

# **EPIGENETIKA :** **rehabilitace kacírství ?**



**Boris Vyskot**

**Laboratoř vývojové genetiky, Biofyzikální ústav AV ČR v Brně**

**Negeneticky kódovaná informace  
(tj. mimo sekvence nukleotidů) je**

**přenášena mitoticky v průběhu ontogeneze  
a/nebo do (fenotypu) pohlavního potomstva.**

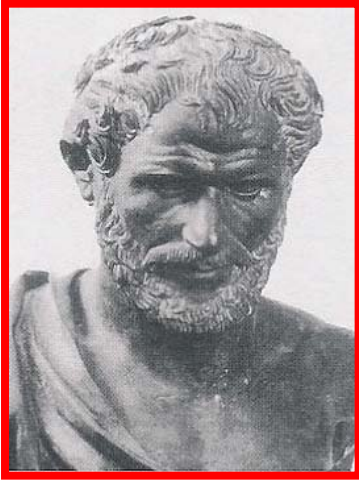
# Negeneticky kódovaná informace (tj. mimo sekvence nukleotidů) je



*s neurčitou pravděpodobností,  
tj. s neúplnou penetrancí  
a/nebo variabilní expresivitou*



**přenášena mitoticky v průběhu ontogeneze  
a/nebo do (fenotypu) pohlavního potomstva.**



**Aristoteles**  
**(384-322 př.Kr.)**

## **EPIGENEZE**

**individuální vývoj organismů spočívá  
v *postupném vzrůstu jejich complexity***

## **EPIGENETIKA**

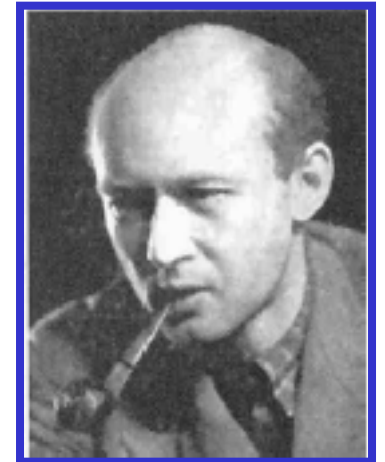
**kombinuje ...**

***preformistickou genetiku***

**(studium dědičného materiálu  
nacházejícího se v zygotě)**

***a vývojovou biologii***

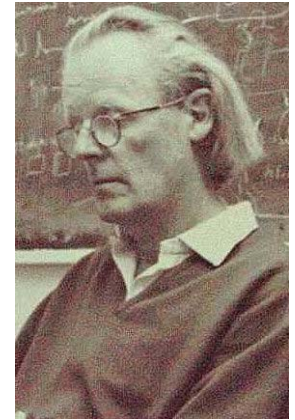
**(studium změn, ke kterým dochází  
v postzygotickém období - epigeneze)**



**Conrad Waddington**  
**(1905-75)**



**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 .....**

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

**Pravidlo IDENTITY RECIPROKÝCH KŘÍŽENÍ : pohlaví rodičů nemá vliv na dědičnost (expresi) genu .....**

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



## **Robin Holliday**

***Nová teorie karcinogeneze***

**(Brit J Cancer, 1979)**

***Dědičnost epigenetických defektů***  
**... a new definition of epigenetics ...**

**(Science, 1987)**

# Andrew P. Feinberg and Bert Vogelstein (Nature, 1983)



***Hypometylace DNA rozlišují některé nádory člověka od normálních tkání***

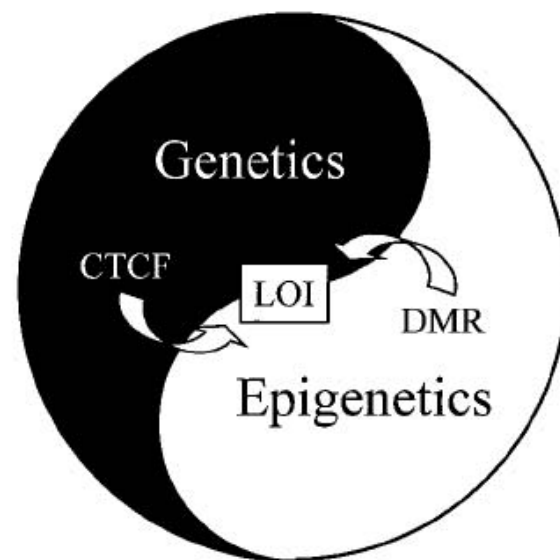
## Cancer epigenetics takes center stage

Andrew P. Feinberg

Institute of Genetic Medicine, Departments of Medicine, Molecular Biology and Genetics, and Oncology, Johns Hopkins University School of Medicine, 1064 Ross, 720 Rutland Avenue, Baltimore, MD 21205

**N**ext year will mark 20 years since I developed a Southern blot showing altered DNA methylation in cancer. This discovery (1) was met with some skepticism, primarily because it was thought that aberrant methylation in cancer was an epiphenomenon, somehow linked to a generalized disruption of gene regulation in cancer cells and arising after the cancer, rather than playing a causal role itself. This essay will address how cancer epigenetics has overcome these objections, and a report in this issue by Nakagawa *et al.* (2) adds significantly to this argument.

methylation of CpG islands (5), CpG-rich sequences in the promoters of housekeeping genes that are generally protected from methylation. This hypermethylation may lead to aberrant silencing of tumor suppressor genes (6). In addition, we and others have discovered loss of imprinting (LOI) in cancer (7, 8). Genomic imprinting, the subject of the report by Nakagawa *et al.* (2), is an epigenetic modification of a specific parental allele of a gene, or the chromosome on which it resides, in the gamete or zygote, leading to differential expression of the two alleles of the gene in





**OBJEV ROKU 1984**

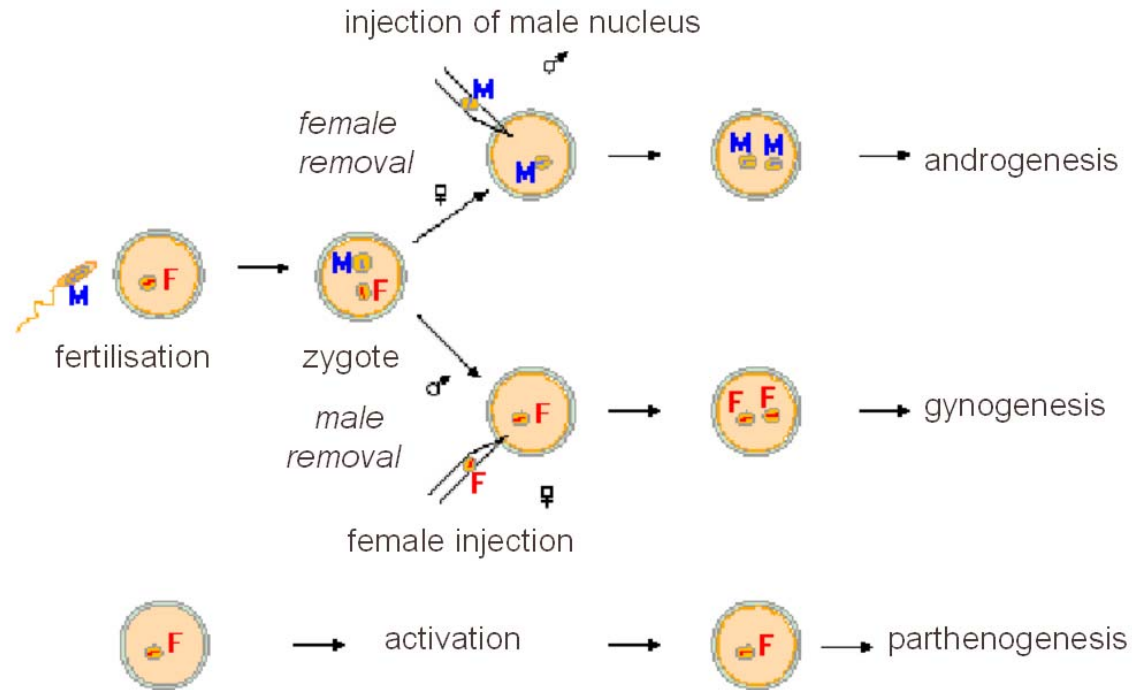
# **GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING**



**Davor Solter  
(Philadelphia)**



**Azim Surani  
(Cambridge)**

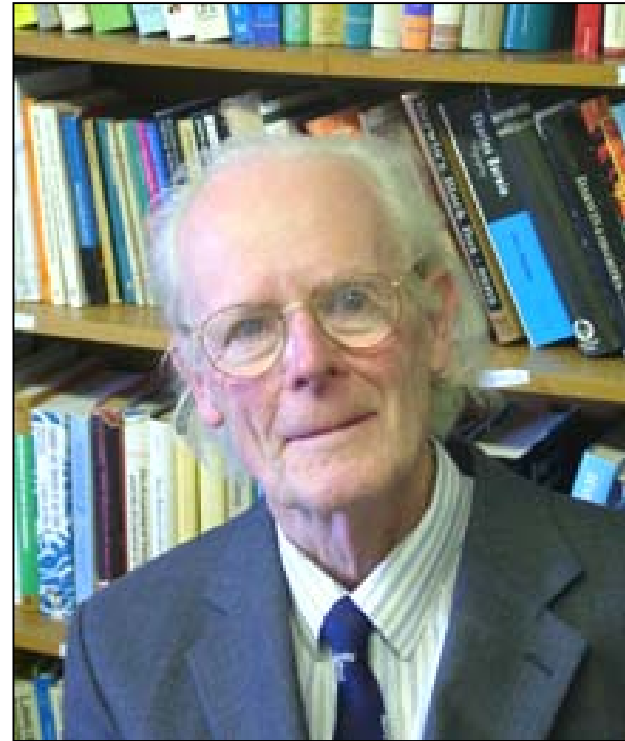






**Richard B. Goldschmidt**

***Evoluce spočívá ve zdědění  
změn individuálního vývoje***



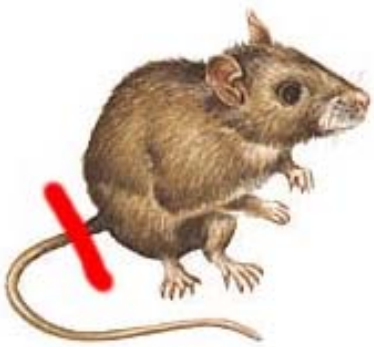
**John Maynard Smith**

***Modely duálního  
systému dědičnosti***

**... the role of epigenetics in evolution ...**

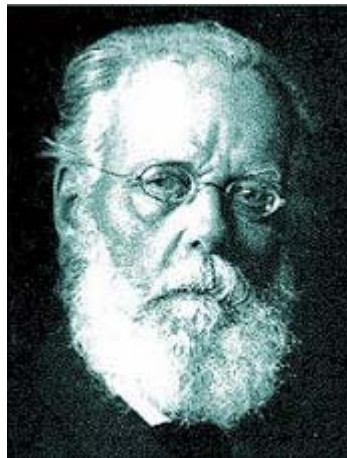
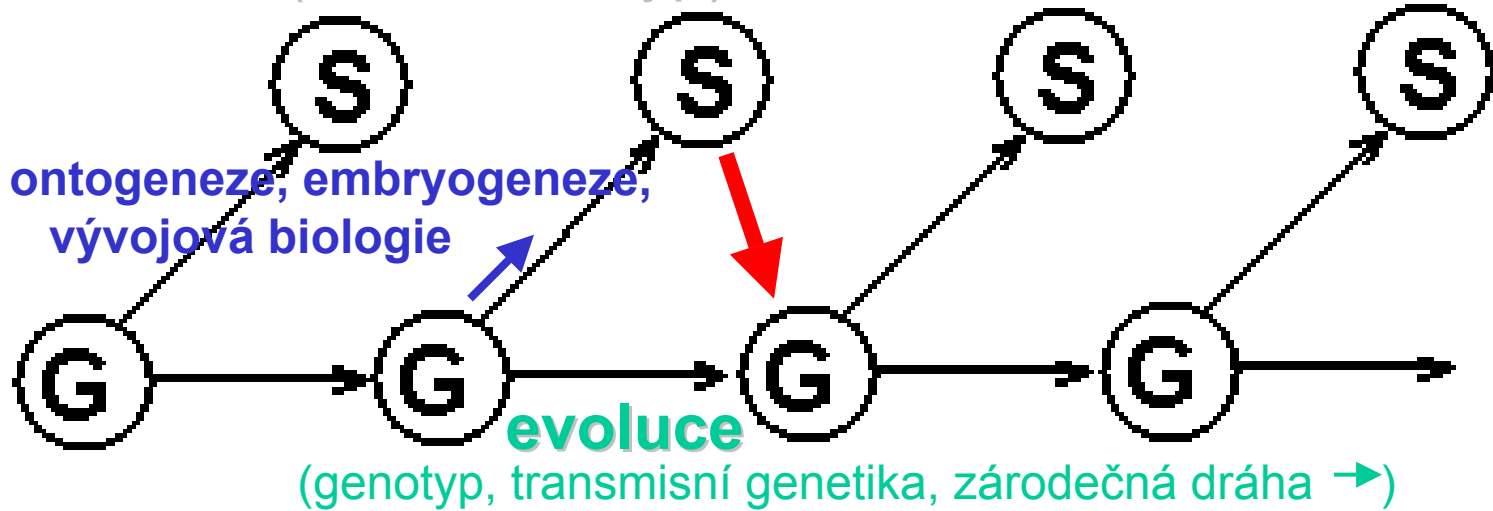


**Dědictví Jean-Baptiste Lamarcka (1744-1829)  
a jeho filosofie dědičnosti získaných znaků**



Po selekci se dědí (přenáší) genotyp,  
selekce se však realizuje na bázi fenotypu ...

