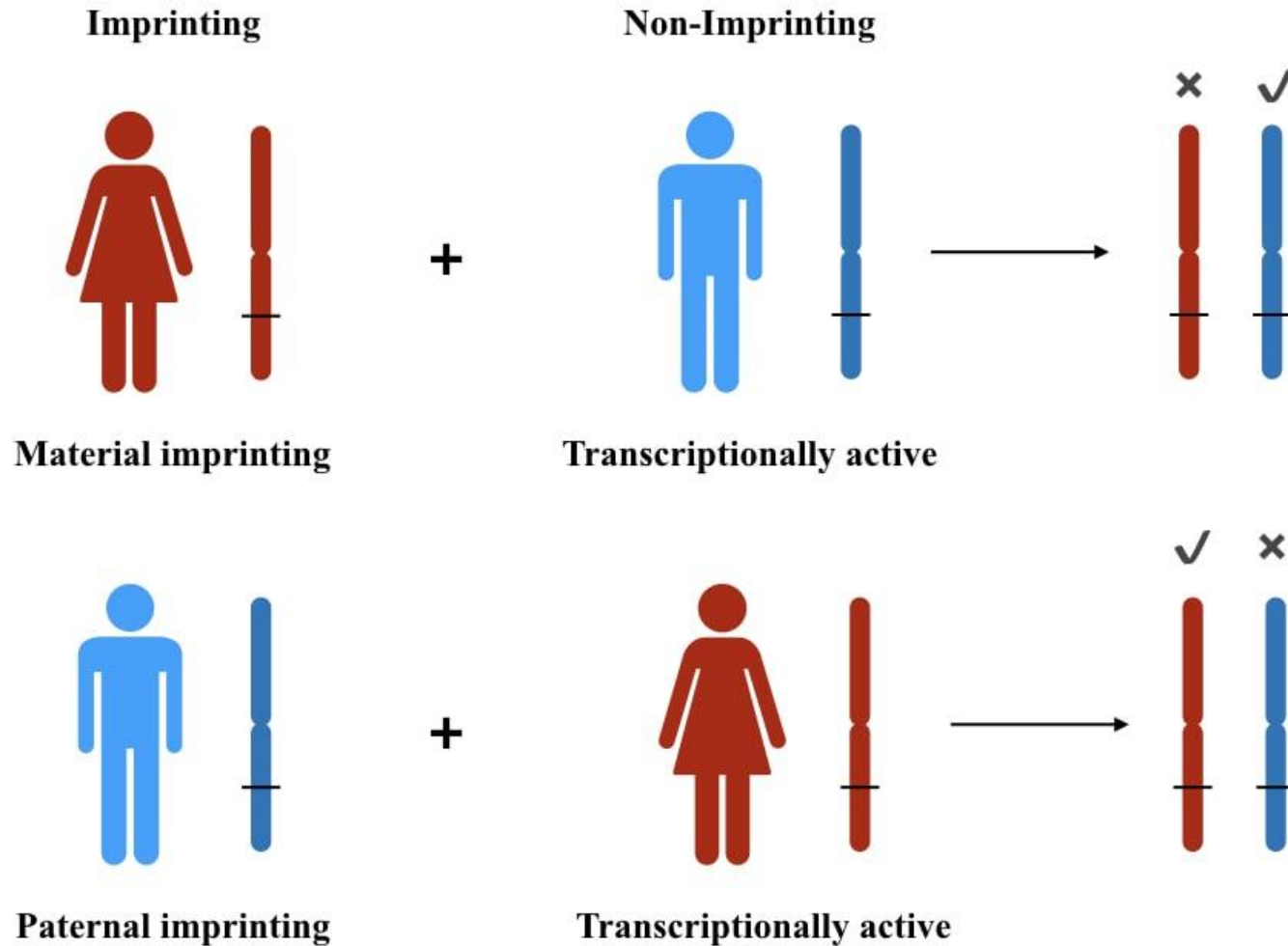


Epigenetika a nemoci



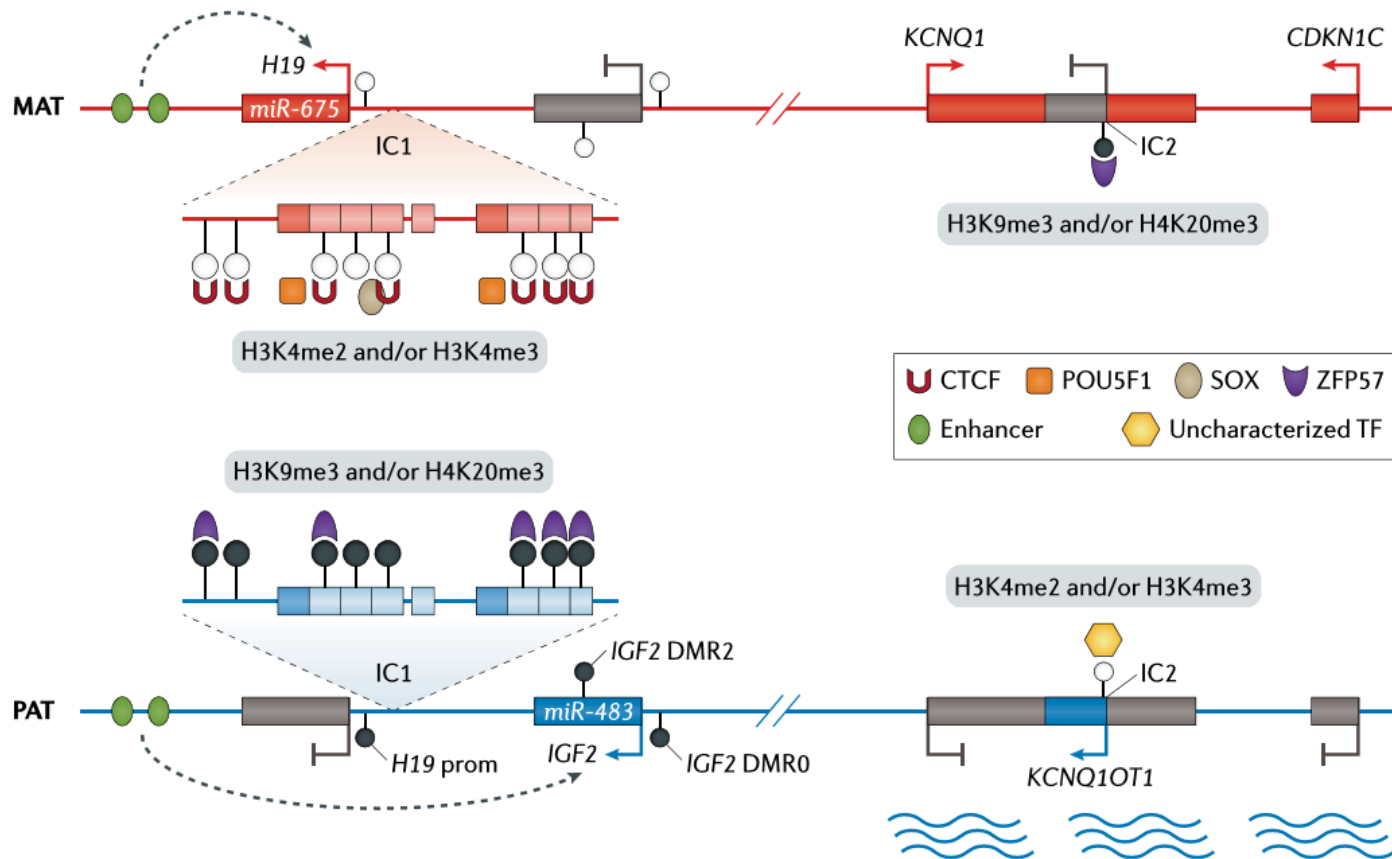
(Tzika et al., Front Genet 2018)

Genomový imprinting



Genomový imprinting

Imprintovaný klastř genů na v oblasti 11p15.5



(Monk et al., Nat Rev Genet 2019)

Beckwith-Wiedemannův syndrom

Beckwith-Wiedemann Syndrome

Potential Symptoms



organ and body
overgrowth



enlarged tongue



abdominal
abnormalities



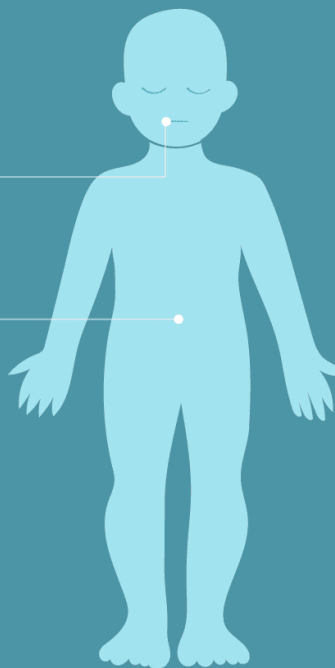
low blood sugar
(hypoglycemia)



too much insulin
(hyperinsulinism)



