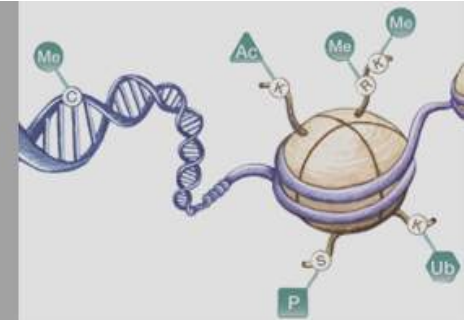




Genomika

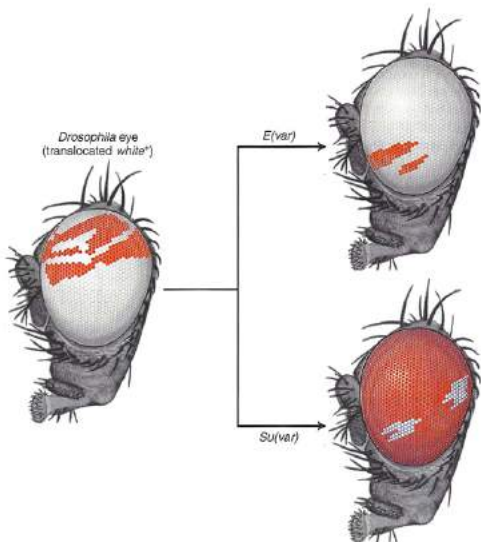
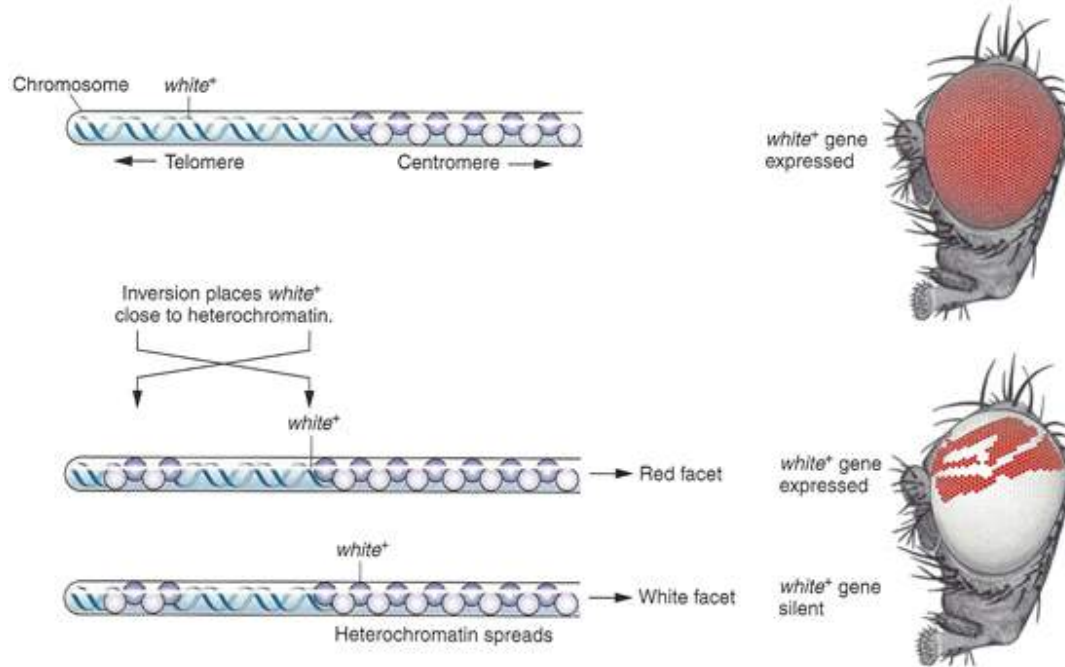
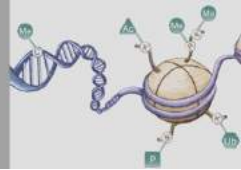
Epigenetika



Varga Máté – ELTE Genetikai Tanszék
(mvarga@ttk.elte.hu)

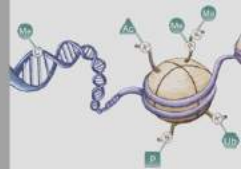
2019.09.23.

Pozíció-hatás (Position-effect variegation): a kromatin hozzáférhetőség függvénye

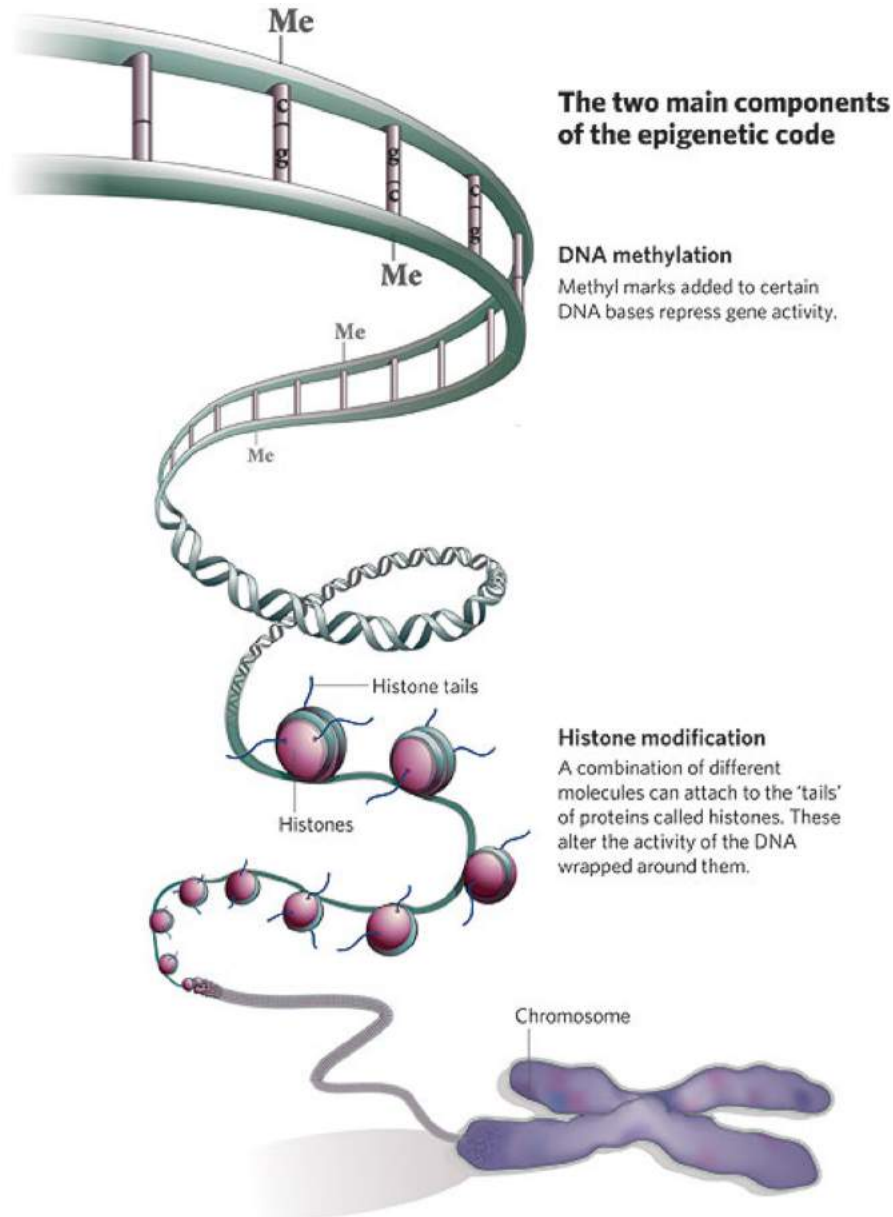


E(var) Enhancerek: e.g. Facilitator of Chromatin Transcription (FACT) fehérjék

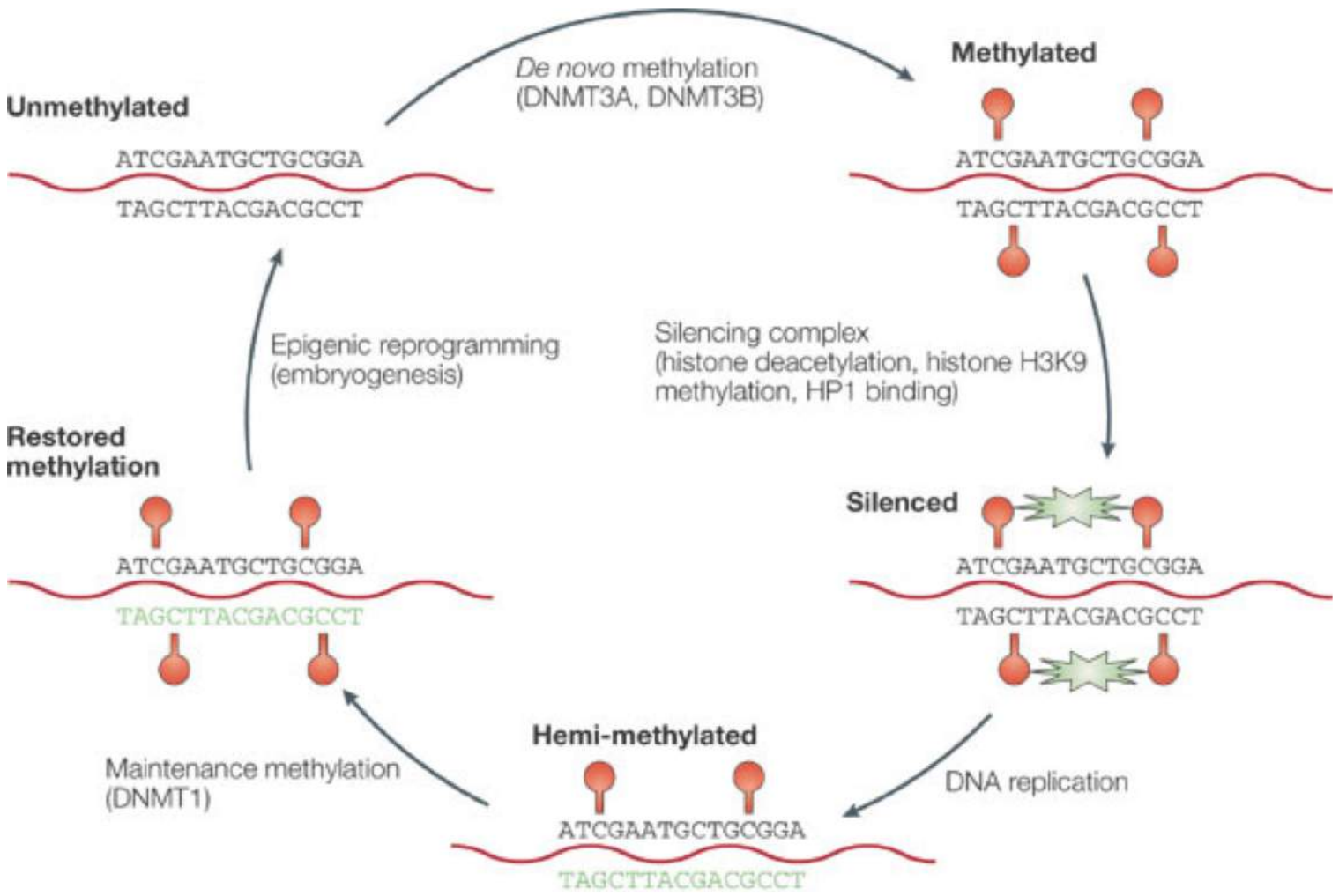
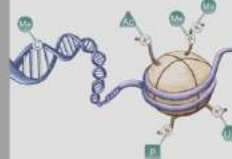
Su(var) Szupresszorok: e.g. Histone Deacetylases (HDACs)