(soma, fenotyp)

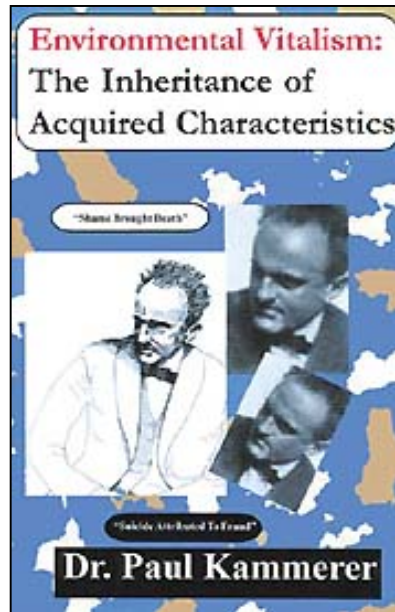


“Weismannova bariéra” (1889): somatické změny získané v průběhu života neovlivňují reprodukční buňky či potomstvo

**Rostliny a nižší živočichové tuto bariéru nemají !**

# Neslavní šířitelé Lamarckových idejí

Paul Kammerer (1880-1926)



Trofim D. Lysenko (1898-1976)



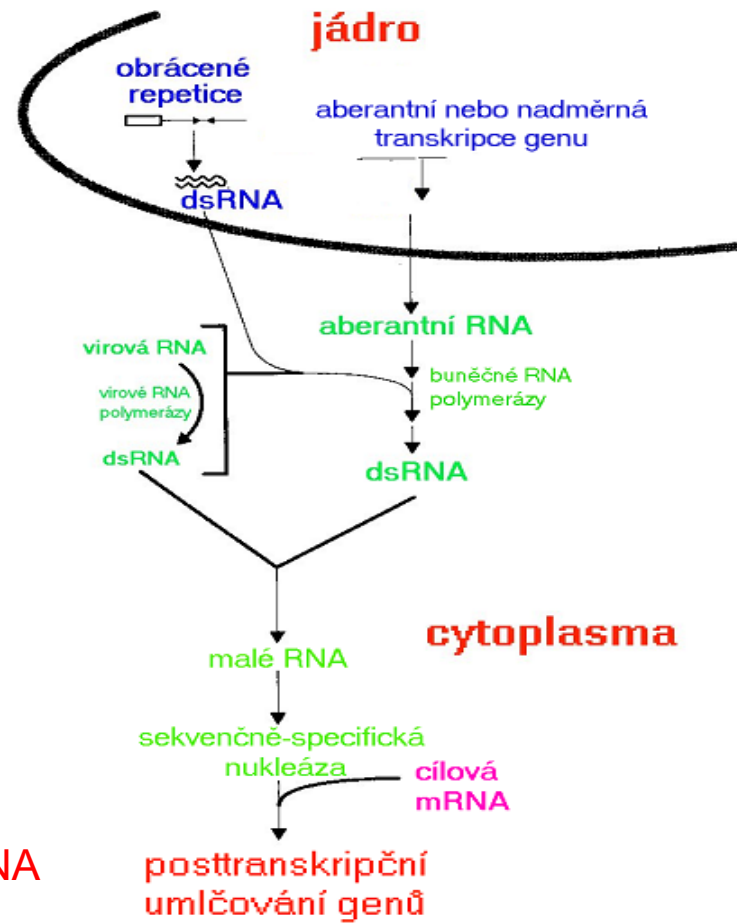
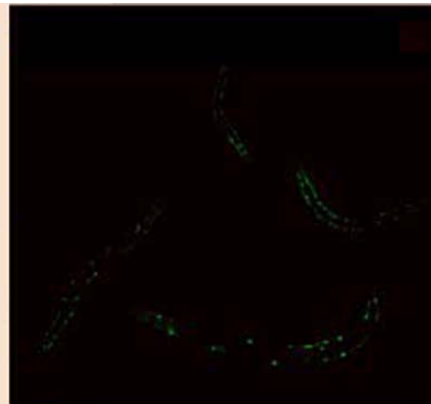
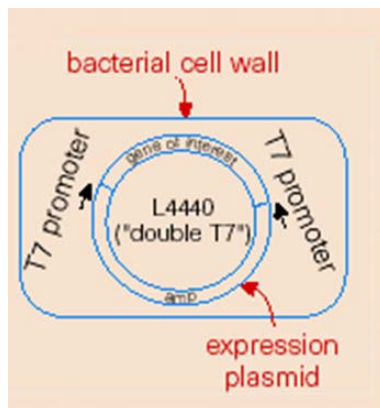
Craig Mello,  
Andrew Fire

# 2006: NOBELOVA CENA SELEKTIVNÍ UMLČOVÁNÍ GENŮ PROSTŘEDNICTVÍM dsRNA INTERFERENCE

červi *Caenorhabditis* tvořící  
fluoreskující protein



*Escherichia coli*  
produkující dsRNA



# ***Prolog***

**Genetika je podstatně složitější než jsme si (Mendel, Watson, Crick ...) mysleli.**

**Současný pokrok v epigenetice oživuje filosofii zatracovaného Lamarcka.**

**Bude rehabilitováno kacírství ?**





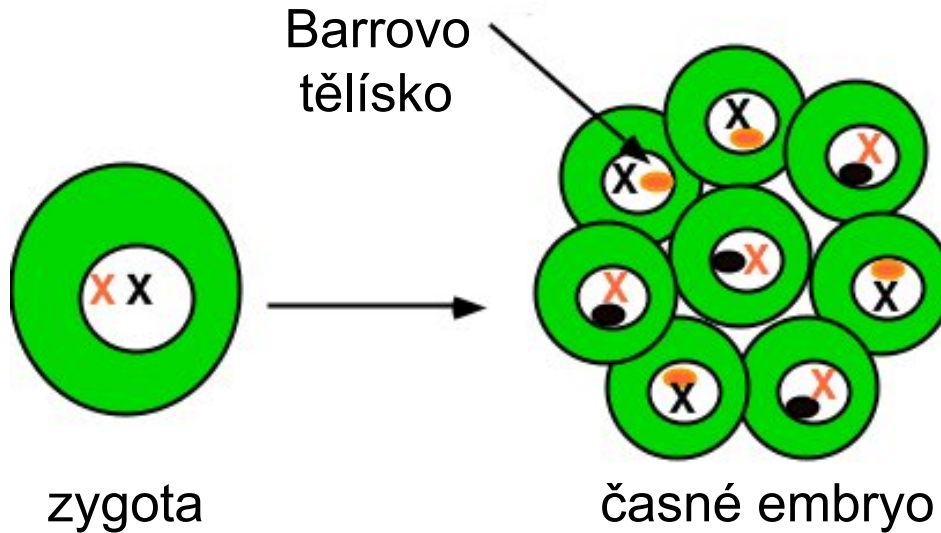
Murray Barr  
(1949)



Mary Lyon  
(1961)



X-vázaný gen pro pigment



**(Ne)náhodná heterochromatinisace jednoho chromosomu X u samic savců**





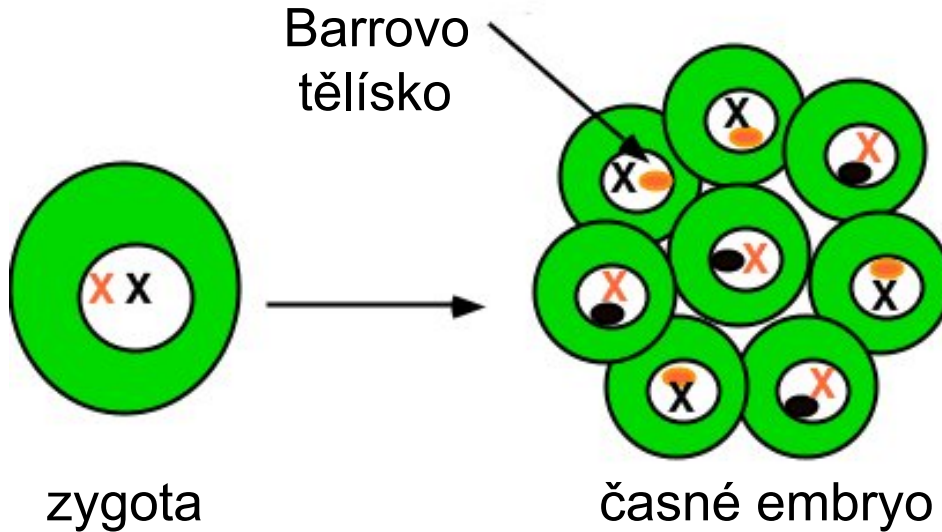
Murray Barr  
(1949)



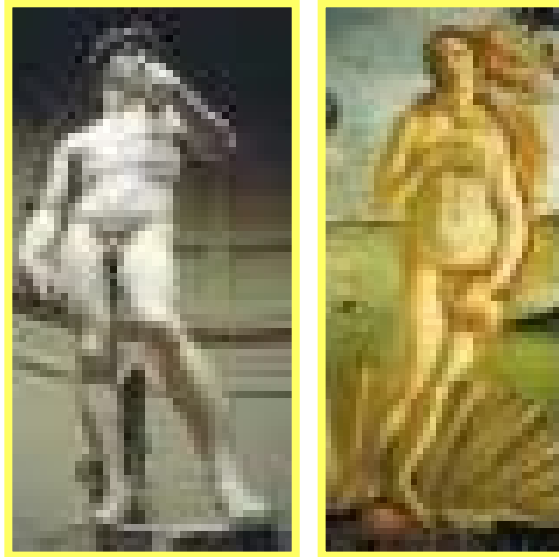
Mary Lyon  
(1961)



X-vázaný gen pro pigment



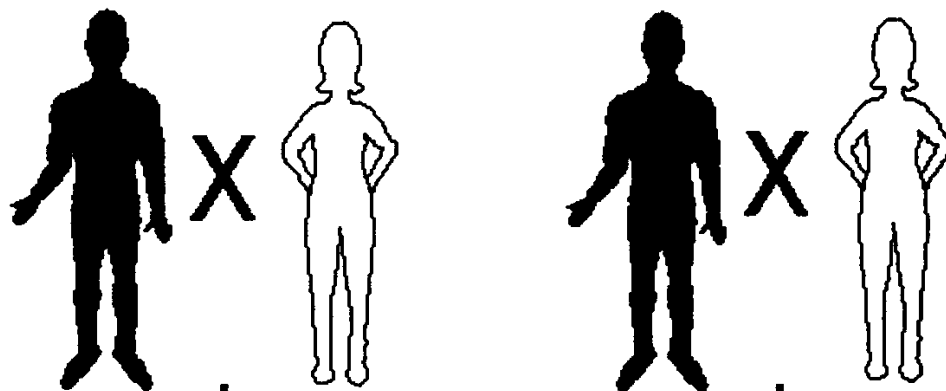
# (Ne)náhodná heterochromatinisace jednoho chromosomu X u samic savců



## **GENOMOVÝ (PARENTÁLNÍ) IMPRINTING**

- ⇒ pohlavně specifická modifikace genů v parentální generaci vede k funkčním rozdílům mezi paternálním a maternálním genomem (alelami) v potomstvu