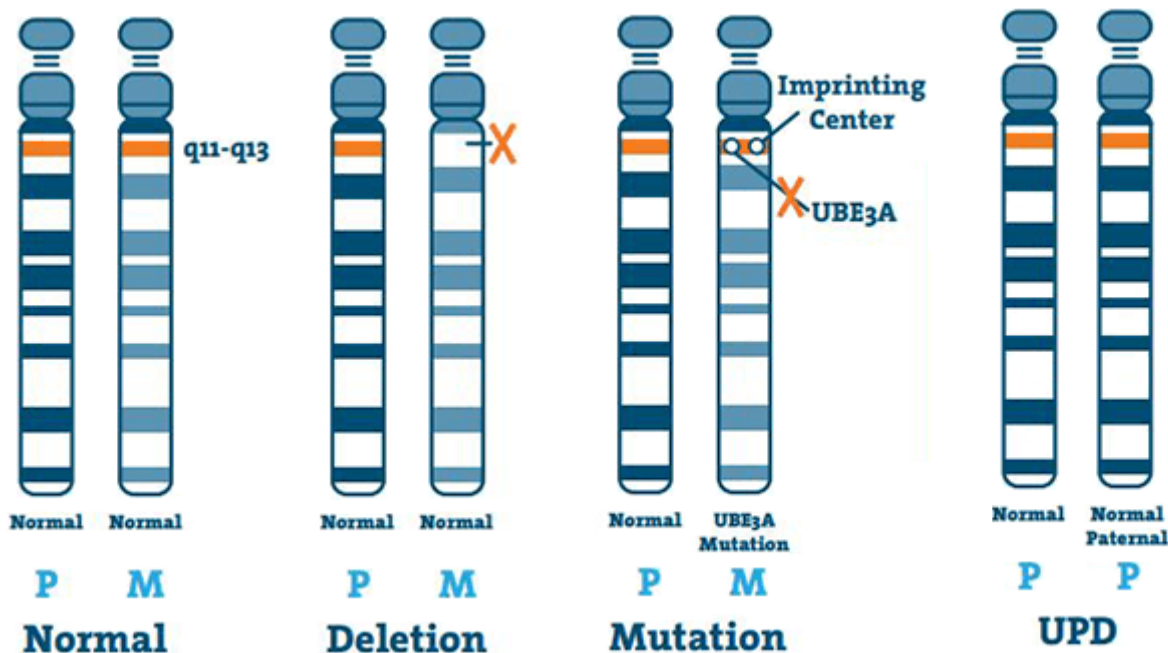
increased
cancer risk



1 / 10 500 - 13 700 novorozenců

Angelmanův syndrom

oblast q11-13 maternálního chromozómu 15



<https://cureangelman.org>

1 / 15 000 - 20 000 novorozenců

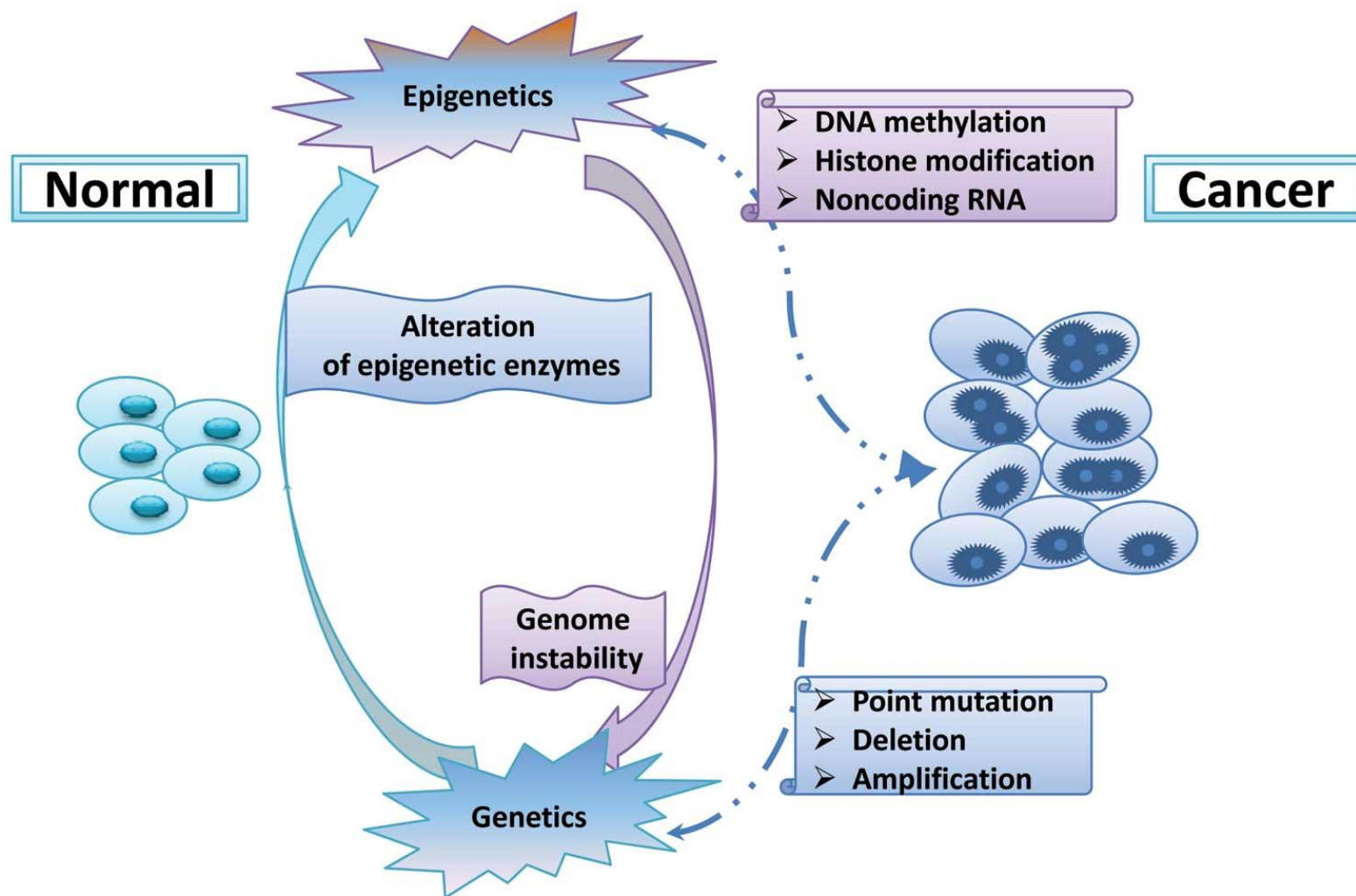
Prader-Williho syndrom:

Defekt ve stejné oblasti, gen *SNRPN*
(normálně je aktivní P kopie)

- extrémní problémy s krmením nebo
- extrémní chuť k jídlu
- snížení svalového tonusu – problémy motorikou