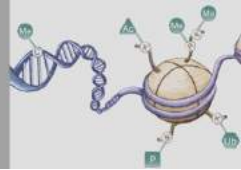


A génműködés epigenetikus szabályozása

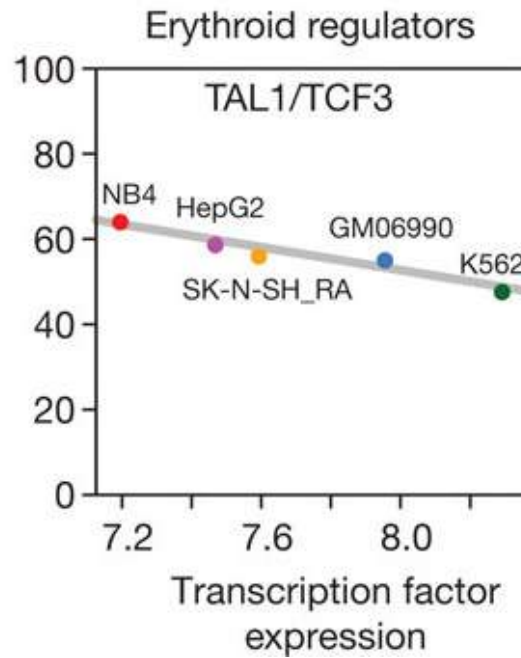
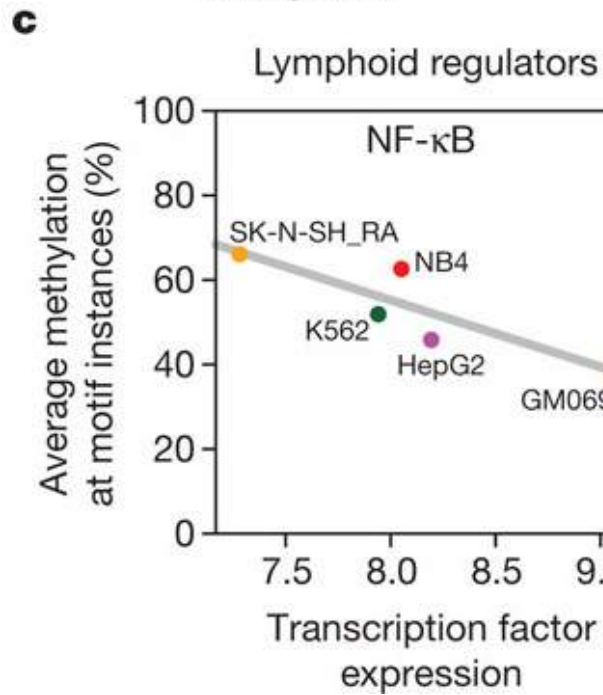
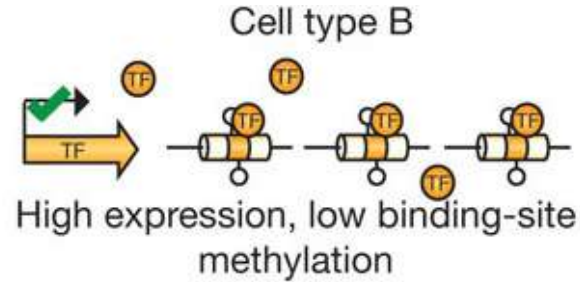
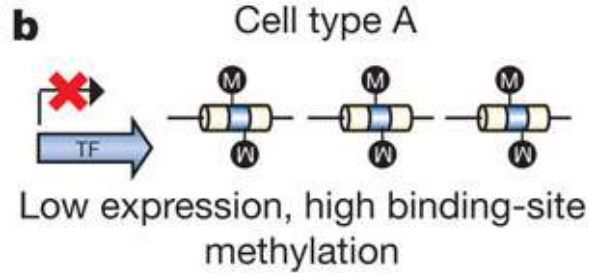


DNS metiláció CpG pozíciókban





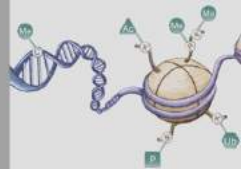
A DNS metiláció lehet passzív folyamat



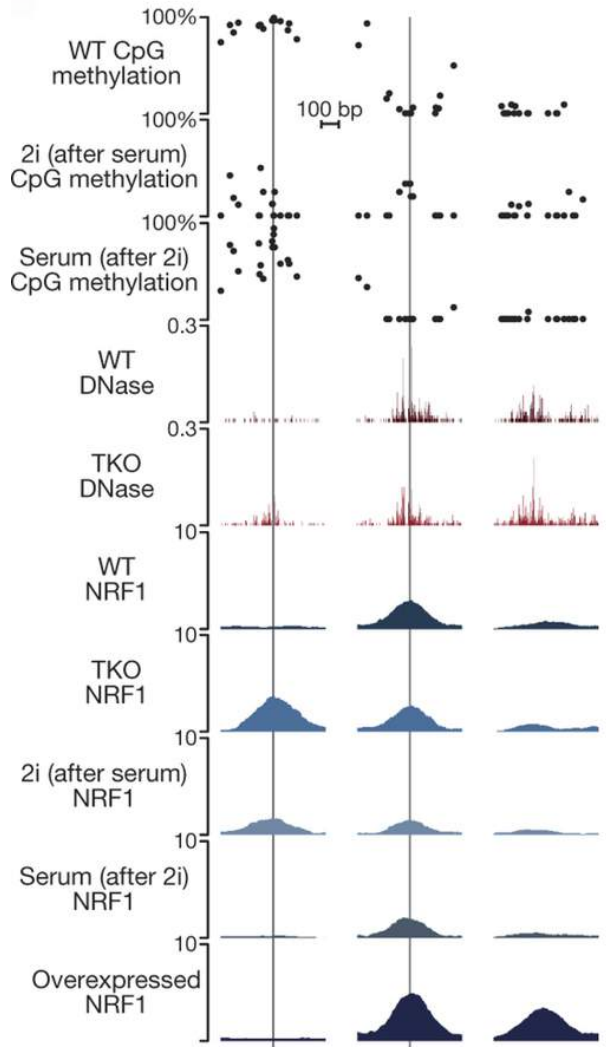
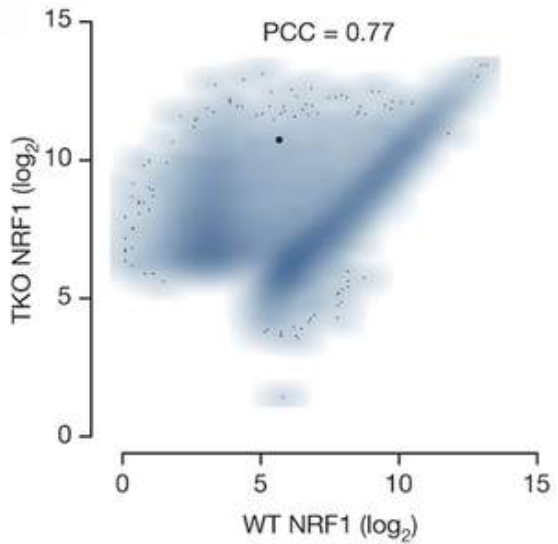
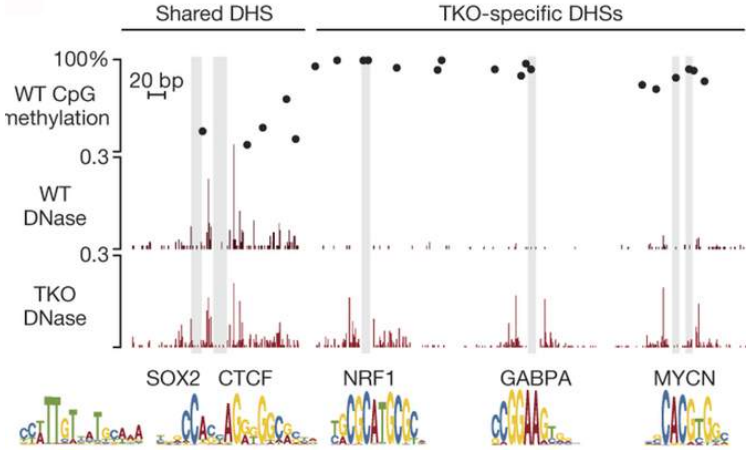
- ha a DNS metiláció egy aktív folyamat lenne, akkor a metiláció mértéke egyes TF kötőhelyeken független kellene legyen adott TF koncentrációjától

- ezzel szemben azt tapasztaljuk, hogy minél nagyobb egy TF expressziója, annál kevésbé metilált a specifikus kötőhelye

- vagyis a metiláció egy passzív folyamat ott zajlik le, ahol a DNS-t nem kötik más faktorok