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

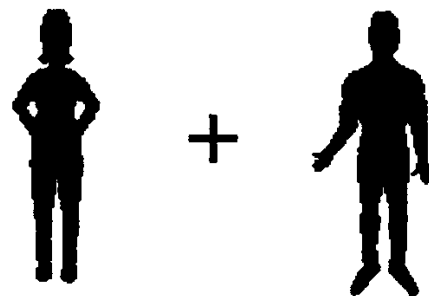


imprinting je závislý na pohlaví rodiče

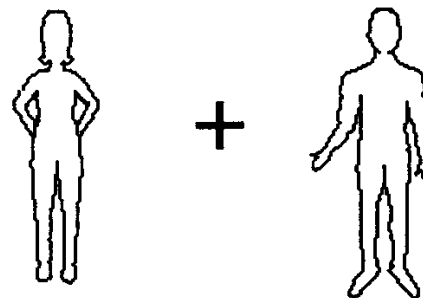
imprinting není závislý na pohlaví potomstva



imprintový záznam je obvykle stabilní po celý život jedince



maternální



paternální

imprintový záznam se vymaže před meiosou a znovunastaví dle pohlaví jedince

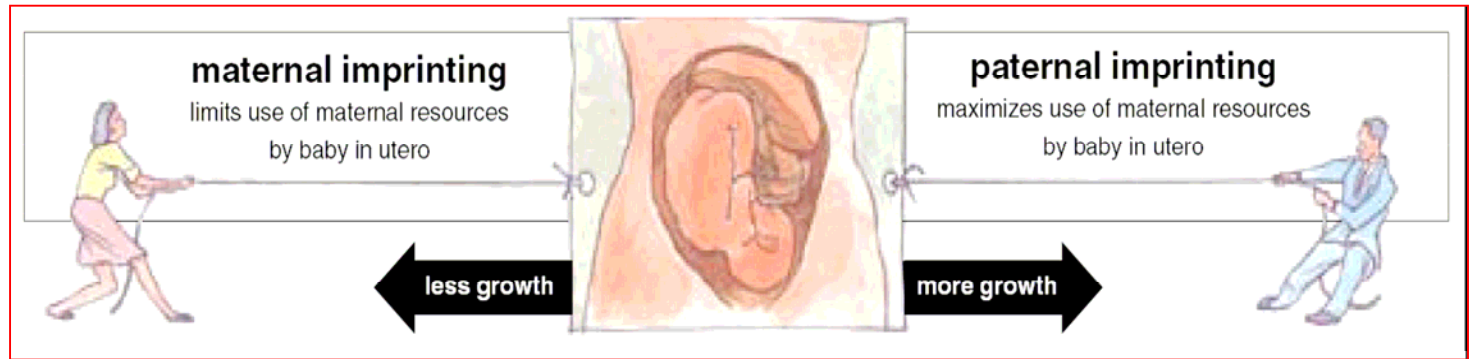
# Teorie parentálního konfliktu

*souboj mezi matkou a potomstvem in utero*

**paternálně exprimované geny (*Peg*) podporují prenatální růst**  
**maternálně exprimované geny (*Meg*) jsou růstovými supresory**



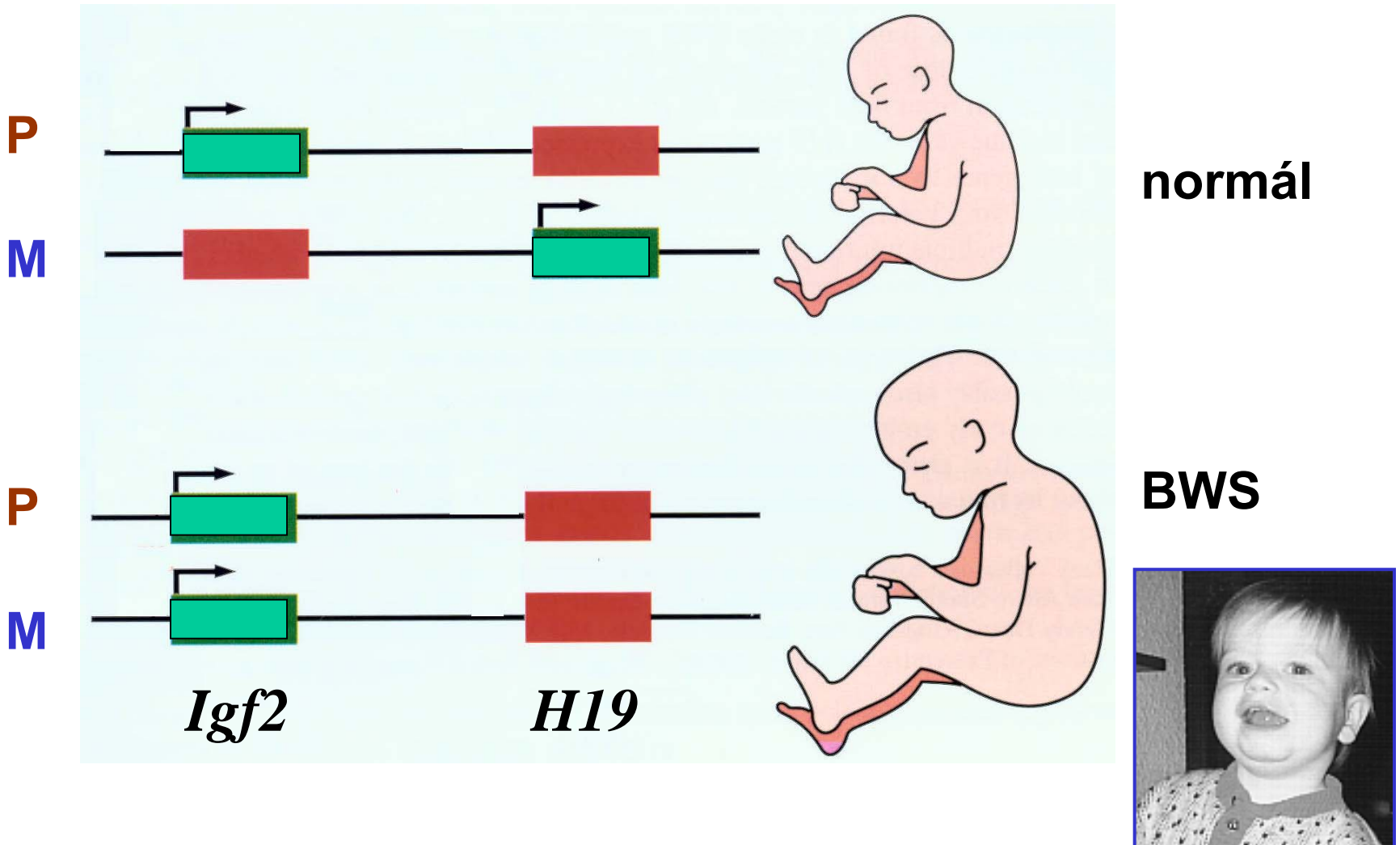
David Haig  
(Harvard 1991)



**vítězná MATKA :**  
***pohádka o Palečkovi***

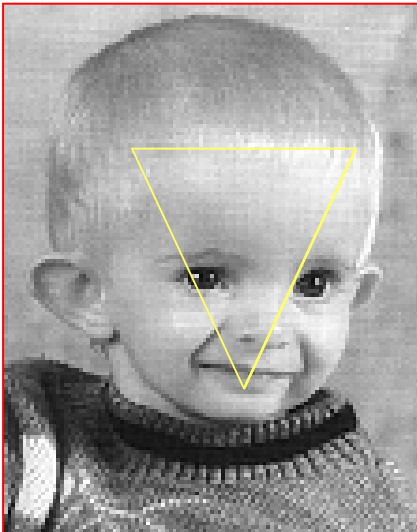
**vítězný OTEC :**  
***pohádka o Otesánkovi***

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



# Russell-Silverův syndrom : maternální disomie chromosomu 7

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



**POTLAČUJE MATKA  
VÝVIN SVÝCH DĚTÍ ?**

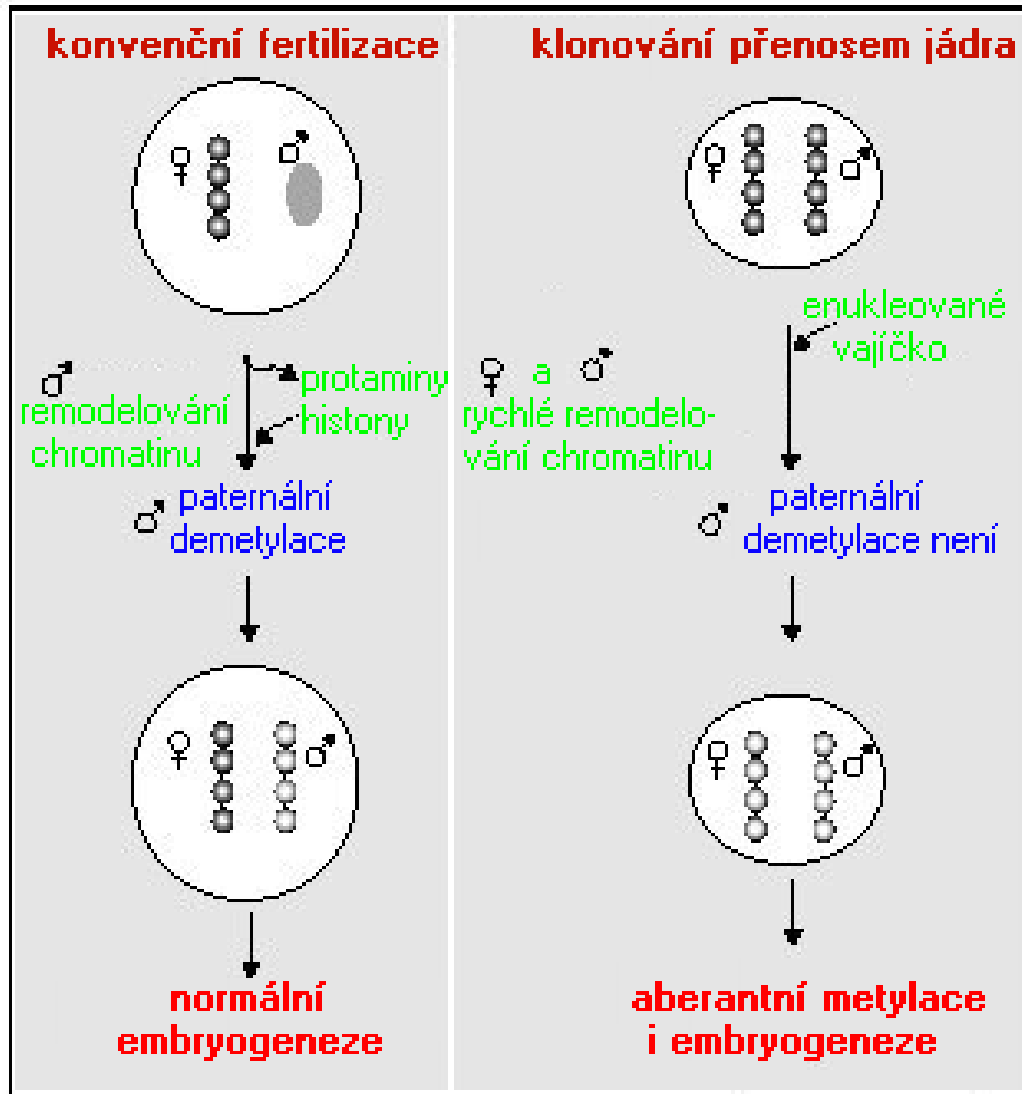
**aneb příběh Palečka**



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



# Klonování savců vede k poruchám imprintingu



Rudolf Jaenisch  
... imprinting

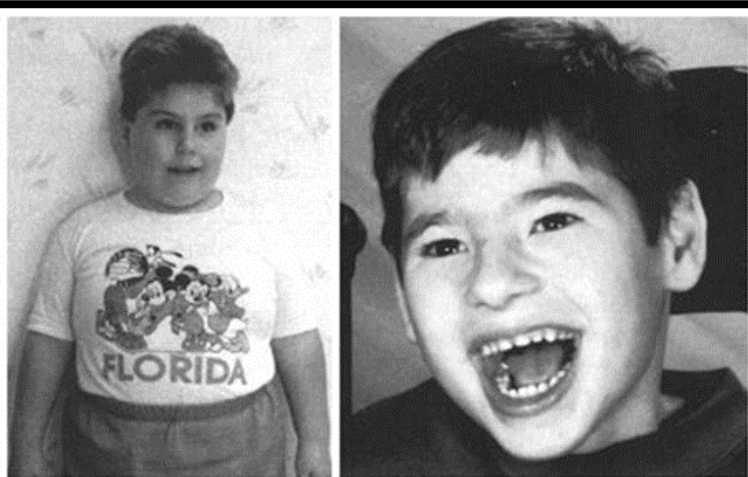


Severino Antinori  
... klonování

## Prader-Willi

Parentální imprinting  
genového shluku (ch15)