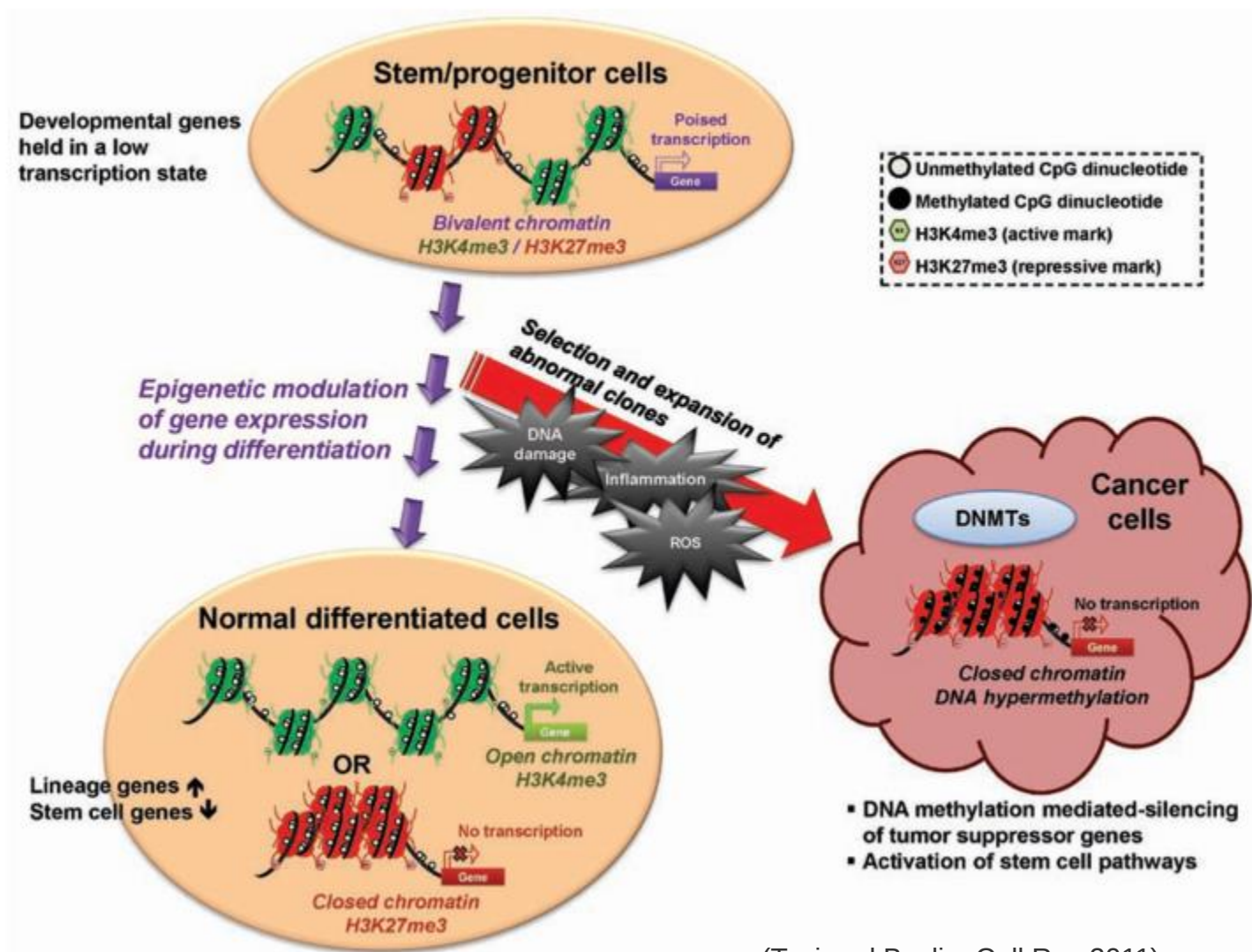
- novorozenci mají problém s příjmem potravy
- problémy s rovnováhou
- motorické poruchy (někteří nechodí)
- záchvaty
- poruchy spánkového rytmu
- usměvavá tvář, trhané pohyby
„happy puppets“
(šťastné loutky)