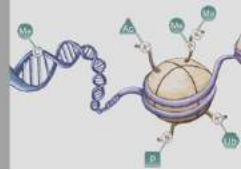


Léteznek metilációra érzékeny TF-k

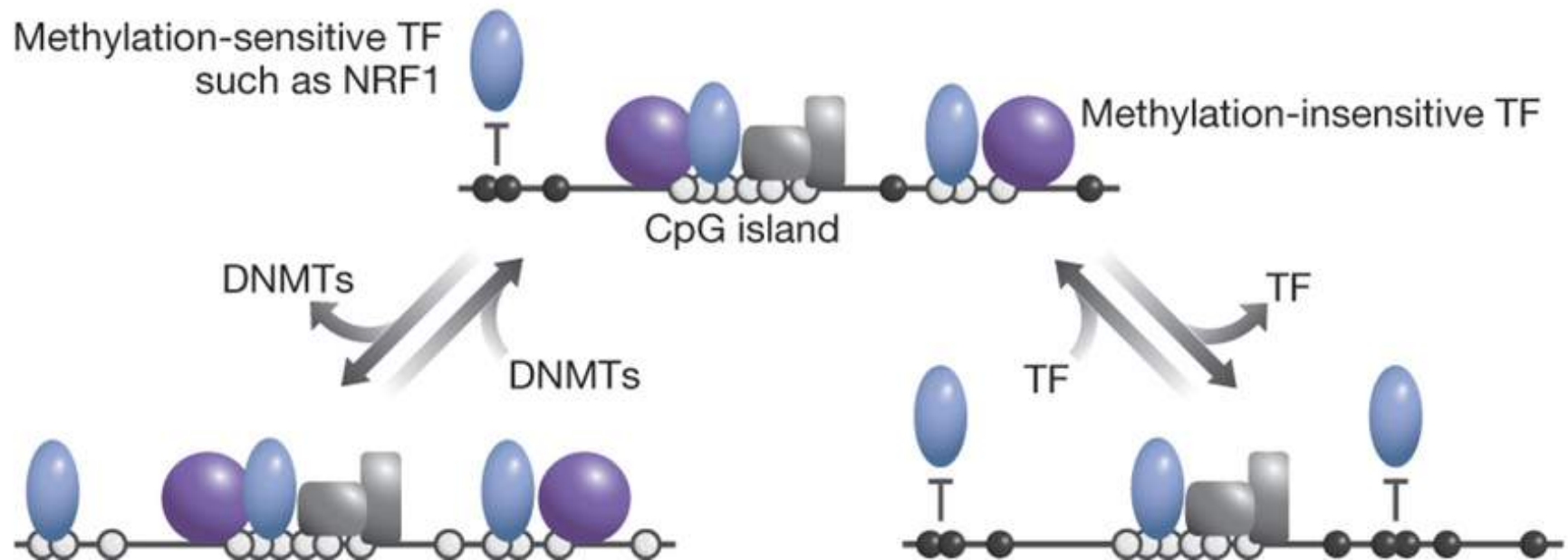


- DNMT funkció hiányában, korábban metilált helyekre is bekötnek TF-k

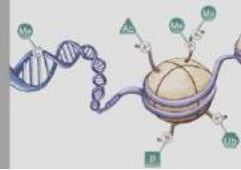
- új metiláció hatására, ezek az NRF1 kötések eltűnnek



Léteznek metilációra érzékeny TF-k

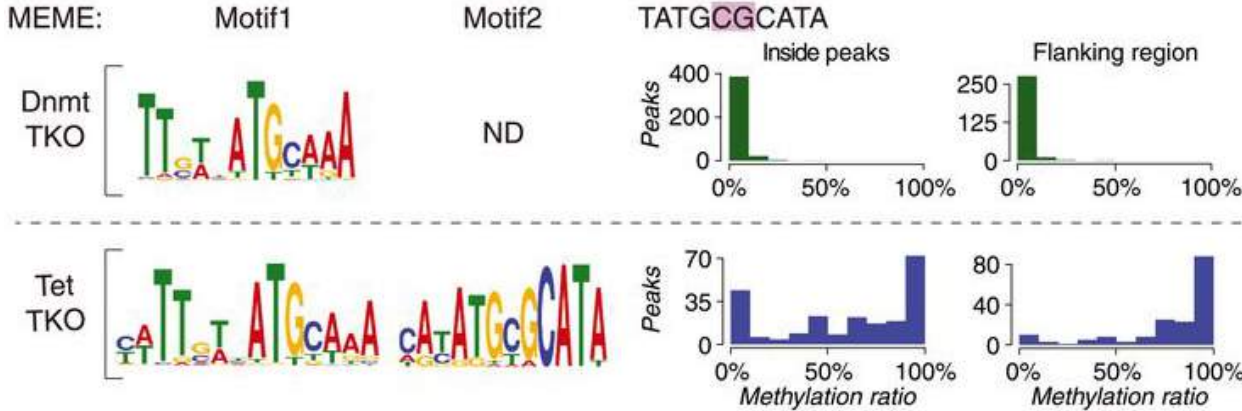


- a metiláció-szenzitív TF-k kötése bekövetkezhet a DNMT-funkció csökkenése következményében, vagy metiláció-inszenzitív TF-k kötésének hatására (amely lokális demetilációt indukálhat)



Léteznek metilációra érzékeny TF-k

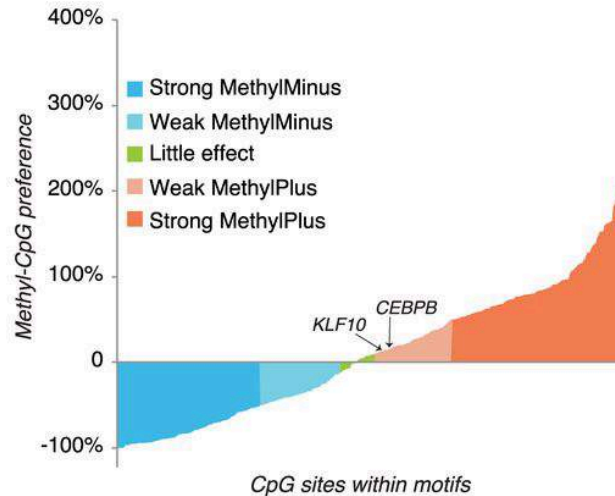
Oct4 (Pou5f1): MethylPlus



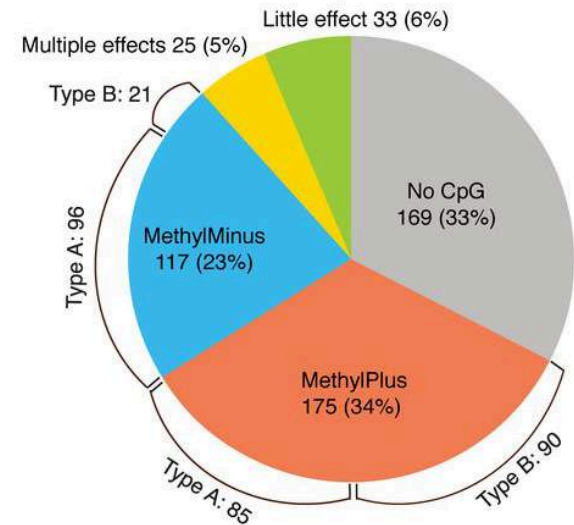
- Az Oct4 bizonyos kötőhelyein preferálja a metilációt

- a legtöbb ismert TF valamilyen módon érzékeny a metilációra.

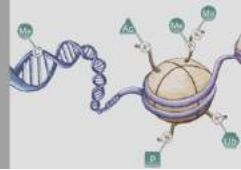
A



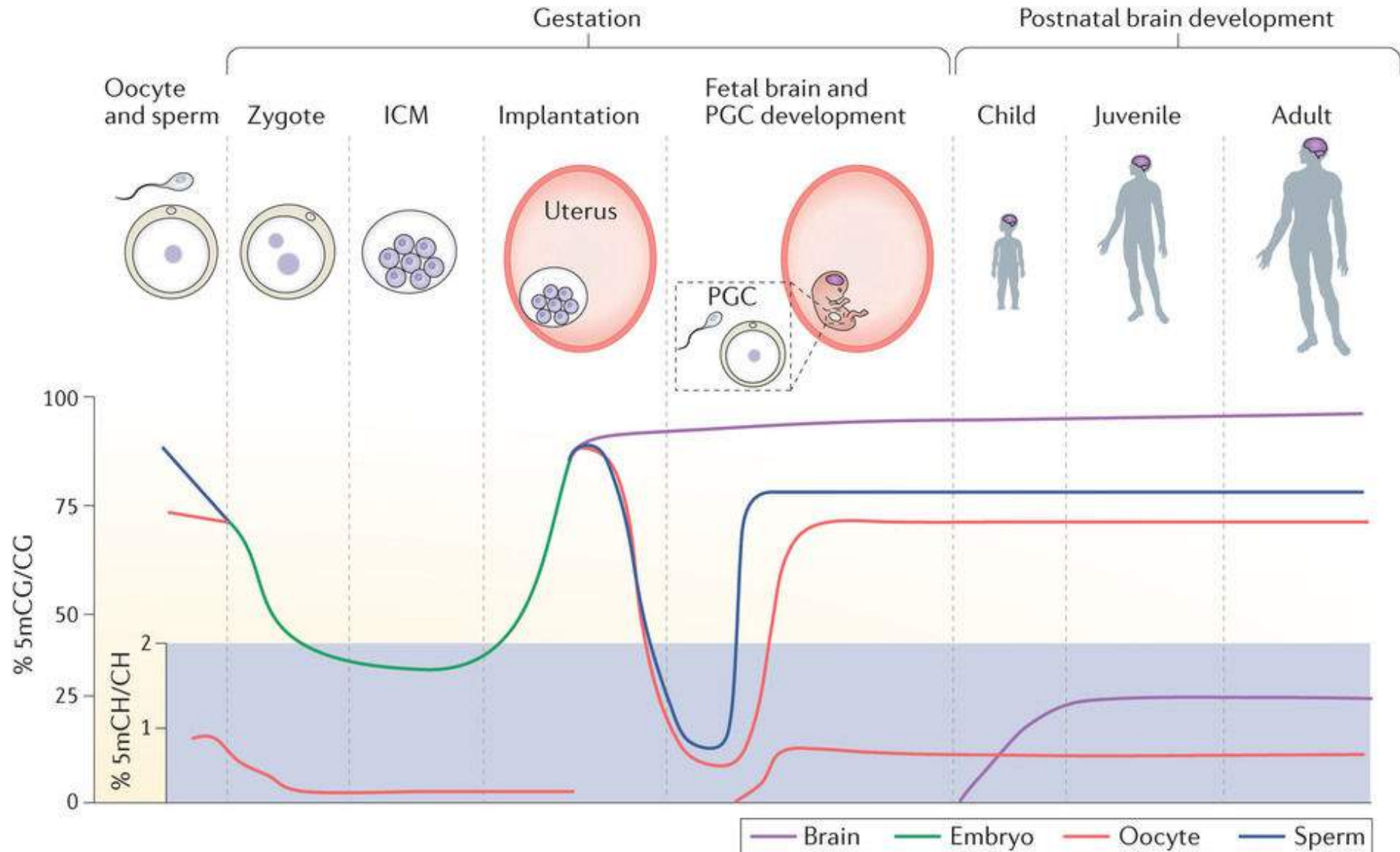
B

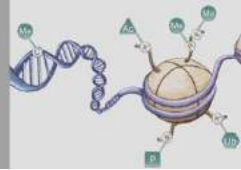


(Yin et al. 2017 Science)