paternální delece



## Angelman

maternální delece

## Martin-Bell

X-chromosom vázané  
mentální retardace

metylace CGG



## Rett

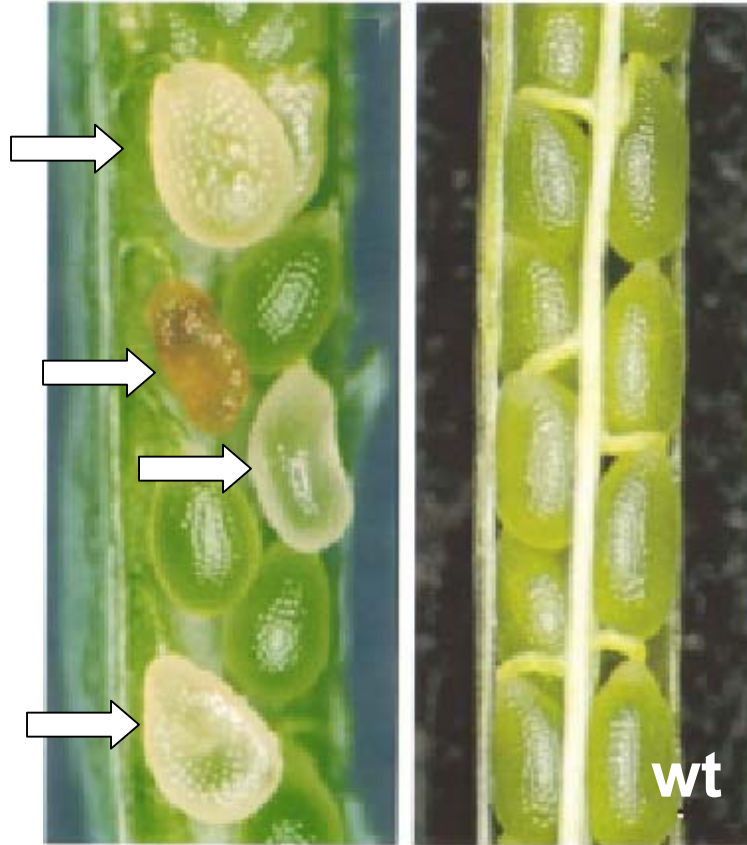
mC-vazebný protein

# Parentální imprinting u rostlin : maternální efekt genu *MEDEA*

... příběh  
Otesánka

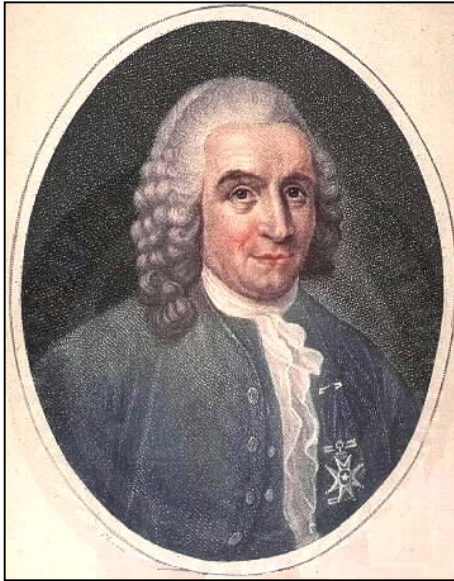


Ueli Grossniklaus  
(Zurich 1998)

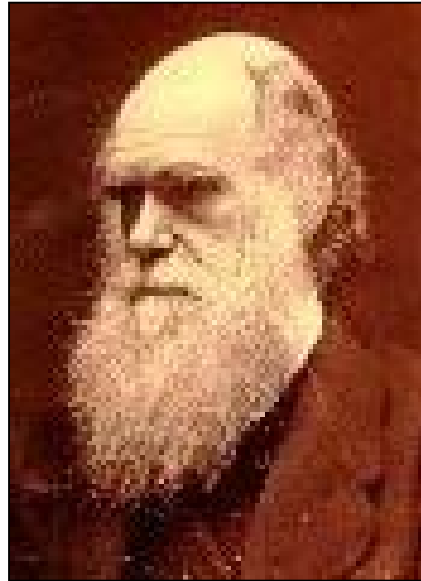


wt-alela: kontrola (redukce)  
embryonální proliferace

# Vznik a dědičnost rostlinných monster (epimutace)



**Carl Linnaeus**  
(1744)



**Charles Darwin**  
(1868)

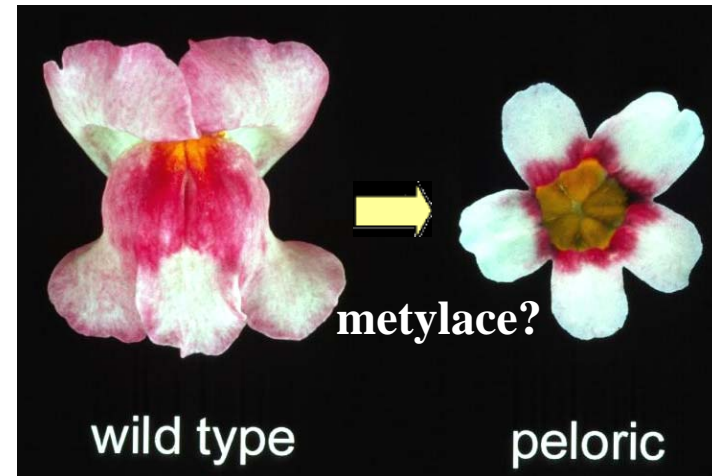


**Enrico Coen**  
(1999)

**Linnaeus** ... pelorie u Inice, historicky první doložená mutace?

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

**Coen** ... hypermetylace homologu genu *Cycloidea*

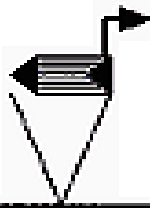


wild type

peloric



retroelement



eumelanin  $\xrightarrow{\text{agouti}}$

phaeomelanin

hair-cycle-specific  
non coding exons

Agouti coding exons

## Agouti Viable Yellow - epigenetický mozaicismus :

metylace retroelementu vede k umlčení ektopické exprese



žlutá myš :  
hypometylace  
alely *A<sup>vy</sup>*  
→ ektopická  
exprese  
*agouti*

tmavá myš :  
hypermetylace  
alely *A<sup>vy</sup>*  
→ umlčení *agouti*  
= pseudoagouti

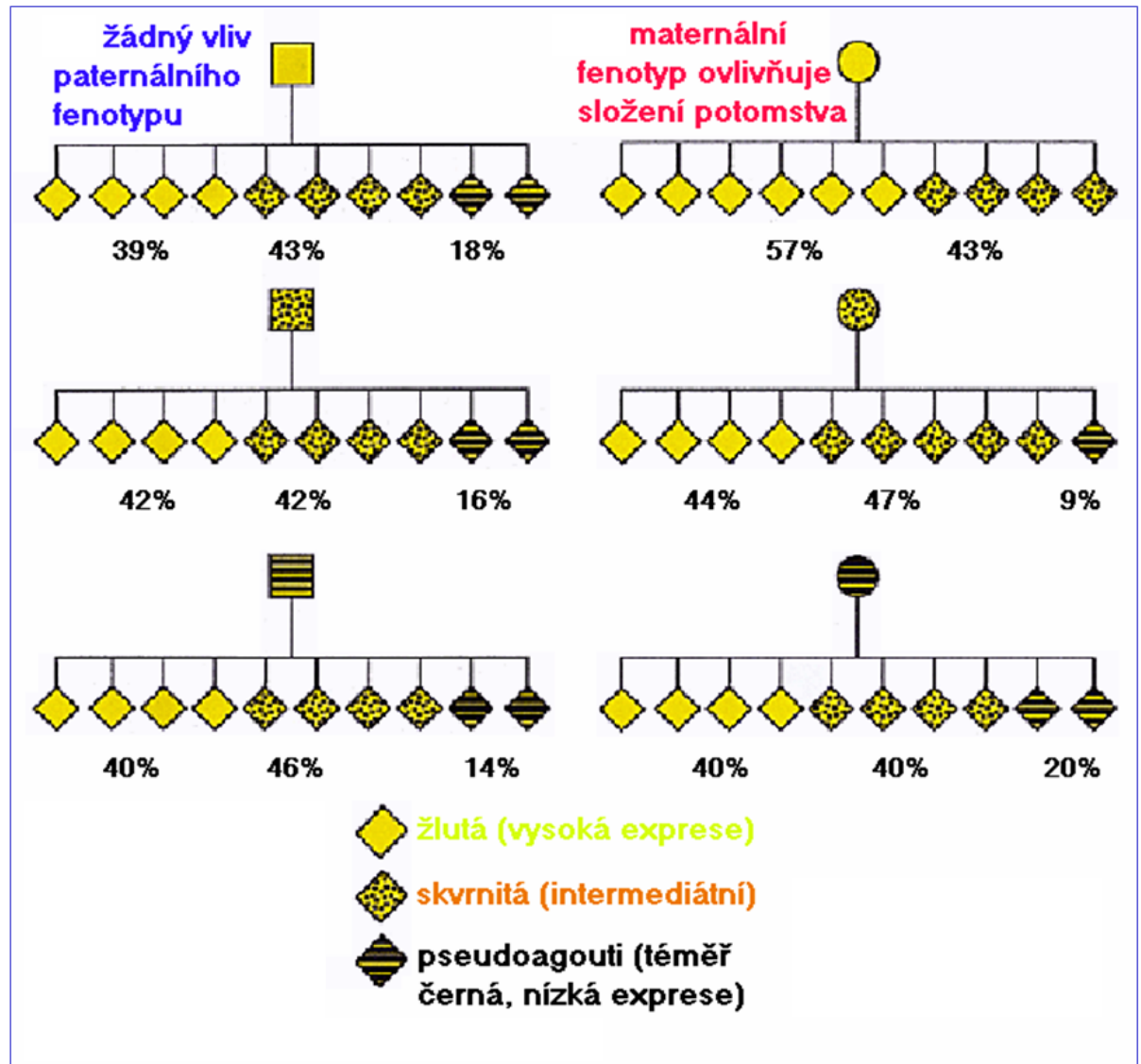
# Fenotypová (maternální) dědičnost *Viable Yellow*

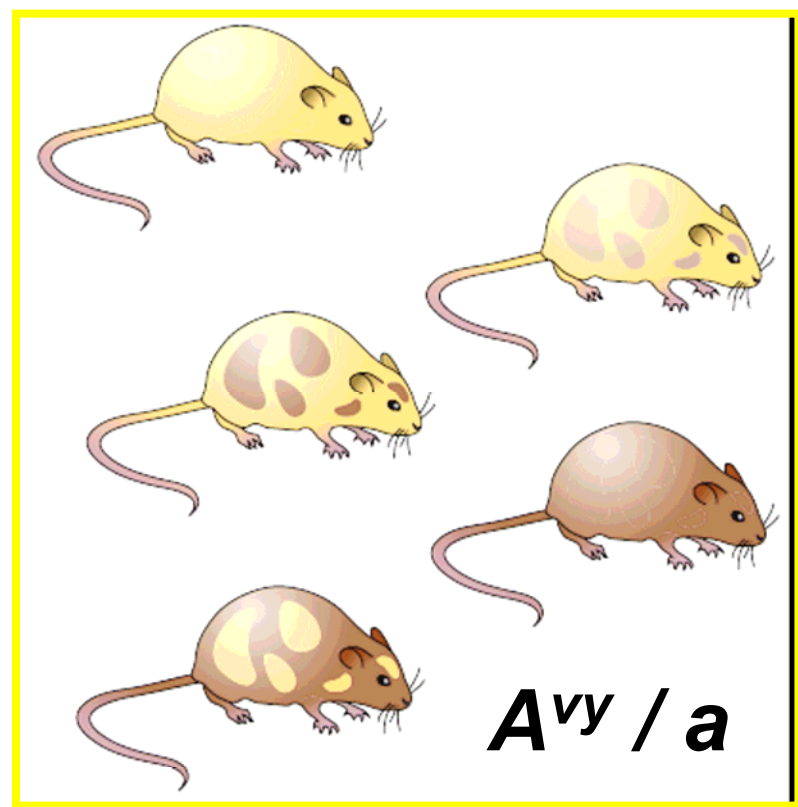
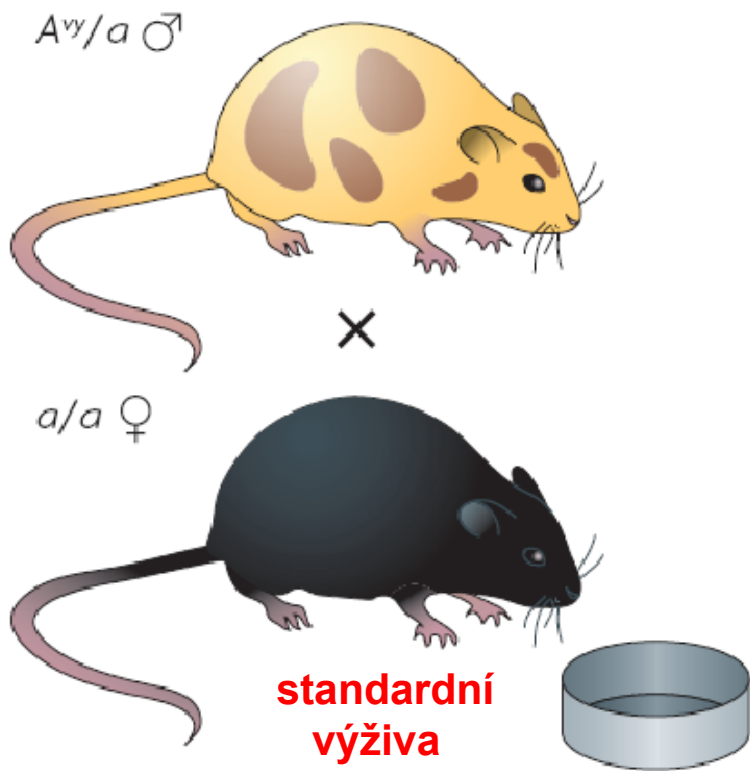
$A^{vy}/a$  x  $a/a$

výsledky  
reciprokých křížení  
s recesivním  
mutantem



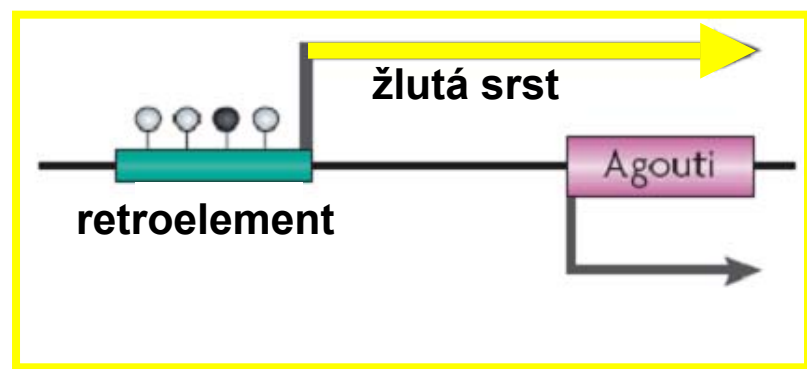
Emma Whitelaw  
(Sydney 1999)