Epigenetika a nádory



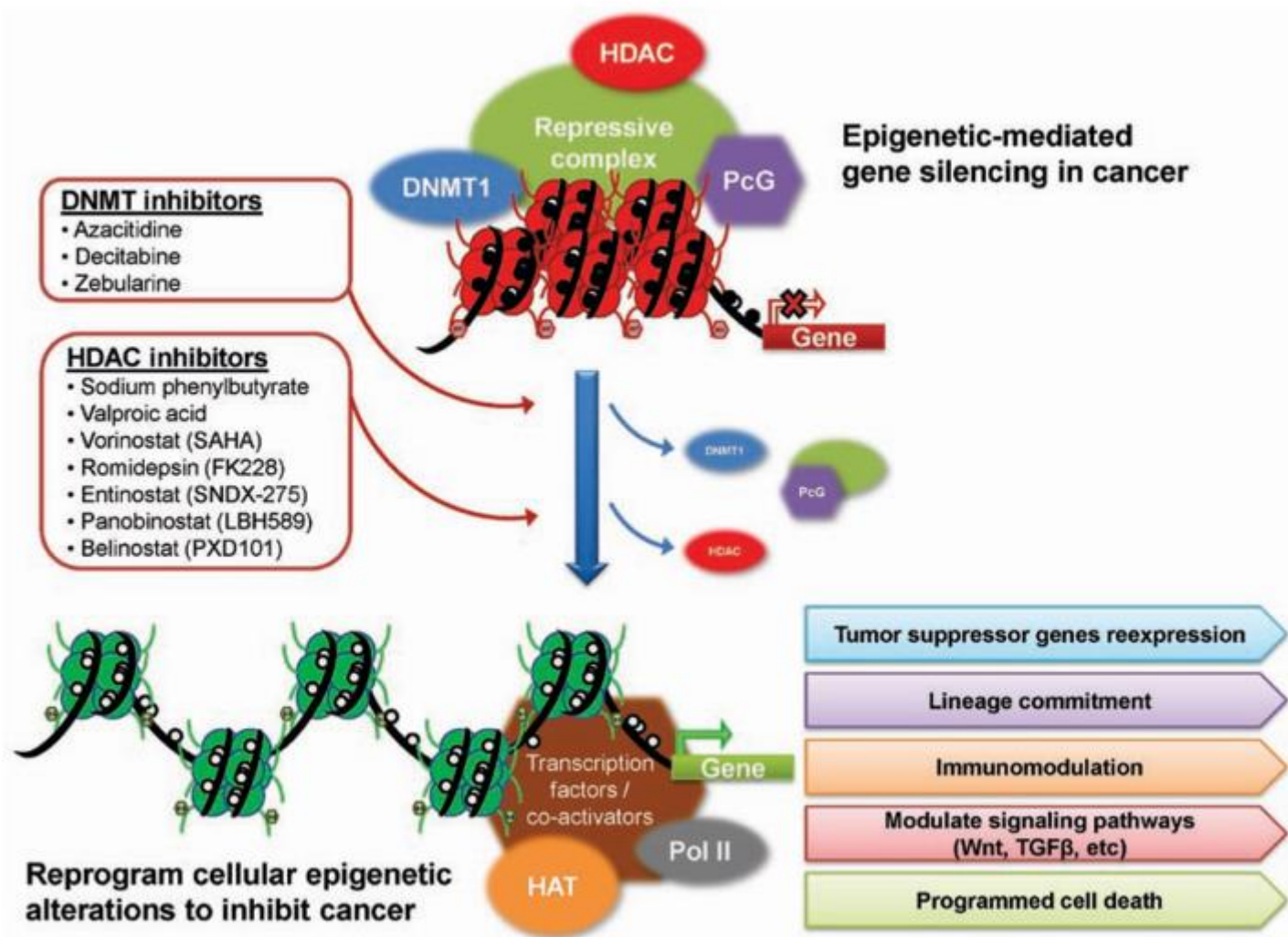
(Chen et al., Nat Rev Genet 2019)

Epigenetika a nádory



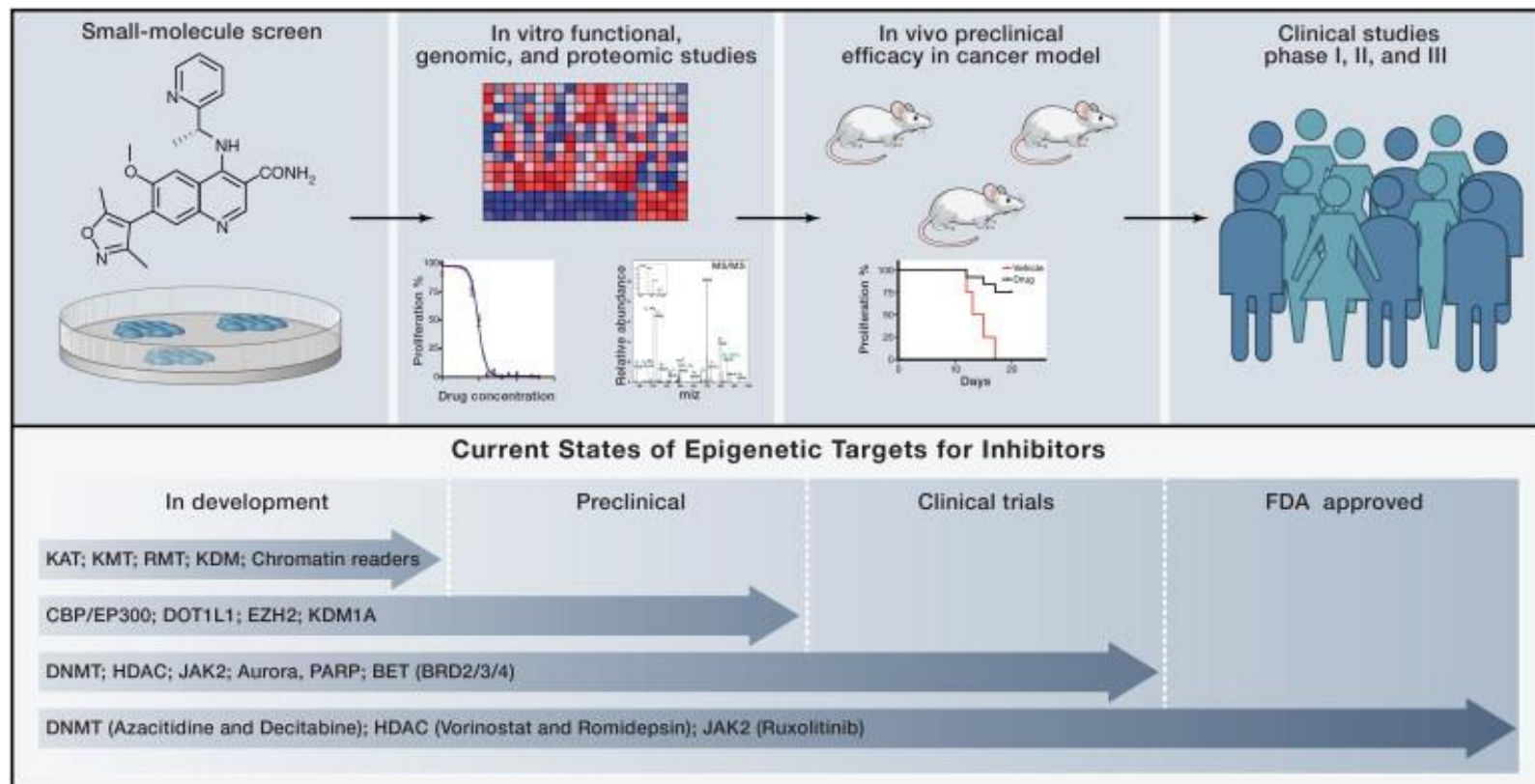
(Tsai and Baylin, Cell Res 2011)