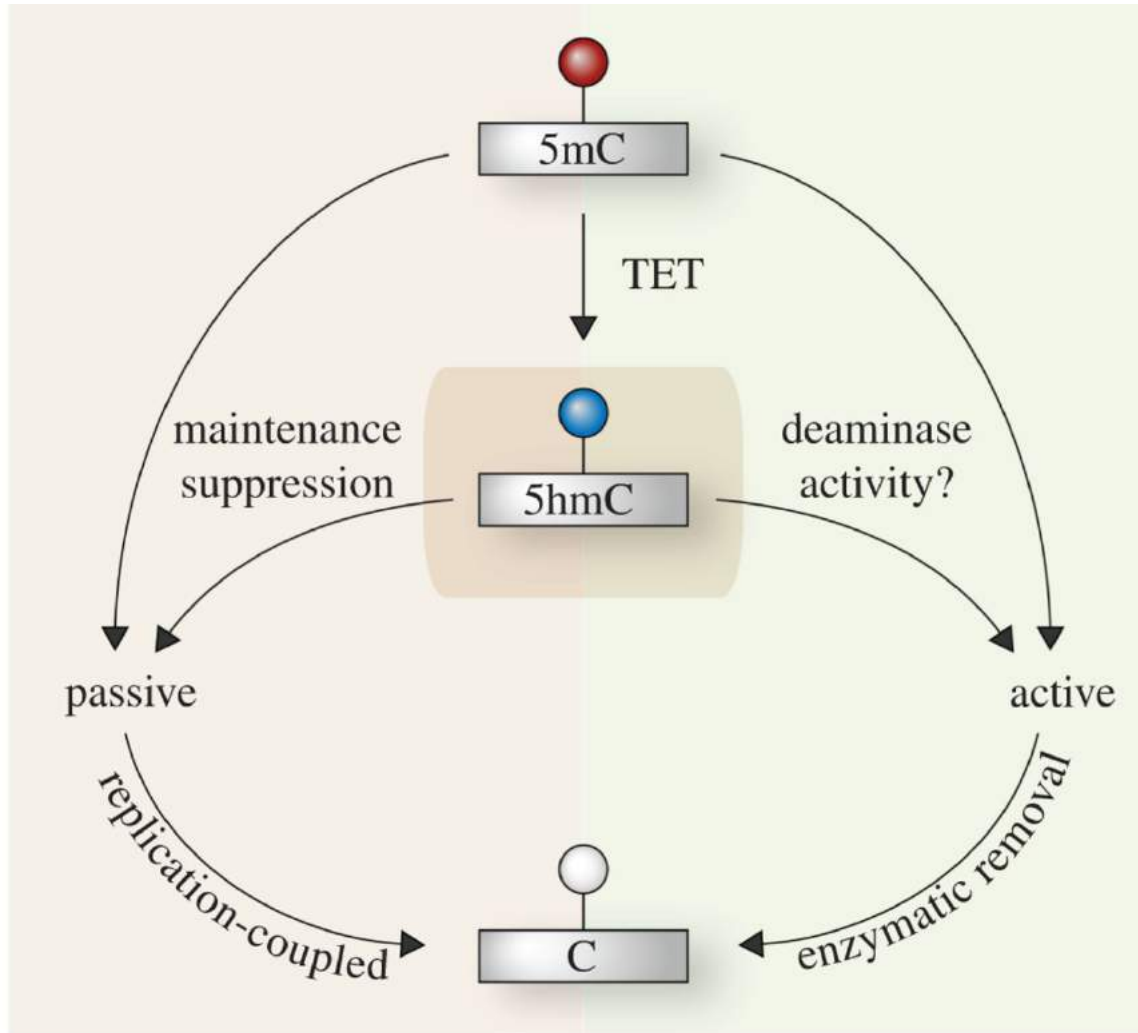


A metilációs mintázat változása a fejlődés során



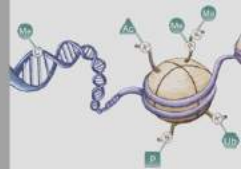


Az aktív demetiláció egy lehetséges mechanizmusa

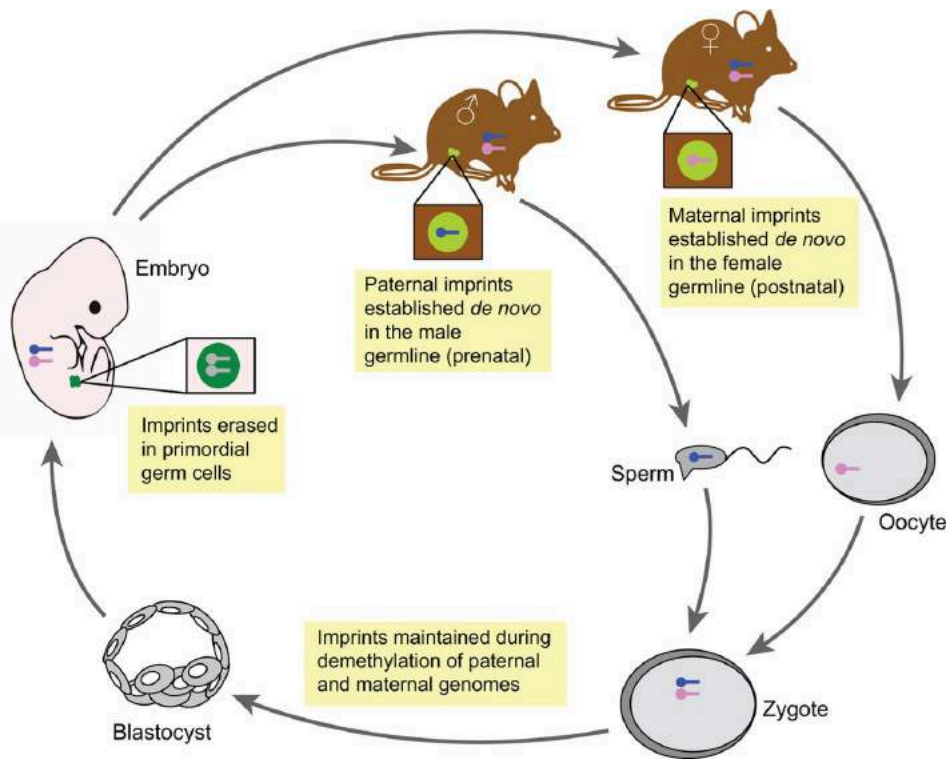


TET = Ten-Eleven Translocation Enzyme

- az 5mC-5hmC átalakulás az apai genom (passzív) demetilációjának kezdeti lépése is lehet a fejlődés elején
- aktív (TET-függő) demetiláció játszódik le a PGC-kben is



A szülői imprinting és szerepe a fejlődésben

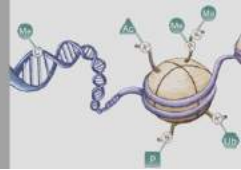


Gene	Direction of imprint	Function of gene product	Role in behavior
<i>Peg3</i>	Paternal	Zinc finger protein; control of apoptosis	Sex-specific behavior
<i>Ndn</i>	Paternal	Regulator of neuronal growth and differentiation	Spatial learning; socialization
<i>Grb10</i>	Paternal (neuron specific)	Signal adaptor	Aggression
<i>Ube3a</i>	Maternal (neuron specific)	Ubiquitin ligase, transcriptional co-activator	Memory, learning, motor function
<i>Nesp</i>	Maternal	Secretory pathway	Exploratory behavior

Gene	Direction of imprint	Function of gene product	Role in placenta
<i>Peg3</i>	Paternal	Zinc finger protein; control of apoptosis	Growth
<i>Peg1</i>	Paternal	Hydrolase	Growth
<i>Ascl2</i>	Paternal	Helix-loop-helix transcription factor	Songiotrophoblast development
<i>Igf2 P0</i>	Paternal	Growth factor	Nutrient transfer
<i>Phlda2</i>	Maternal	Pleckstrin homology domain protein	Songiotrophoblast restriction
<i>Cdkn1c</i>	Maternal	Cell cycle regulator	Songiotrophoblast restriction
<i>Slc22a3</i>	Maternal	Cation transporter	Monoamine transfer

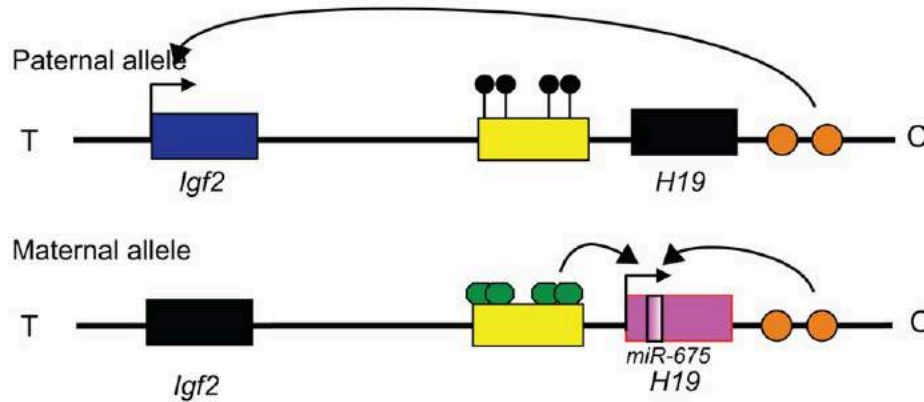
General positive regulator of embryo growth
Igf2 (paternal)

General negative regulators of embryo growth
H19 (maternal)
Igf2r (maternal)
Grb10 (maternal)