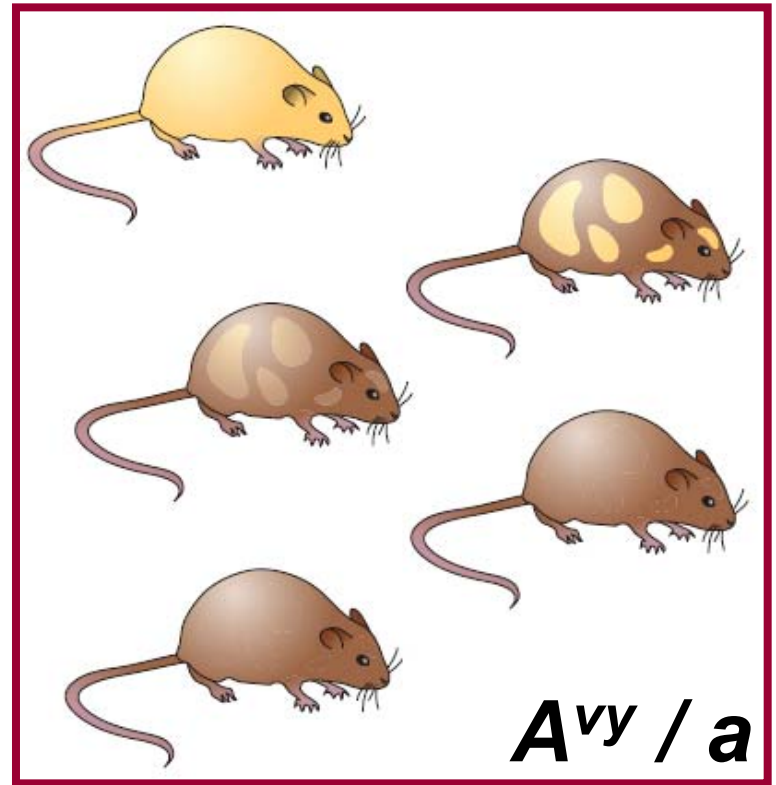
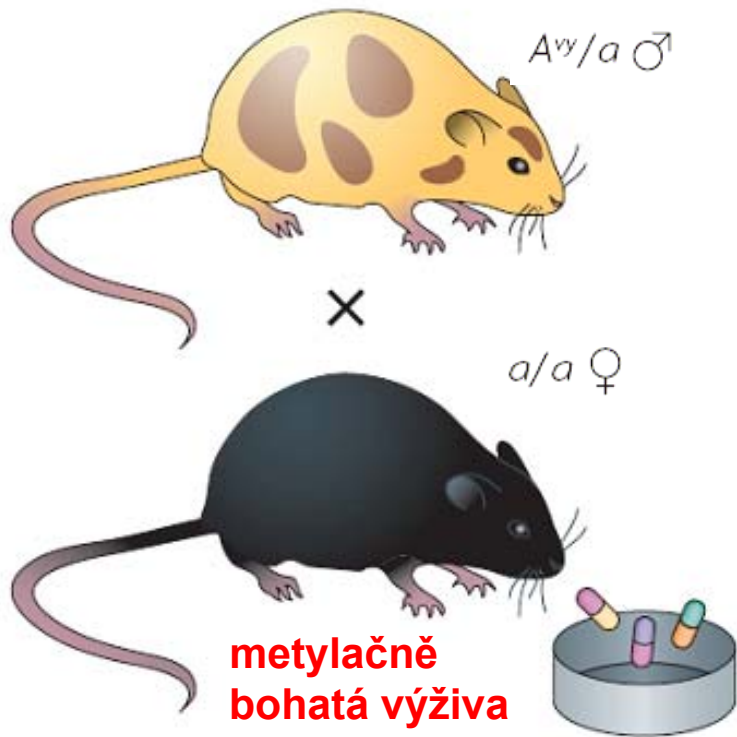


**Nedostatečný  $CH_3$ -metabolismus gravidní samičky nezajistí metylaci paternálního transposonu**

**... ektopická exprese *Agouti***

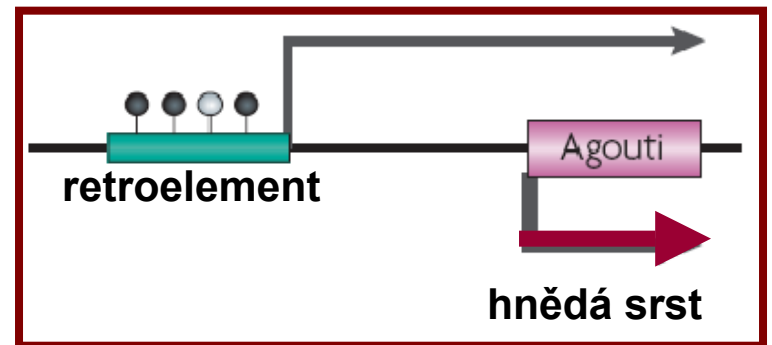


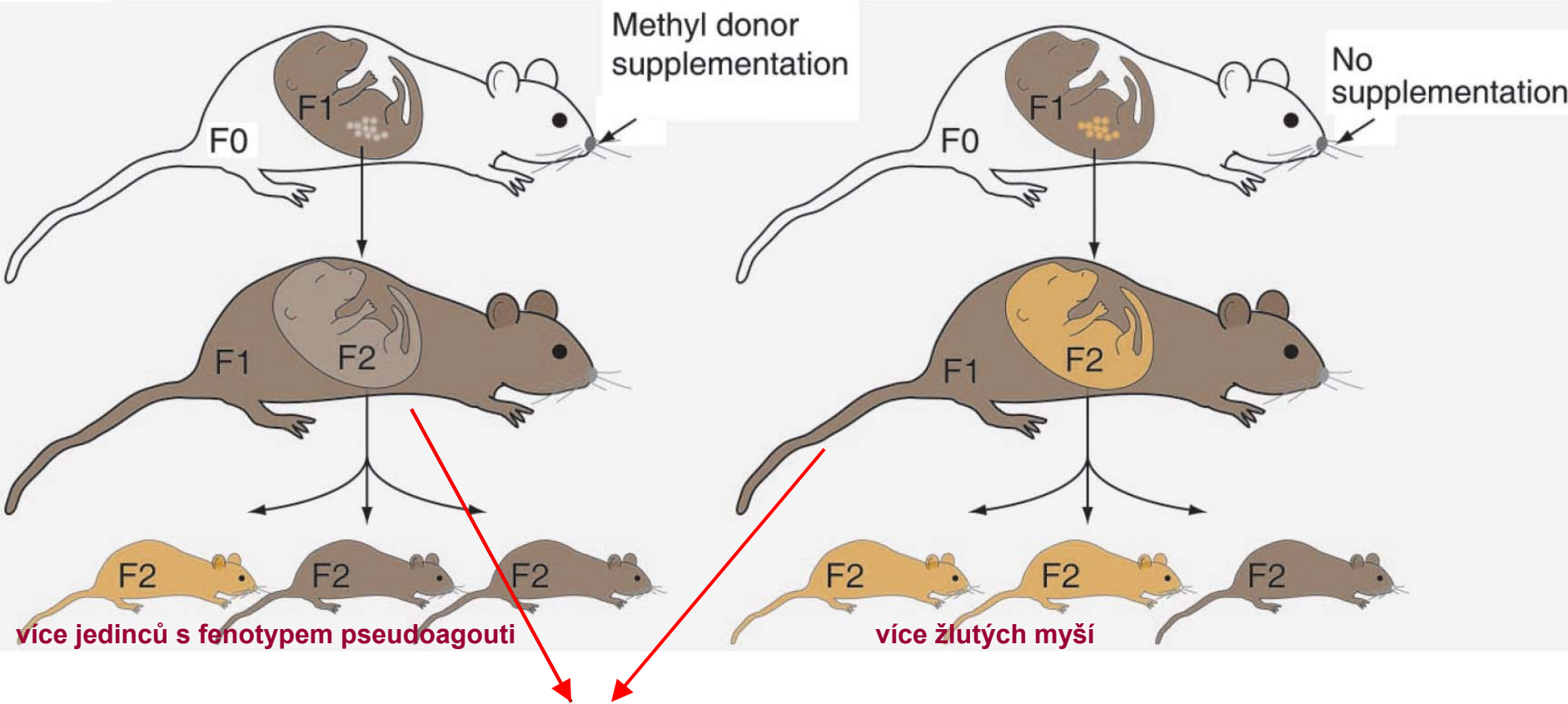




Maternální  $\text{CH}_3$  metabolismus-podporující  
dieta zvyšuje metylaci paternálního  
genomu v potomstvu

**... přirozená exprese genů**





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



# 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

# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, (m)histony, jiné proteiny ?

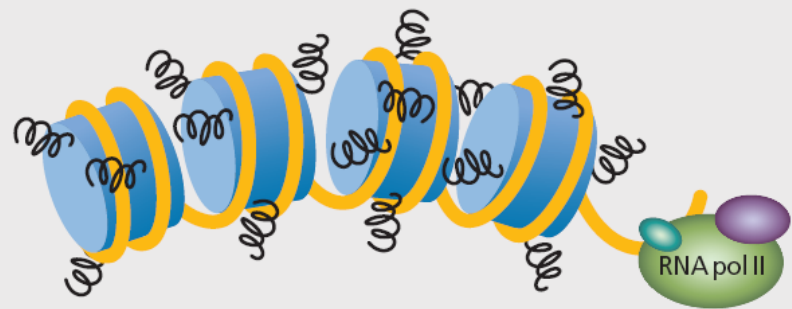
## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

- obligatorní, stochastické

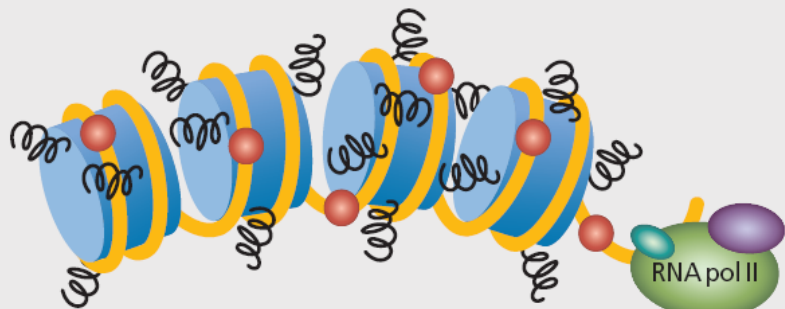
## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