Epigenetika a nádory



(Tsai and Baylin, Cell Res 2011)

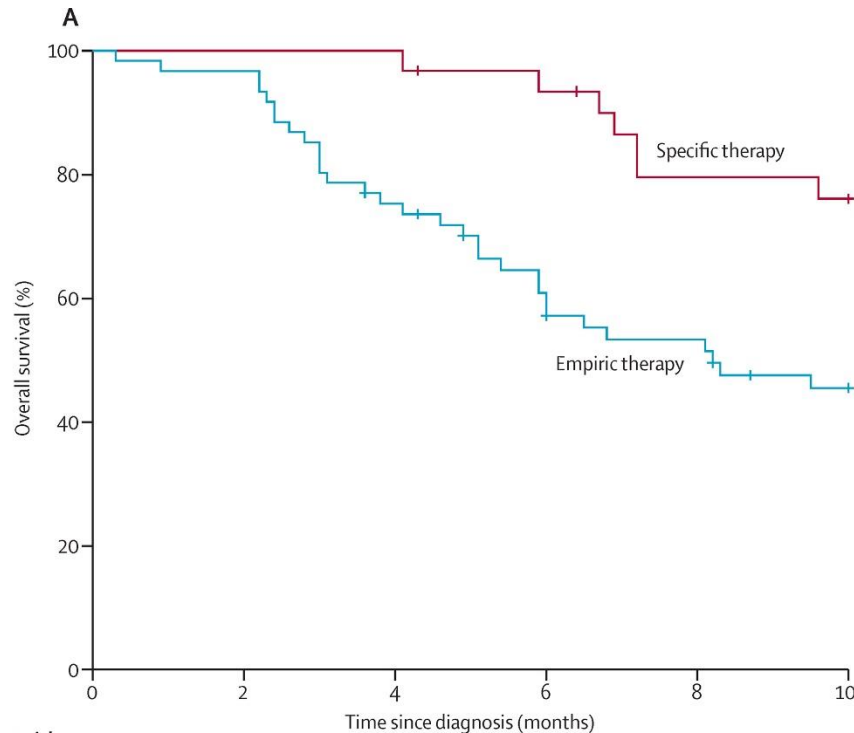
Epigenetika a nádory



(Dawson and Kouzarides, Cell 2012)