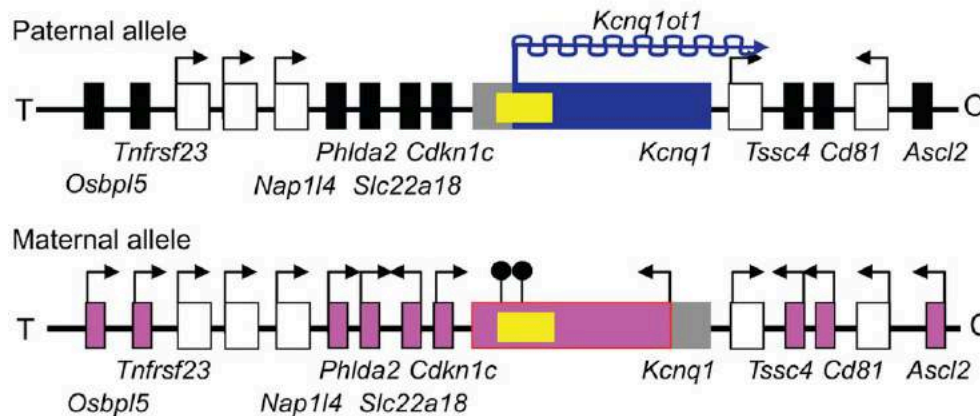
A szülői imprinting mechanizmusa

A Insulator model of imprinting: the *H19/Igf2* locus

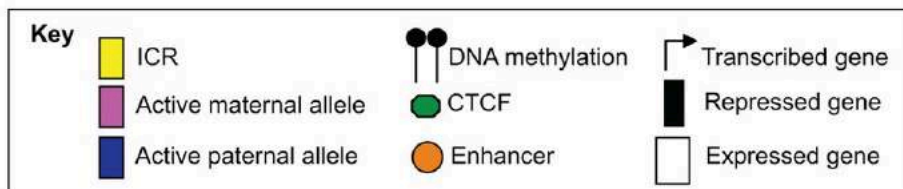


ICR = Imprinting Control Region

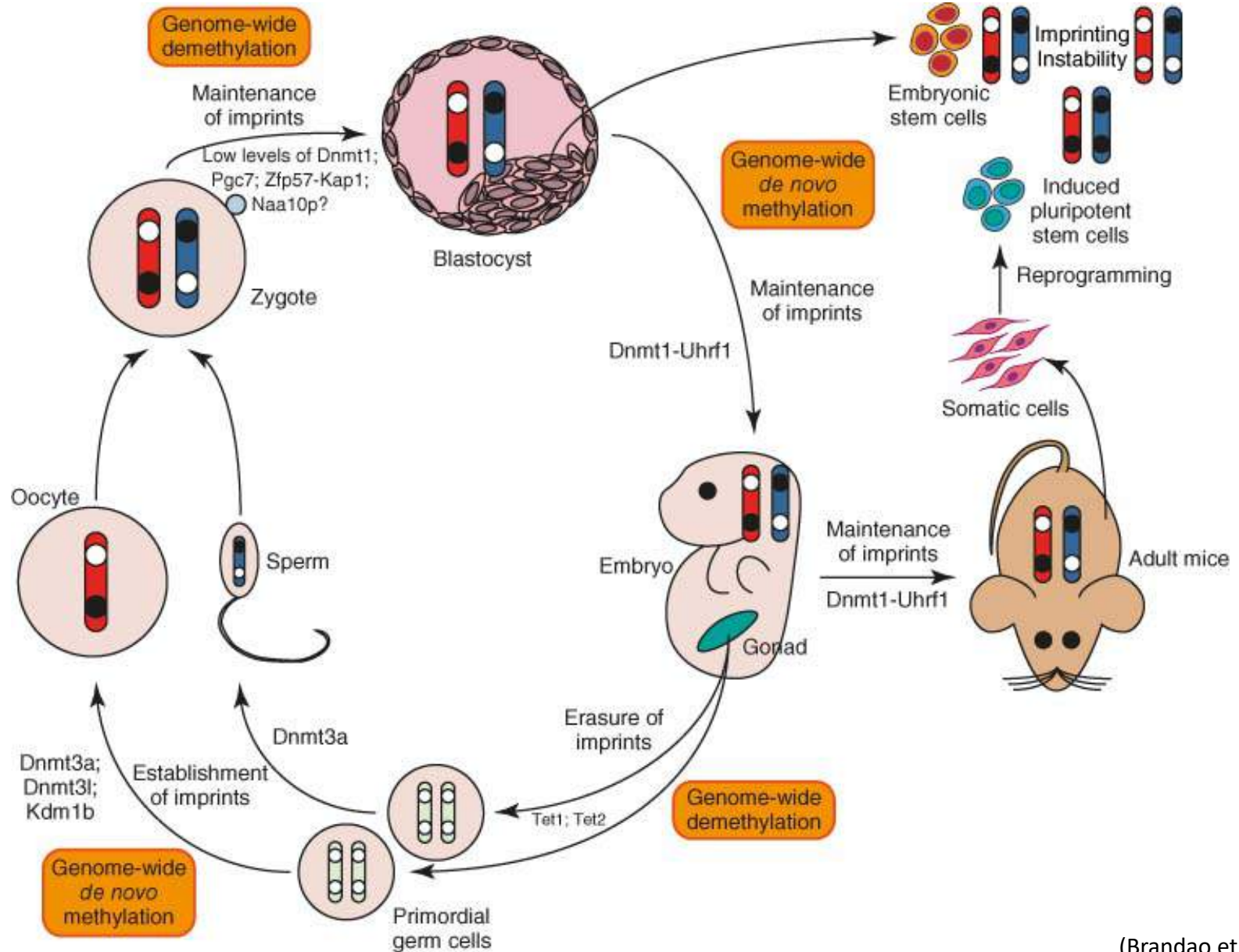
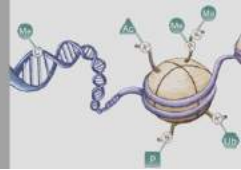
B ncRNA model of imprinting: the *Kcnq1* locus

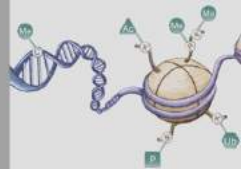


Kcnq1ot1 – *Kcnq1* overlapping transcript 1
(PRC2-vel kapcsolódik)

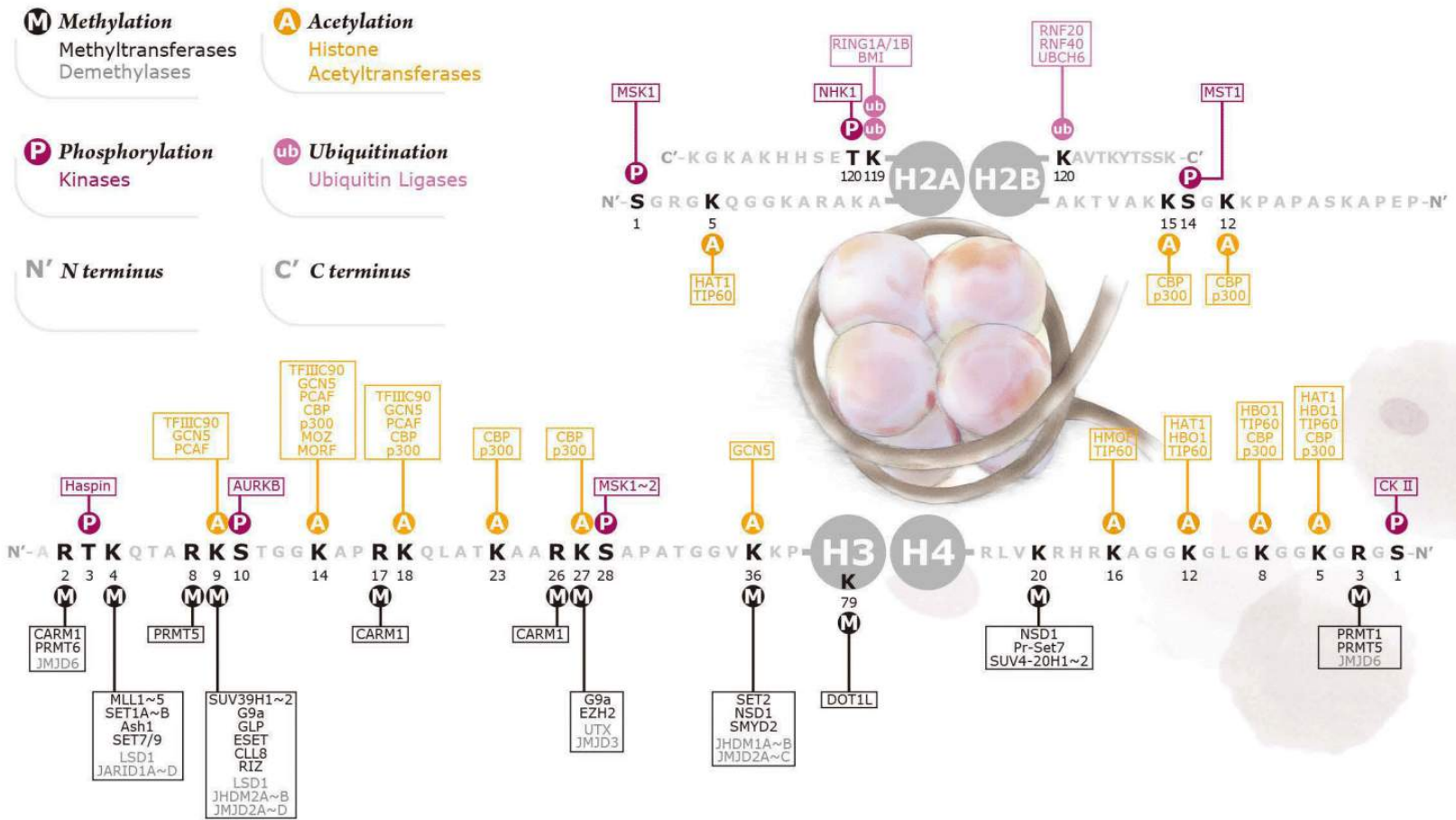


Hogy maradhat fent a szülői imprinting az epigenetikai átprogramozás során?



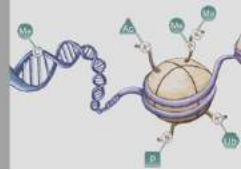


Epigenetikus hisztonmódosítások

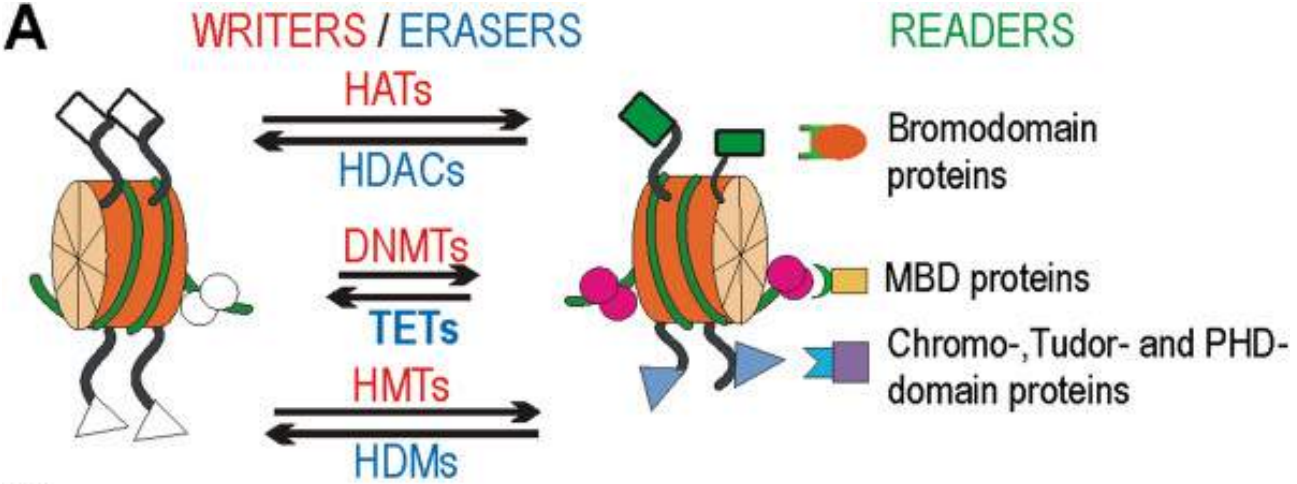


Inaktív állapot: acetiláció (Ac) - lysine (K) 12 (hiszton 4 - H4) és metiláció (Me) K9, K27 (H3)