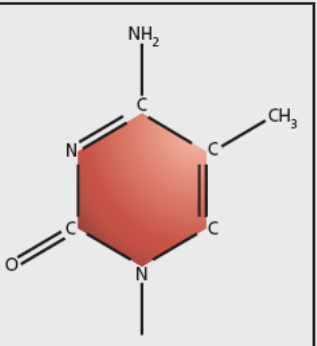
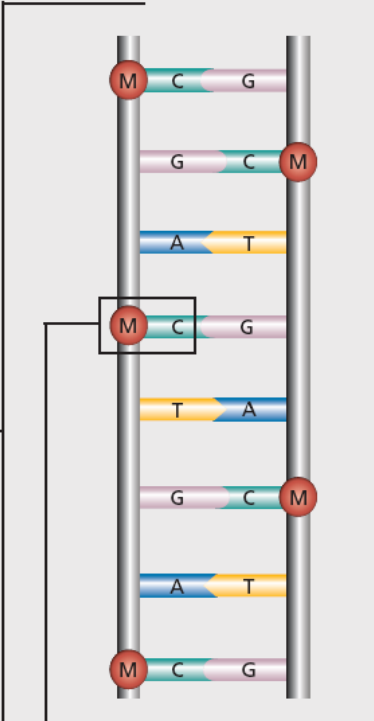
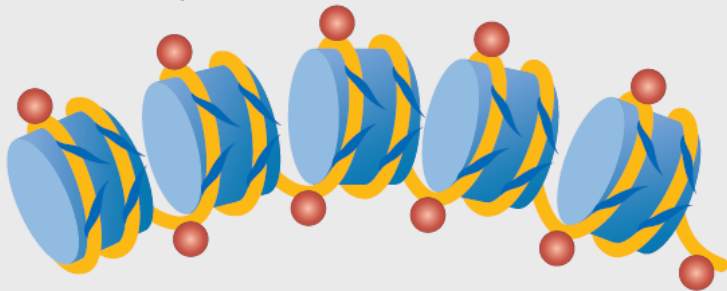
# One Epigenetic Mechanism for Repressing Transcription



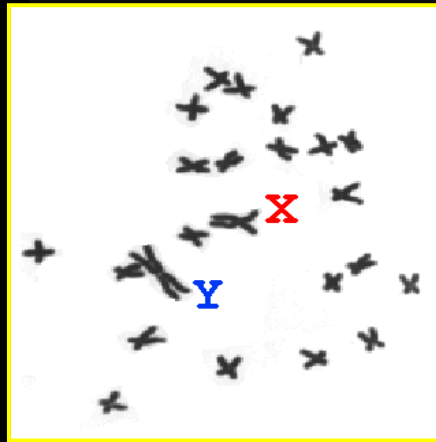
Methyltransferases attach methyl groups to DNA



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



Methyl groups (CH<sub>3</sub>) attach to cytosine bases

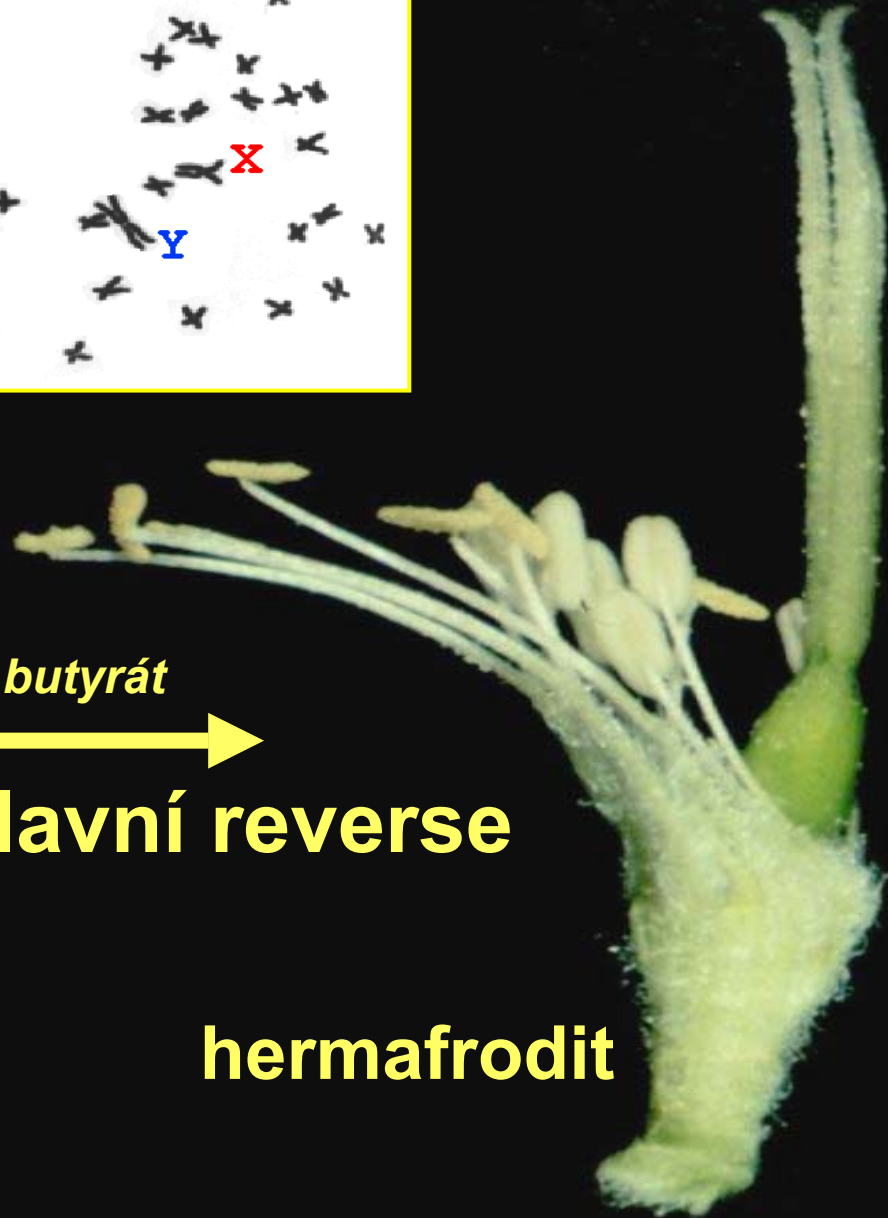


*5-azacytidin, butyrát*



**dědičná pohlavní reverse**

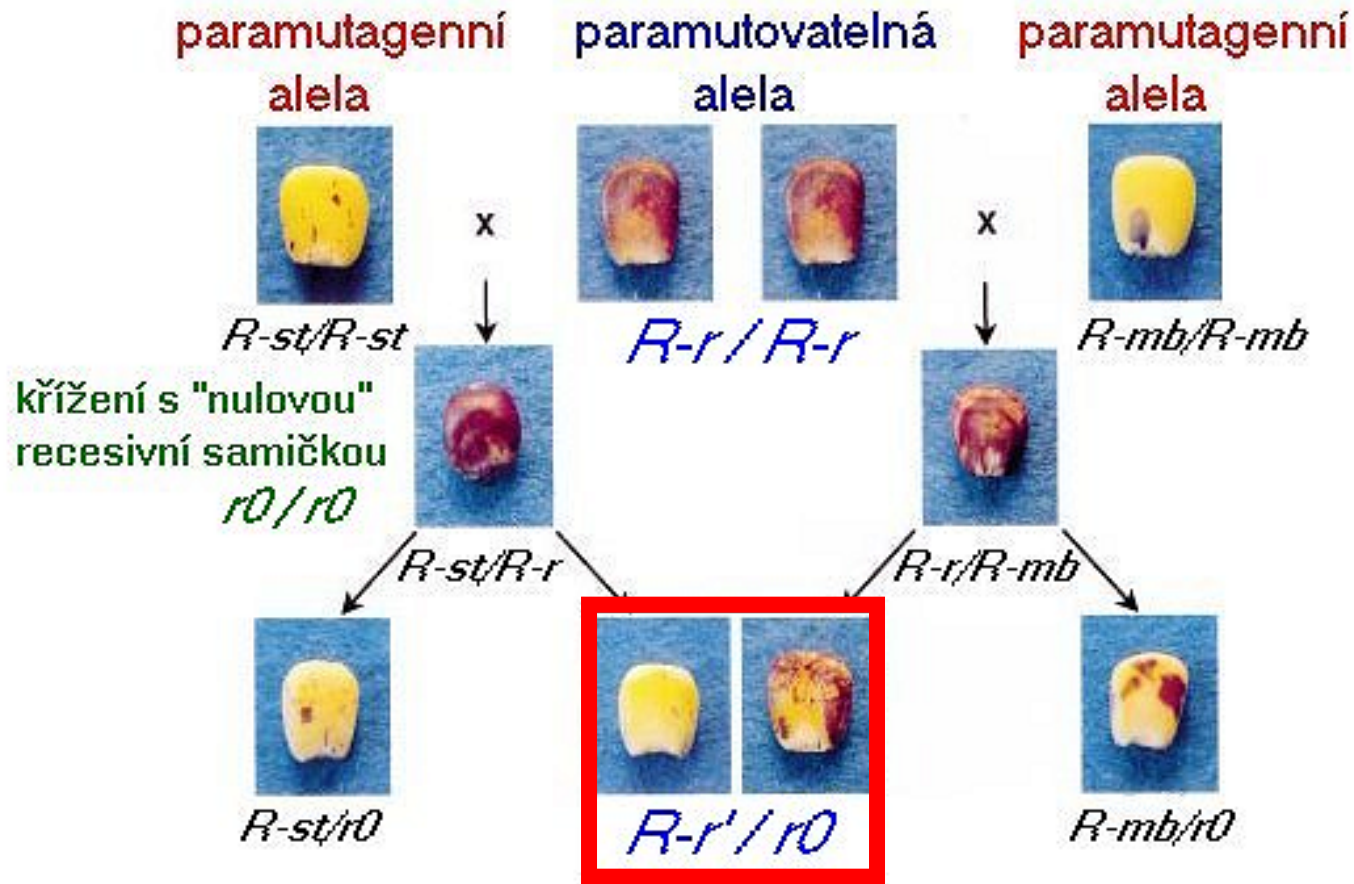
**sameček**



**hermafrodit**



# PARAMUTACE = stabilně dědičné alelické interakce



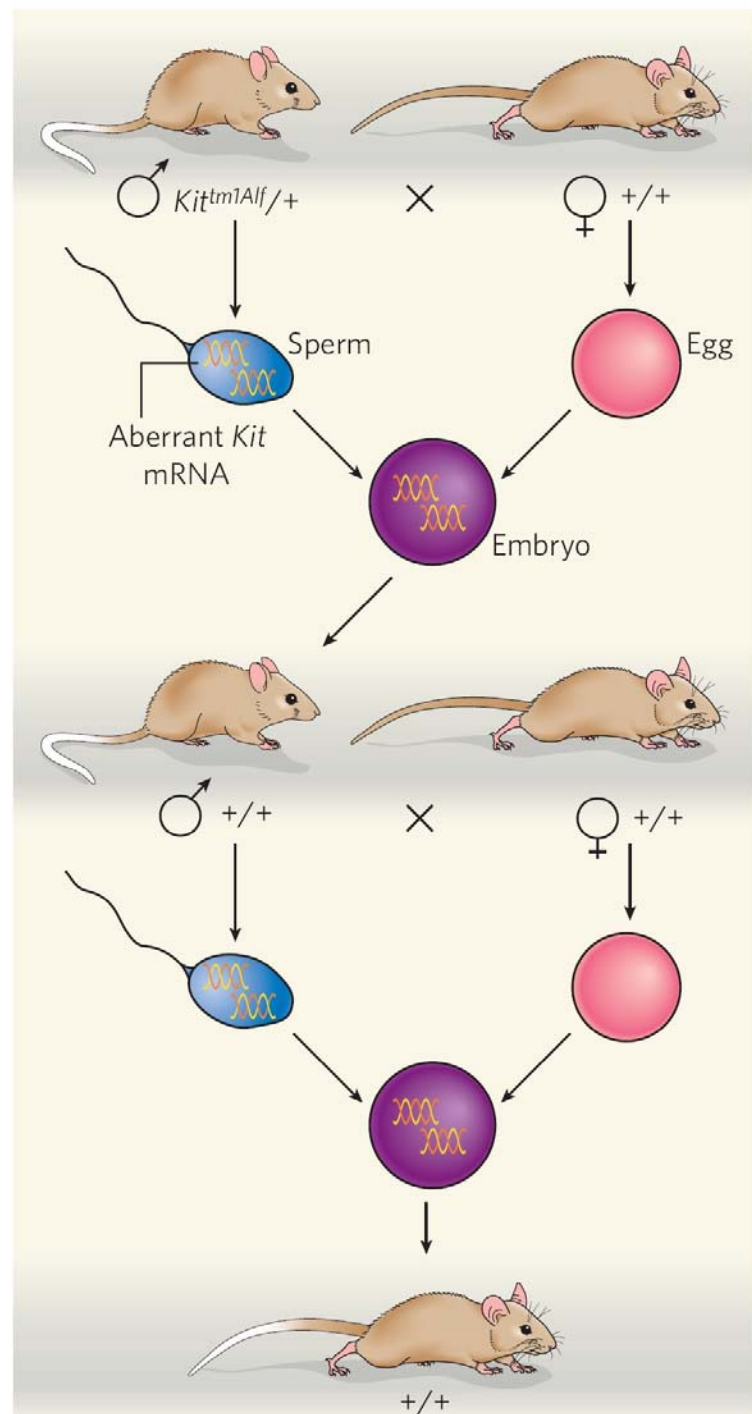
Vol 442|20 July 2006|doi:10.1038/nature04884

nature

## An RNA-dependent RNA polymerase is required for paramutation in maize

Mary Alleman<sup>1</sup>†, Lyudmila Sidorenko<sup>1</sup>, Karen McGinnis<sup>1</sup>, Vishwas Seshadri<sup>1</sup>†, Jane E. Dorweiler<sup>1</sup>†, Joshua White<sup>1</sup>†, Kristin Sikkink<sup>1</sup> & Vicki L. Chandler<sup>1</sup>

# Paramutable possibilities



Vol 441 | 25 May 2006 | doi:10.1038/nature04674

nature

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

Minoo Rassoulzadegan<sup>1,2</sup>, Valérie Grandjean<sup>1,2</sup>, Pierre Gounon<sup>3</sup>, Stéphane Vincent<sup>1,2,†</sup>, Isabelle Gillot<sup>1,2</sup> & François Cuzin<sup>1,2</sup>

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*<sup>tm1Alf</sup> (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*<sup>tm1Alf/+</sup> 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.



# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, (m)histony, jiné proteiny ?

## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

- variabilní penetrance a expresivita

## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise

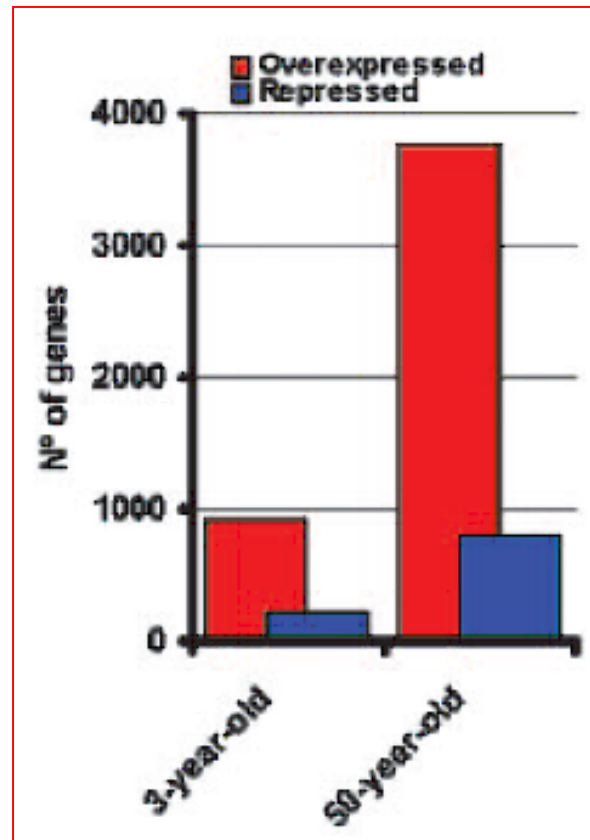


**Neúplná penetrance a variabilní expresivita  
epi-lokusu vedou i k mozaikovému fenotypu**



# Stochastická epigenetická variabilita

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



# *Klasifikace epigenetických jevů podle*

## *(i) mediátoru přenosu informace*

- (m)DNA, RNA, (m)histony, jiné proteiny ?

## *(ii) pravděpodobnosti jevu*

- variabilní penetrance a expresivita

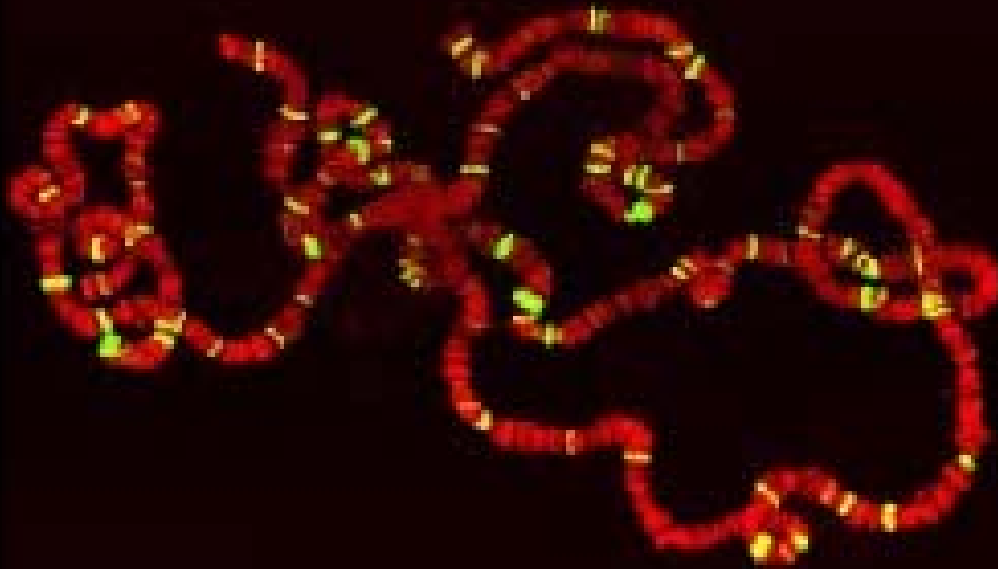
## *(iii) vzdálenosti přenosu informace*

- mitotický bookmarking, meiotická transmise



# Buněčná paměť – Gene bookmarking

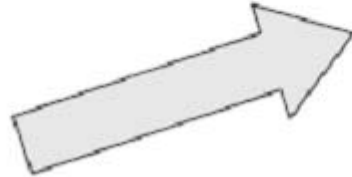
je epigenetický proces, kterým mitoticky se dělící buňky přenášejí specifické stavy svých genových aktivit



Localization of Polycomb protein on *Drosophila* polytene chromosomes

# Maternální programování epigenetických stavů

*Maternální péče jako model „experience-dependent chromatin plasticity“*



**mateřská péče o novorozence  
(lízání a mazlení)**

**serotonin**

**mozkový transmitter**

**cAMP**

**cyklický adenosin monofosfát**

**DNA demetylázy**

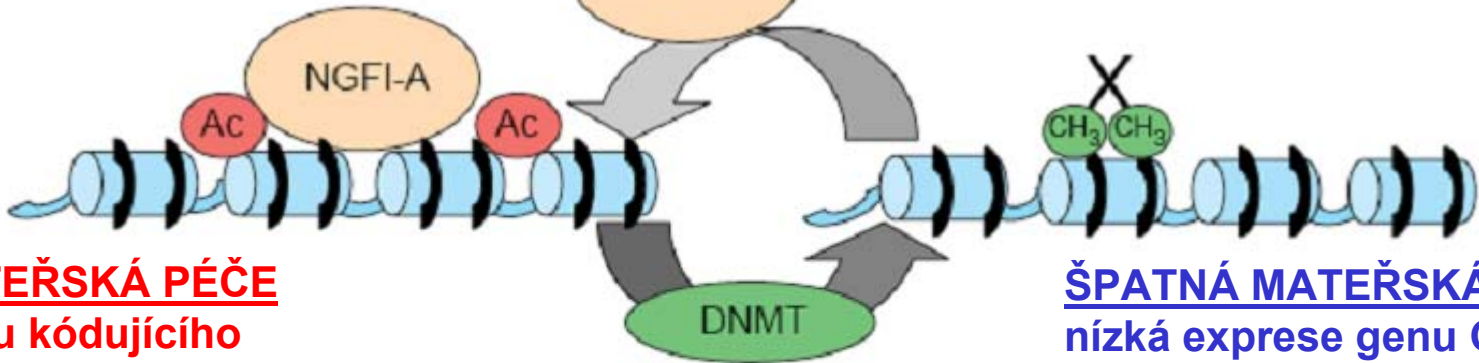
**PKA**

**protein kináza A**

**histon-acetyltransferázy**

**NGFI-A**

**mozkový transkripční faktor**



**DOBŘÁ MATEŘSKÁ PÉČE**

**exprese genu kódujícího  
glukokortikoidní receptor -  
STABILNÍ PSYCHIKA POTOMSTVA**

**ŠPATNÁ MATEŘSKÁ PÉČE**

**nízká exprese genu GR,  
STRESOVÁ PSYCHIKA  
DOSPĚLÉHO POTOMSTVA**



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



permanentní programování funkcí

**dítě**

nízká porodní váha

přenos epigenetického stavu do další generace

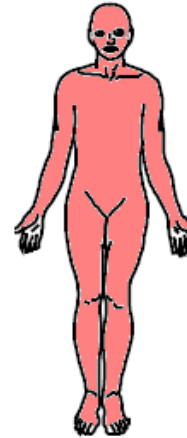
vzrůst ... maternálního kortisolu, insulinu, maternálního krevního tlaku ...



další předávání epigenetického programu (DNA metylační záznam)

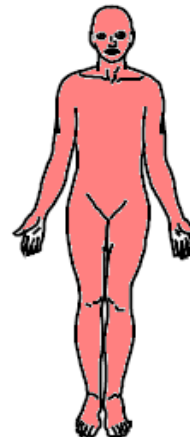
**původní environmentální vliv v době těhotenství**

drogy, léky, choroby, výživa, chování matky, postnatální péče ...



**dospělec (matka)**

zvýšené riziko kardiovaskulárních chorob, hormonální aktivita, stres



**dospělec**

progresivní udržování / stabilizace  
“syndromu choroby”

## Safety helmets



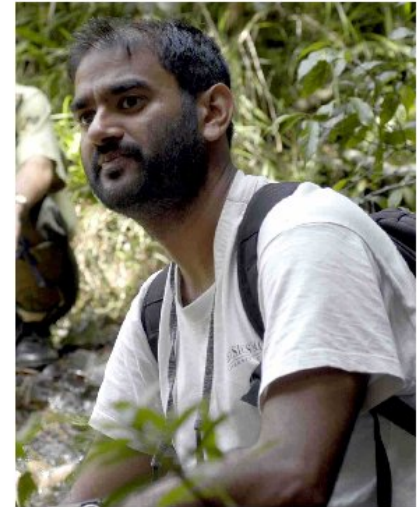
Unlike the helmet of Perseus, the helmet of the water flea (*Daphnia* spp.) does not make it invisible, but it does confer some protection against predators by making the fleas harder to catch. Water fleas do not necessarily begin life with a helmet but can form one as a morphological defence in response to chemicals released by their predators. The images above show three pairs of water fleas from different species; the non-helmeted morph is on the left in each pair of fleas. Clockwise from the top left these are: *Daphnia cucullata*; the Australian species *Daphnia longicephala*, whose huge crests keep their predator, the backswimmer, from getting a firm grasp on them; and the Asian/African

species *Daphnia lumholtsi*, whose distinctive helmets protect them against even fish.

But being able to develop a helmet is no good to the water flea if it is attacked before it has done so. In *Daphnia*, females who have grown helmets can transmit this benefit to their offspring, thereby improving their reproductive success. Their offspring not only start life with a form that provides better protection but, in the face of predatorial threat, can go on to develop larger helmets than the offspring of nonhelmeted females in the same environment. This bequeathing of a helmet is an

example of a maternally induced (transgenerational) adaptation; genes activated in the mother are expressed as a phenotype in their offspring. For further details, see Agrawal A.A., Laforsch C. and Tollrian R., *Nature* 1999, 401: 60-63. Images provided by Ralph Tollrian and Christian Laforsch, Ludwig-Maximilian University, Zoological Institute, Karlstrasse 25, 80333 München, Germany.

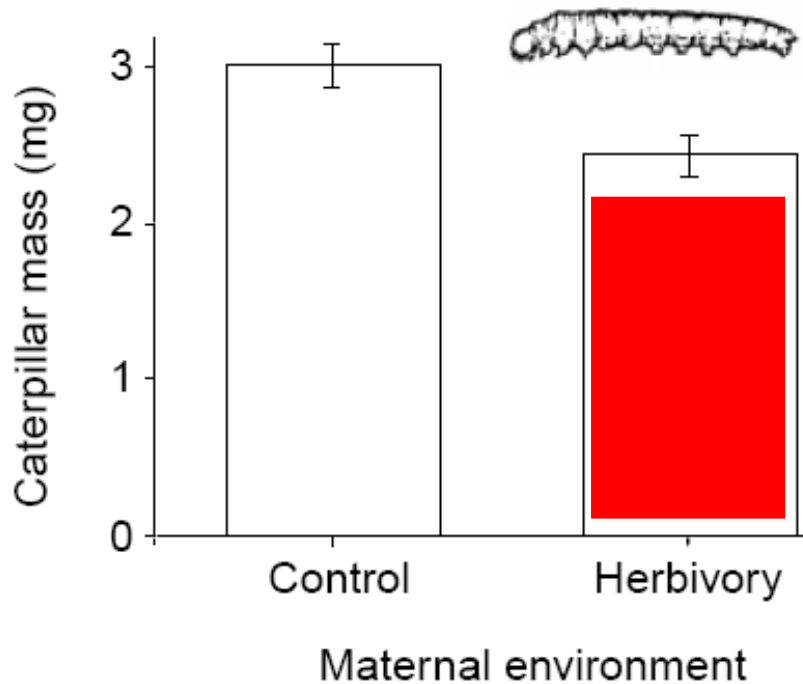
Anurag Agrawal



Ecology and Evolutionary Biology, Corson Hall,  
Cornell University Ithaca, New York 14853 USA

**... samičky hrotnatky *Daphnia* si po ataku predátora vytvářejí ochrannou přilbu, tento znak pak přenášejí do potomstva**

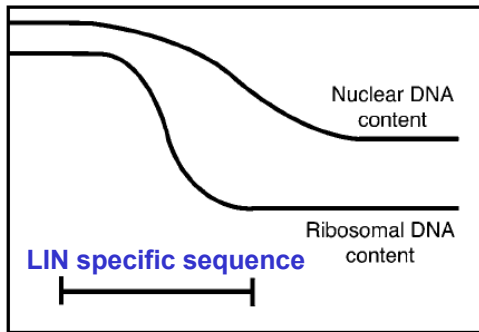
... rostliny ohnice *Raphanus raphanistrum* v reakci na požer housenkou *Pieris rapae* syntetizují odpudivé hořčičné látky, znak přetrvává minimálně do další generace



*Raphanus raphanistrum* resistance to herbivory as measured by growth of a specialist caterpillar, *Pieris rapae*, on the  $F_1$  generation of seedlings from different maternal environments. Maternal plants were either subject to herbivory by *P. rapae* or left undamaged. This transgenerational induction of defences was not associated with differences in seed mass or seed concentrations of carbon or nitrogen.