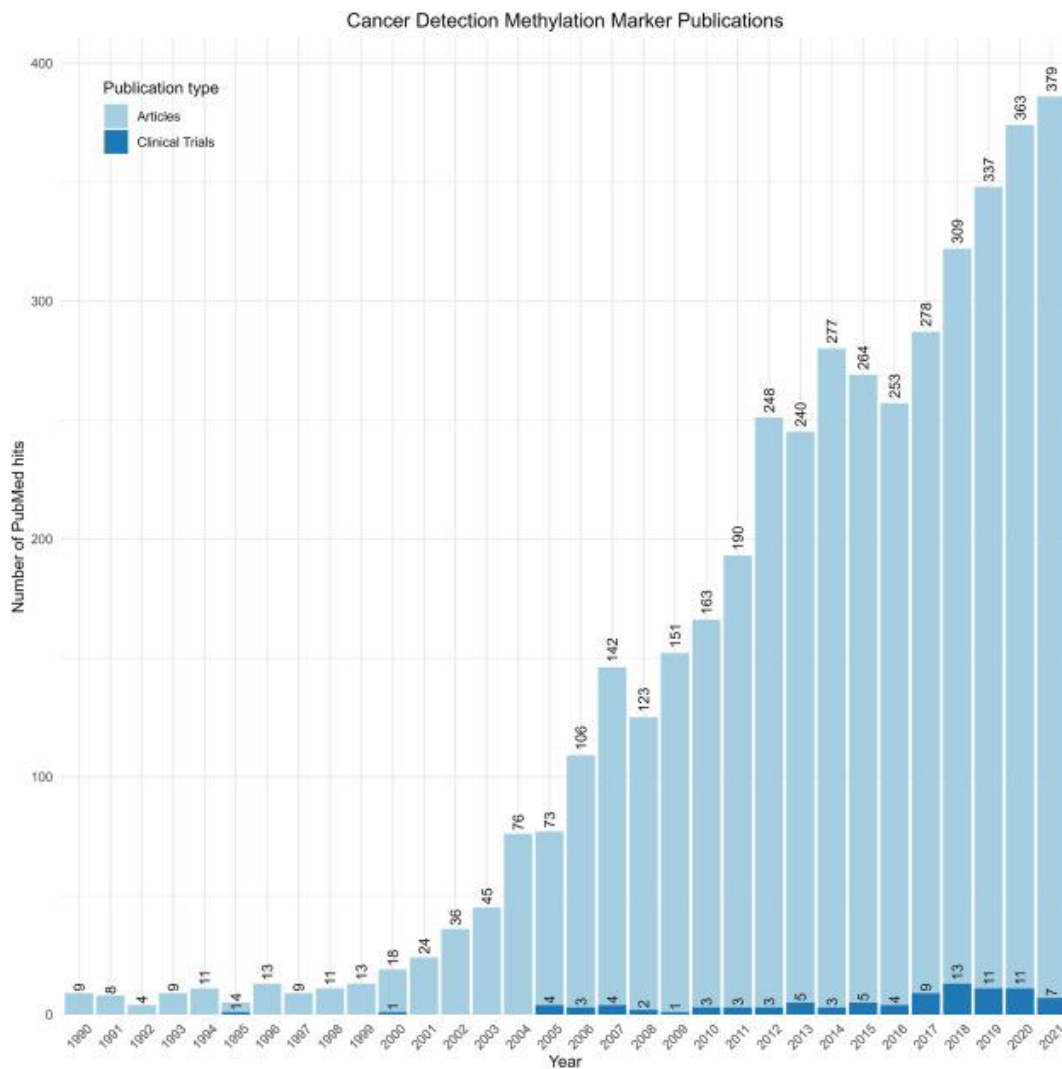
Epigenetika a nádory

EPICUP – diagnostický systém založený na epigenetickém profilování
Analýza methylace DNA – časná identifikace primárních nádorů neznámého
původu (cancers of unknown origin – CUP)
Počet vzorků pro „trénování“: 2 790
„validaci“: 7 691
38 typů nádorů, platí i pro velkou většinu metastáz.

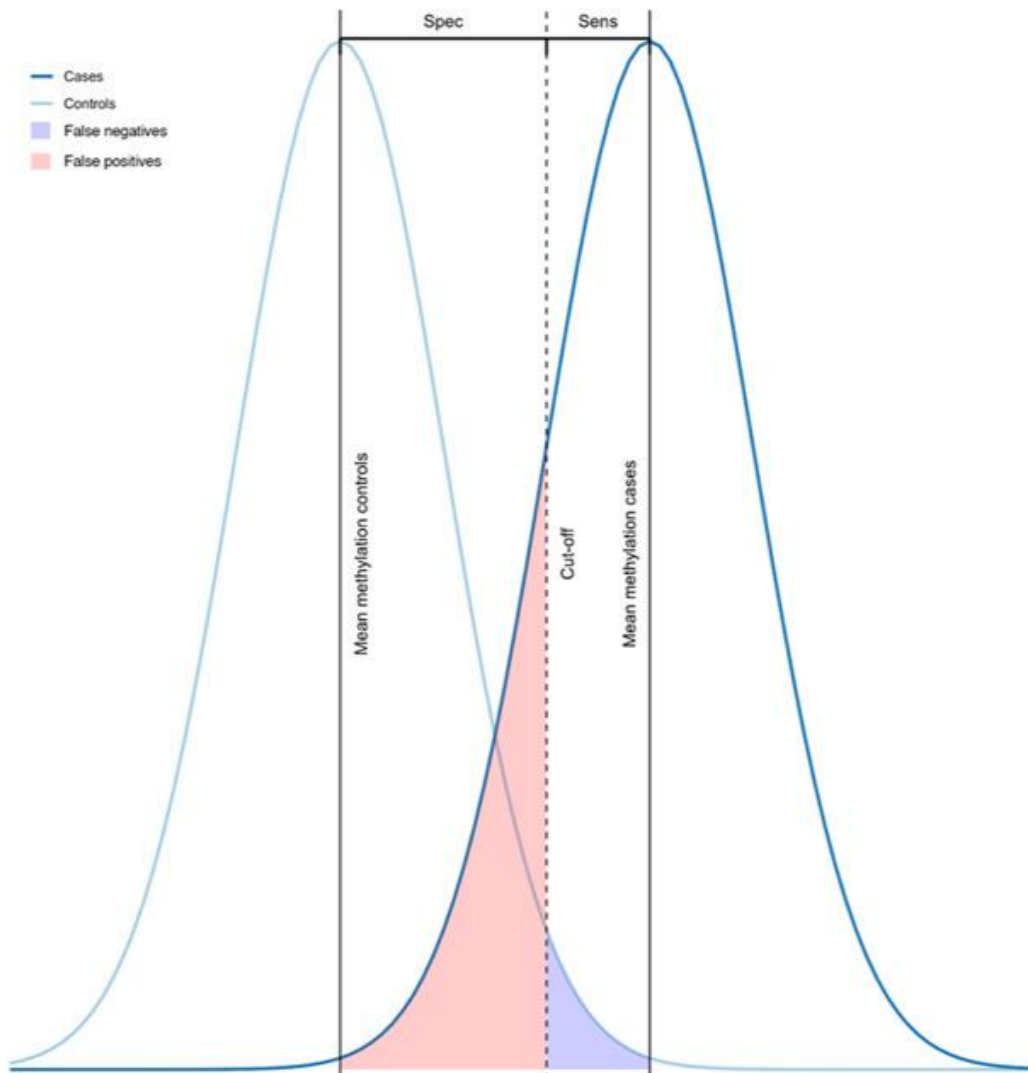


(Moran et al., Lancet 2016)