Aktív állapot: acetiláció - K9, K14 (H3), K5 (H4), metiláció - K4 (H3), Arginin (R) 3 (H4)



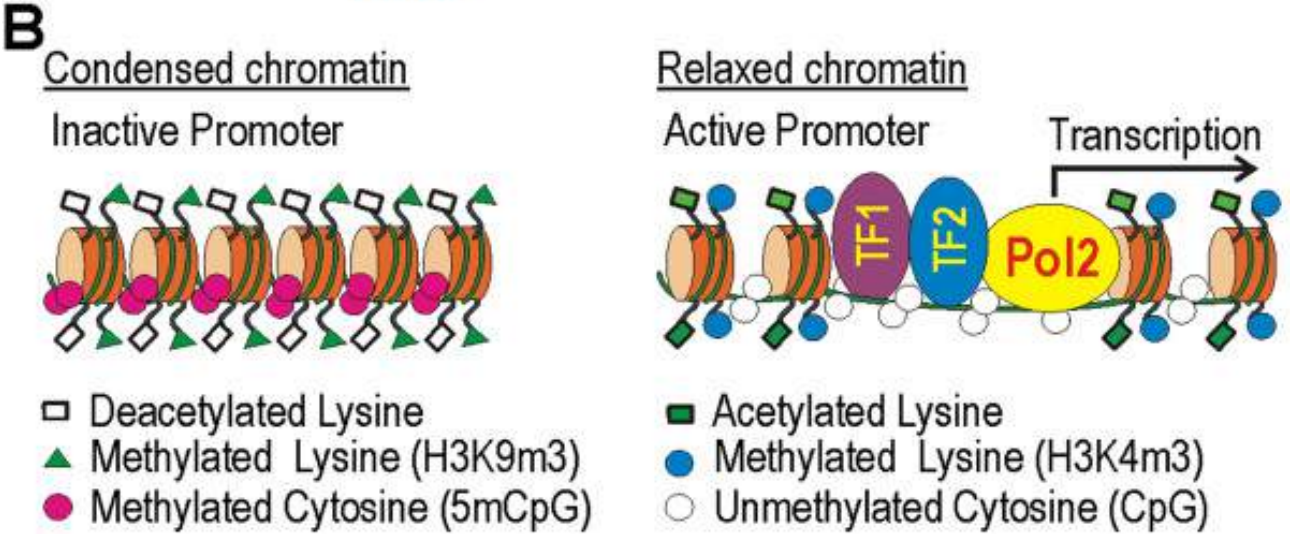
Epigenetikus hisztonmódosítások



HATs = histone acetyl transferases

HDACs = histone deacetylases

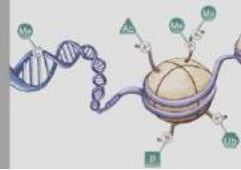
DNMTs = DNA methyltransferases



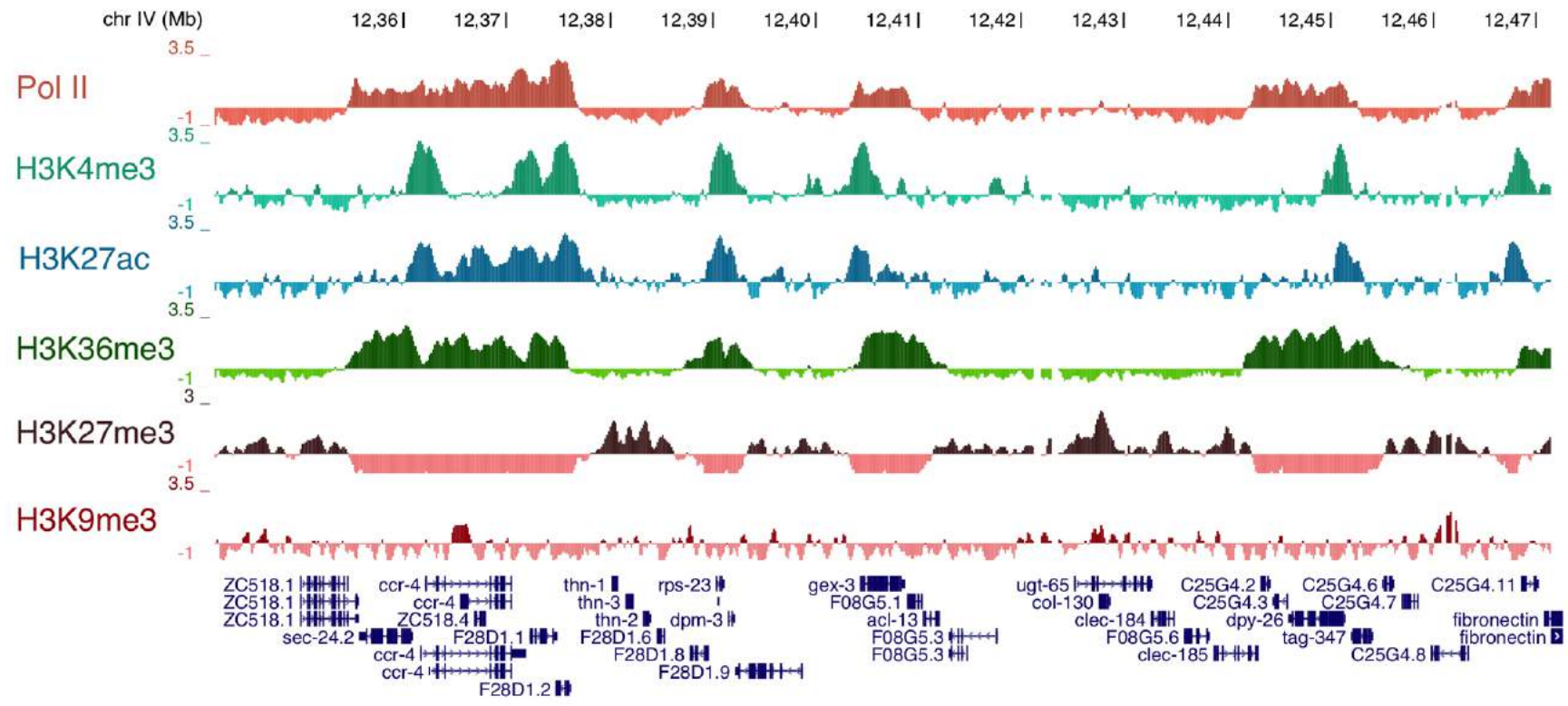
TETs = ten-eleven translocation enzymes

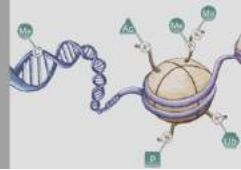
HMTs = histone methyl transferases

HDMs = histone demethylases



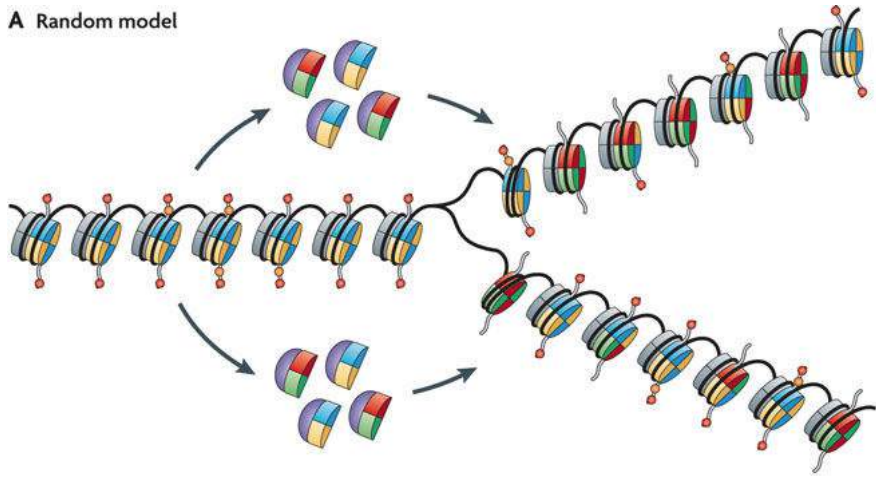
Epigenetikus hisztonmódosítások és a génműködés



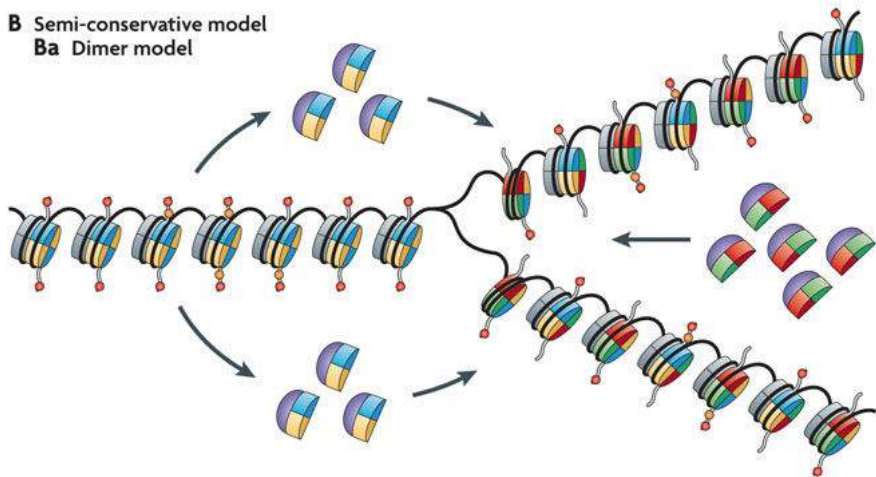


Epigenetikus hisztonmódosítások öröklődése

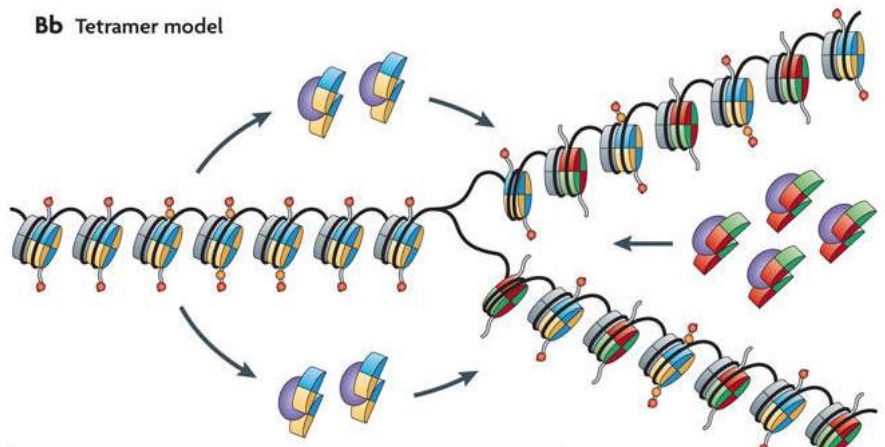
A Random model



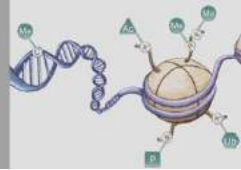
B Semi-conservative model
Ba Dimer model