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

- genotropy u *Lin* (vliv podnebí a výživy na větvení)



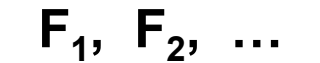
Time from germination →



bez hnojení



bez hnojení



hnojení



bez hnojení

F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, ...





## Vliv environmentálních faktorů



- **vývojové abnormality (teratogeneze) drosofily způsobené deficiencí *heat-shock* proteinů**

# Tepelný šok navozuje fenokopie

vzorce zbarvení křídel motýlů (*Aglais urticae*)

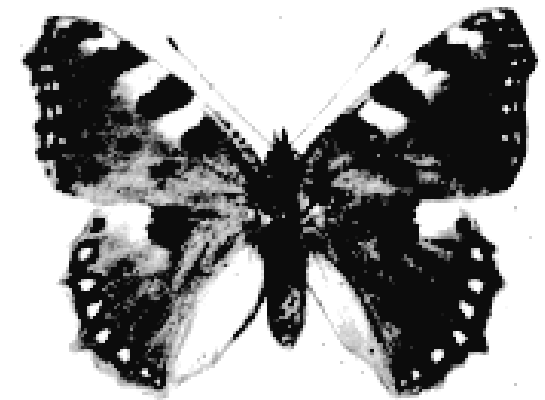
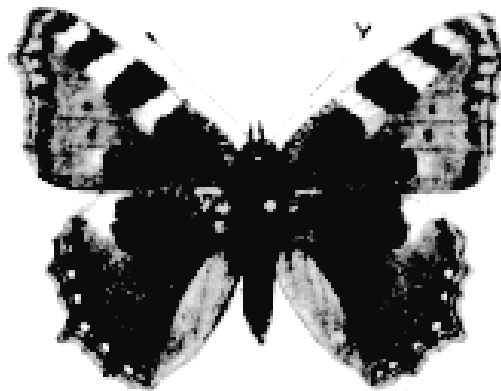


Richard B. Goldschmidt  
(1879-1958)

**středoevropská  
varianta**

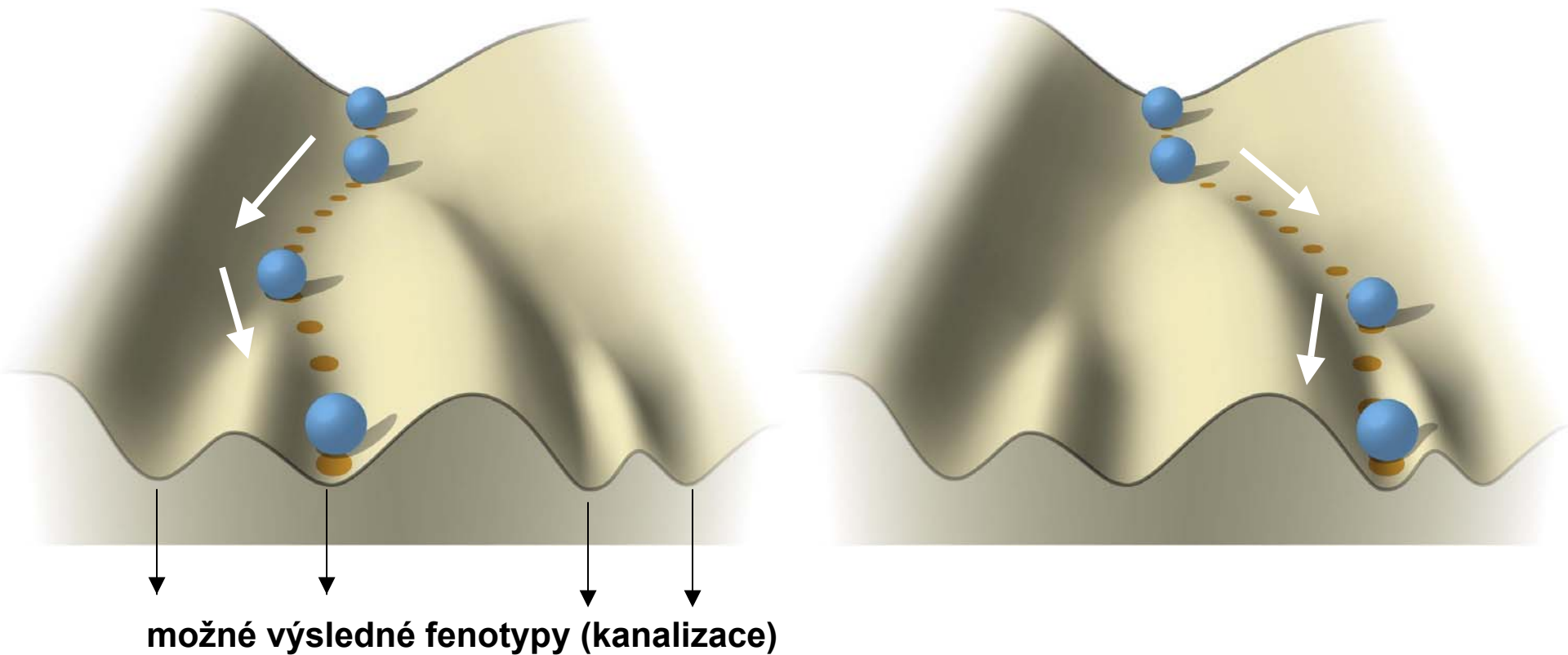
**heat-shock fenokopie  
připomínající formu ze Sardinie**

**Sardinská  
varianta**





# Waddington: Diferenciace je epigenetický proces ovlivňovaný prostředím



**... adaptivní změny genové exprese mohou být za určitých podmínek v ontogenezi stabilizovány (asimilovány)**

**... evoluce je fixace ontogenetických změn**

# Epigenetics: A Landscape Takes Shape

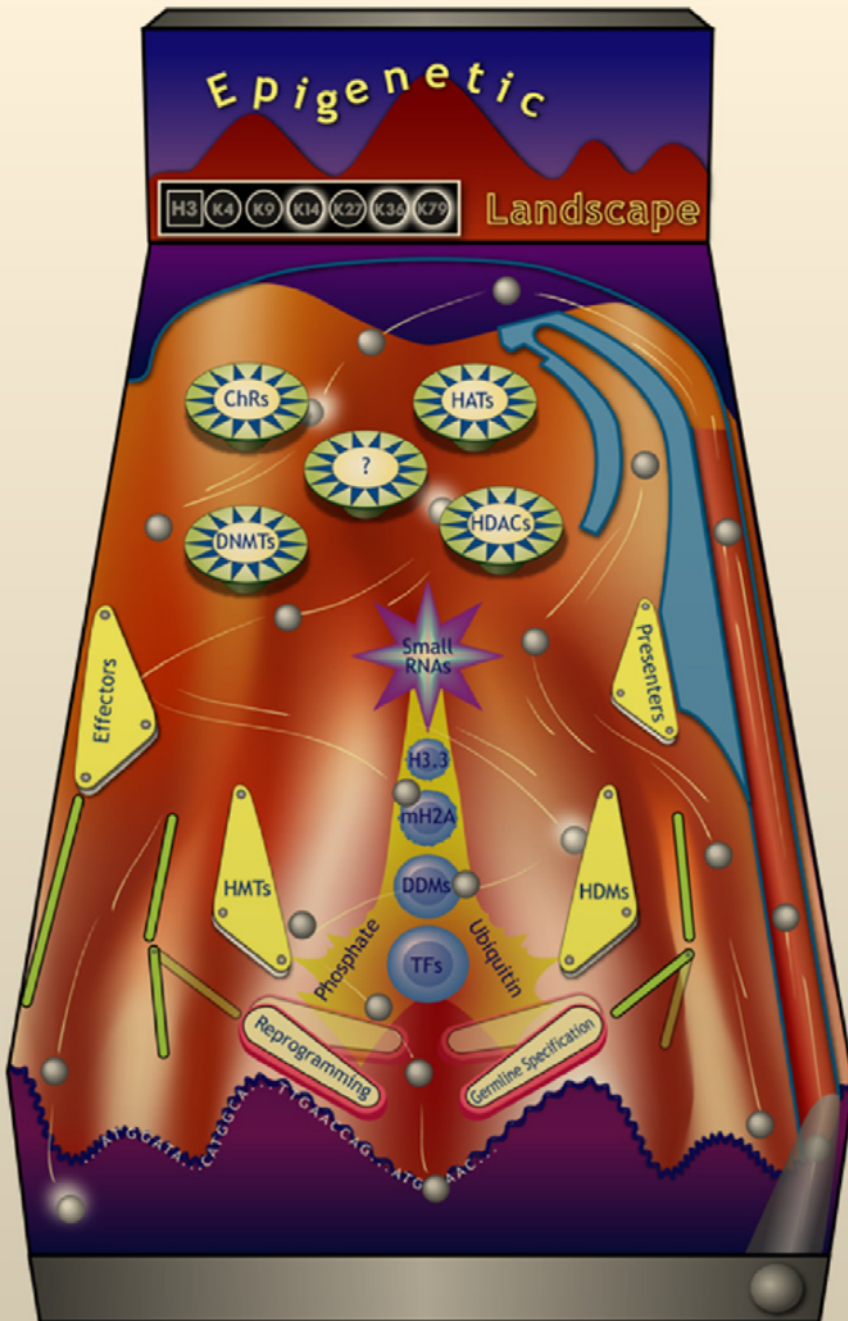
Aaron D. Goldberg,<sup>1</sup> C. David Allis,<sup>1,\*</sup> and Emily Bernstein<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Chromatin Biology, The Rockefeller University, New York, NY 10021, USA

\*Correspondence: alliscd@rockefeller.edu (C.D.A.), bernste@rockefeller.edu (E.B.)

DOI 10.1016/j.cell.2007.02.006

Epigenetics has recently evolved from a collection of diverse phenomena to a defined and far-reaching field of study. In this Essay, we examine the epistemology of epigenetics, provide a brief overview of underlying molecular mechanisms, and suggest future challenges for the field.



ChR = remodelatory chromatinu

DNMT = DNA metyltransferásy

HAT = histon acetyltransferásy

HDAC = histon deacetylásy

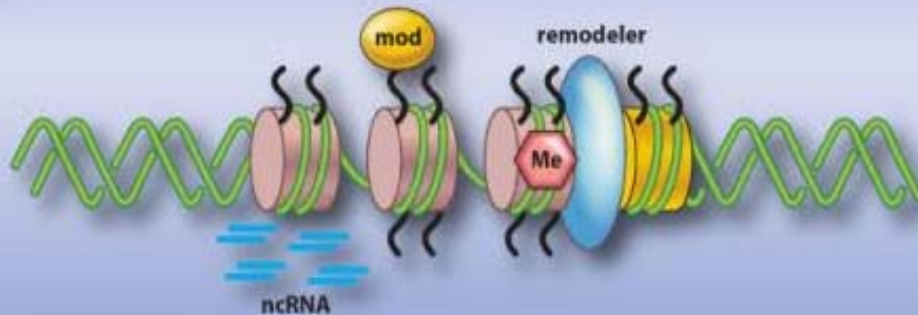
HMT = histon metyltransferásy

HDM = histon demetylásy

DDM = DNA demetylásy

TF = transkripční faktory

# EPIGENETICS



Editors

C. David Allis  
Thomas Jenuwein  
Danny Reinberg

Associate Editor

Marie-Laure Caparros

**Cold Spring Harbor  
Laboratory Press,  
New York,  
2007**



<http://www.ibp.cz/labs/LPDG/>

[vyskot@ibp.cz](mailto:vyskot@ibp.cz)