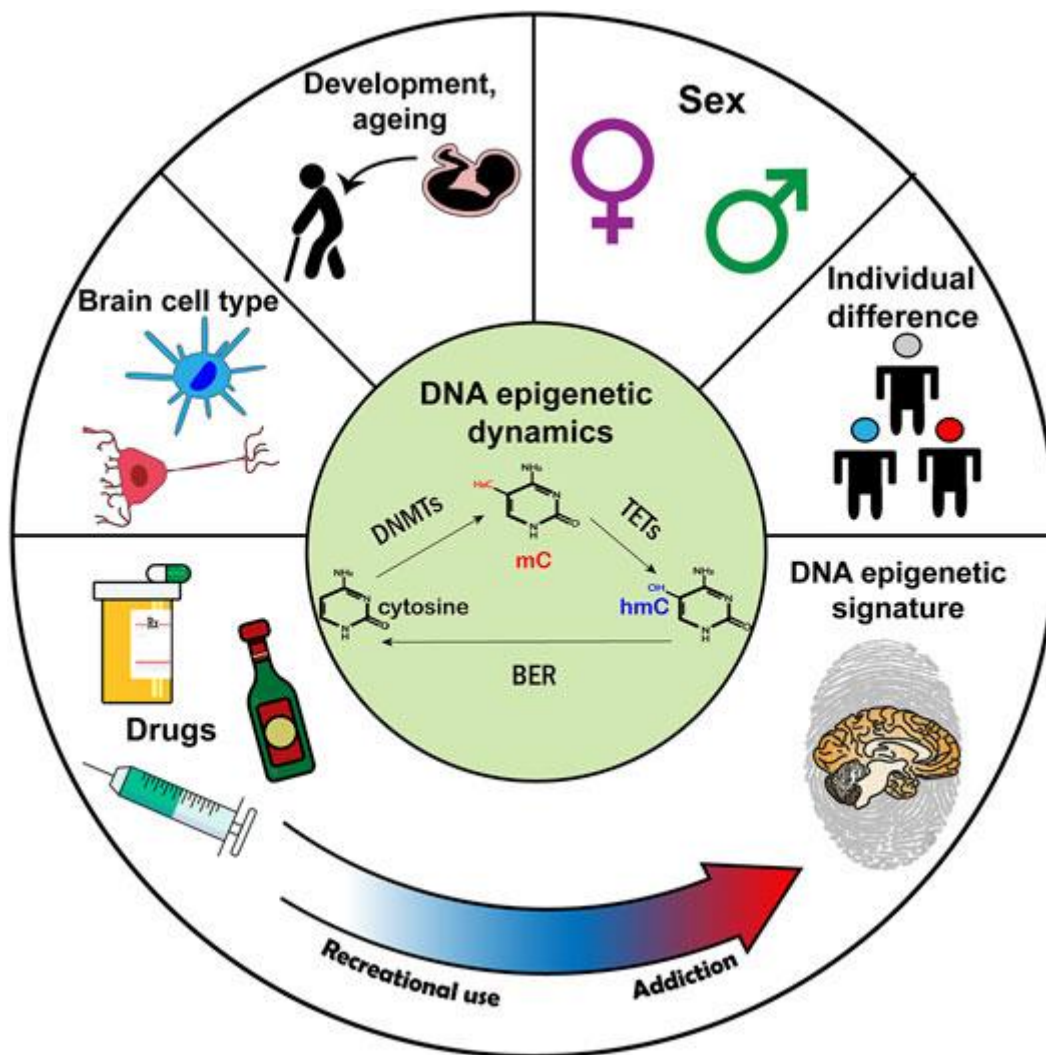
Epigenetika a nádory



Epigenetika a nádory



Epigenetika a závislosti



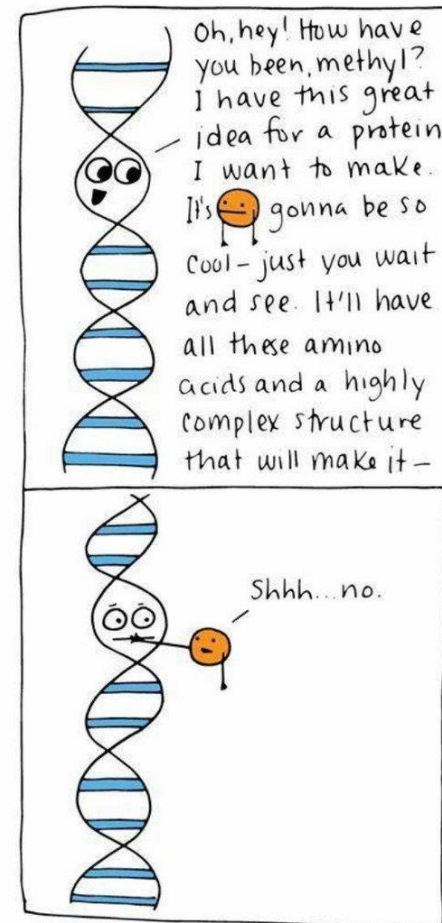
Děkuji za pozornost



blog post by Caroline Relton



 Pinterest



Another gene silenced.

• Beatrice the Biologist