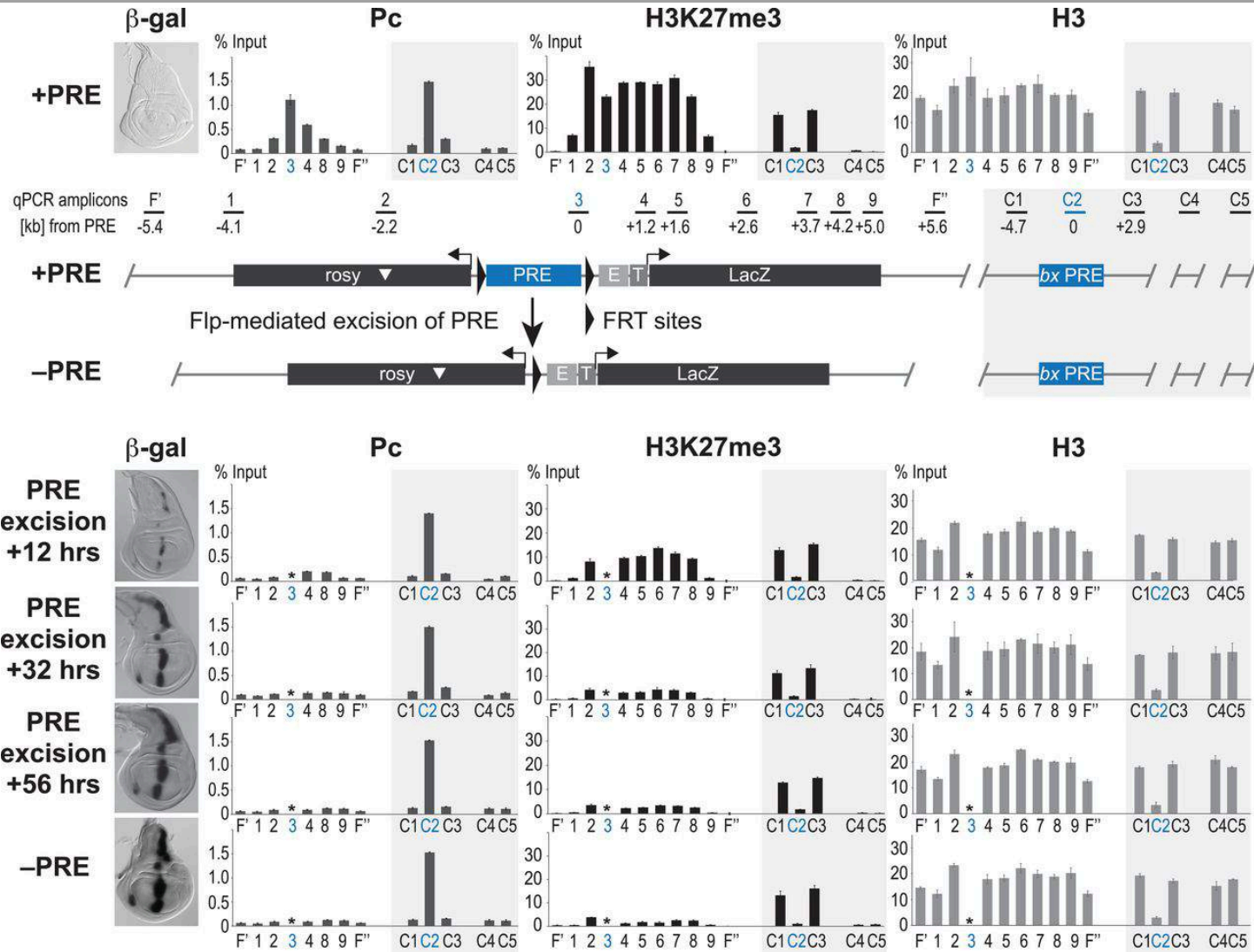
Bb Tetramer model



Pre-existing H3	Histone PTM A	Histone chaperone
Pre-existing H4	Histone PTM B	
Newly deposited H3	Newly deposited H4	

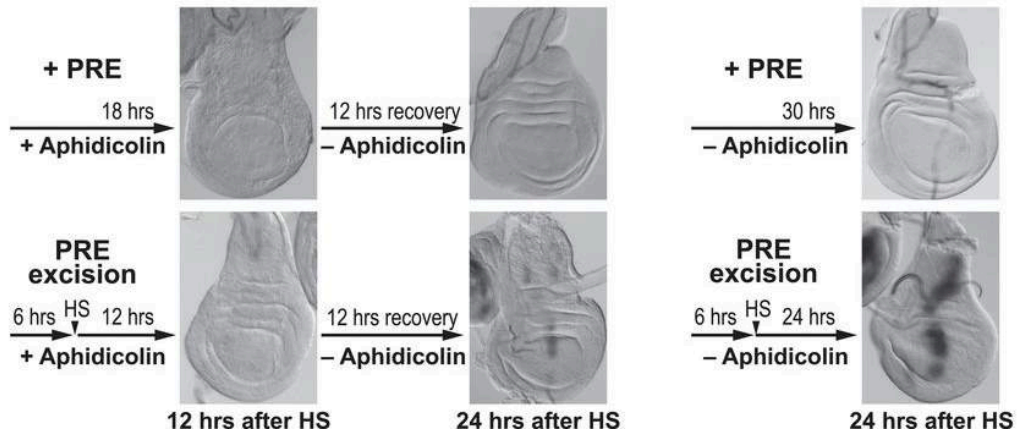
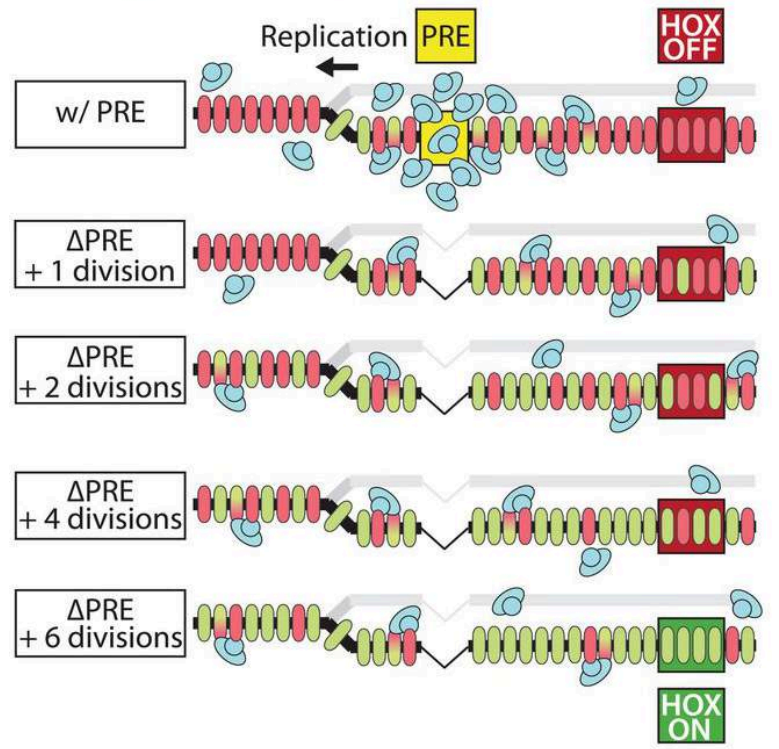
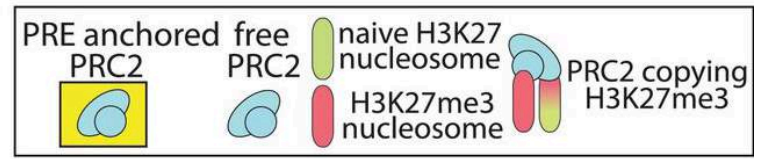
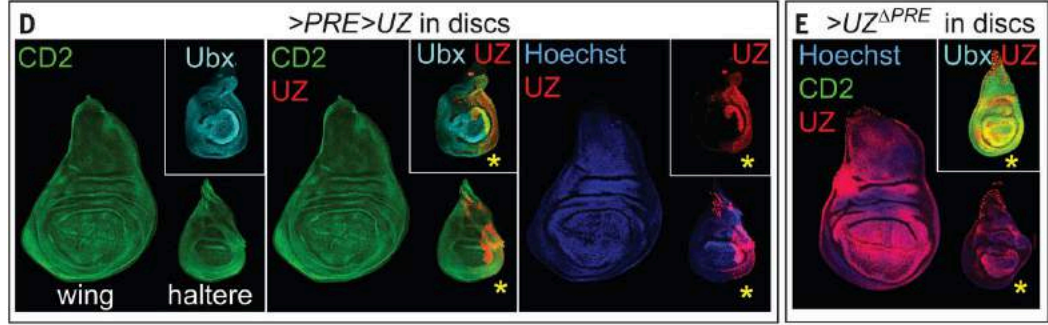
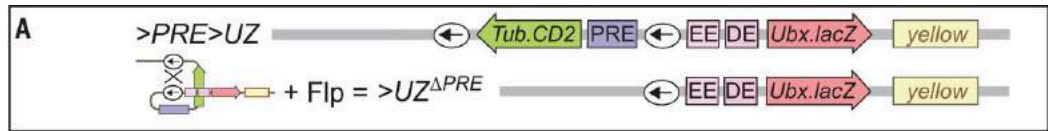
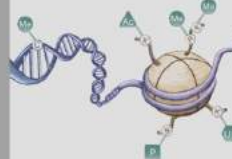


Epigenetikus hisztonmódosítások öröklődése: a PcG fehérjék szerepe

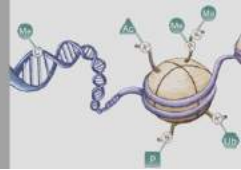


PRE – Polycomb response element (PcG fehérjék megkötésével inaktív kromatint hoz létre a környéken)

Epigenetikus hisztinmódosítások öröklődése: a PcG fehréjék szerepe

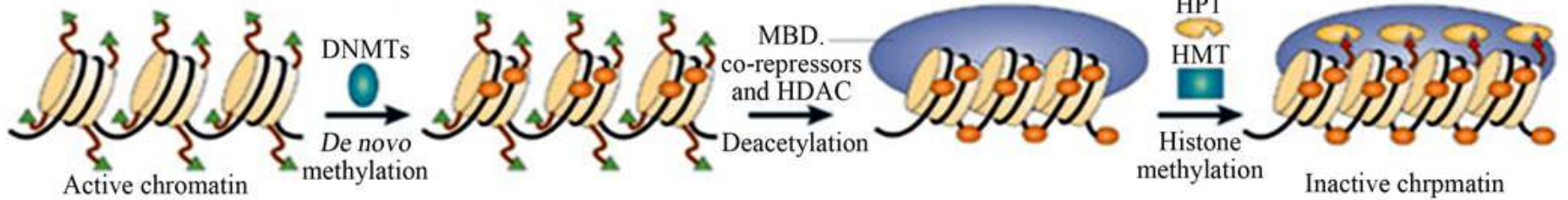


- a represszív hisztin-módosítások a sejtosztódások során vesznek el

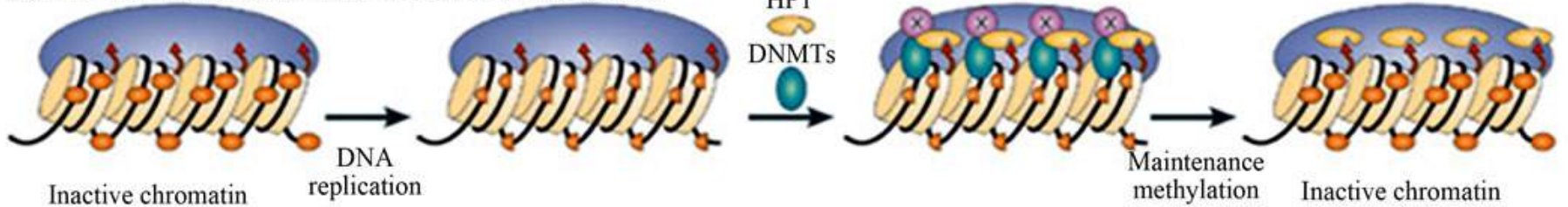


A represszív epigenetikus módosítások egymás katalizátoraiként működhetnek

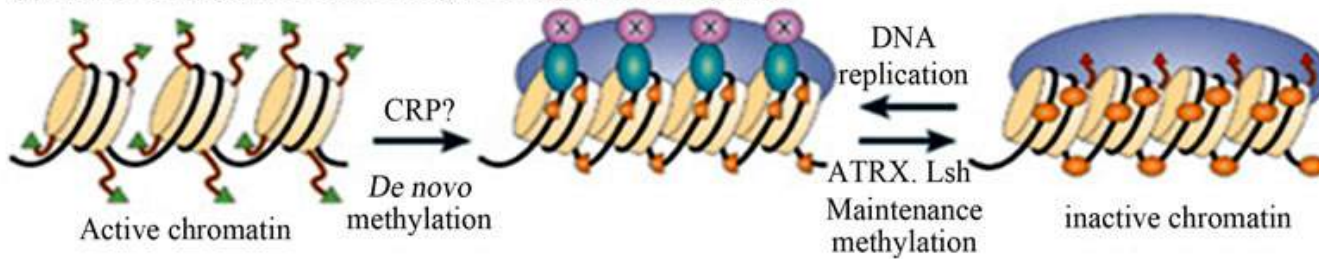
(a) Model of DNA methylation directing histone methylation



(b) Model of histone methylation directing DNA methylation

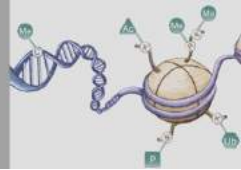


(c) Model of chromatin remodelling directing DNA methylation

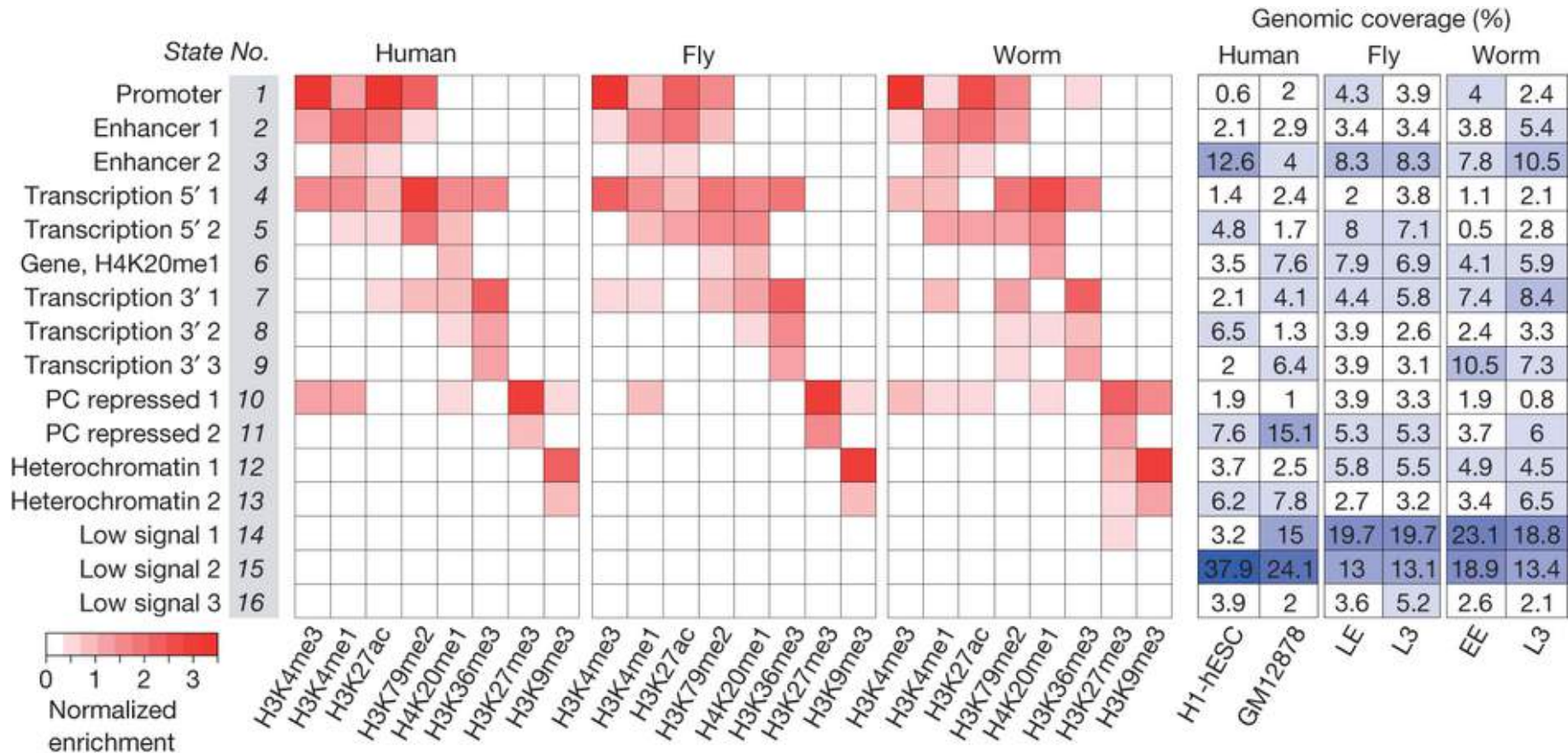


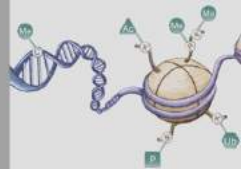
	Acetylation
	Methylated DNA
	Hemi-methylated DNA
	Methylated H3-K9
	HP1
	DNA methyltransferase (DNMT)
	Histone methyltransferase (HMT)

Nature Reviews | **Genetics**

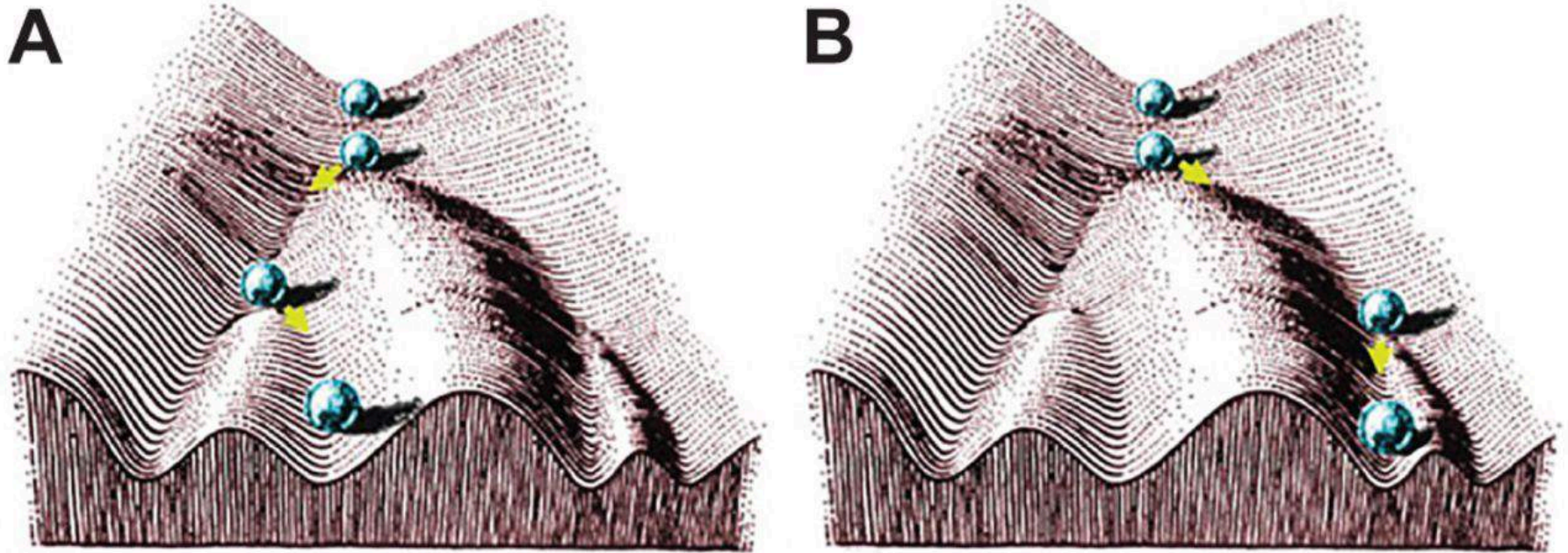


A promóter módosítások elég hasonlóak a különböző Metazoa organizmusokban

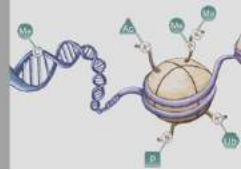




Conrad Waddington epigenetikai tájképe

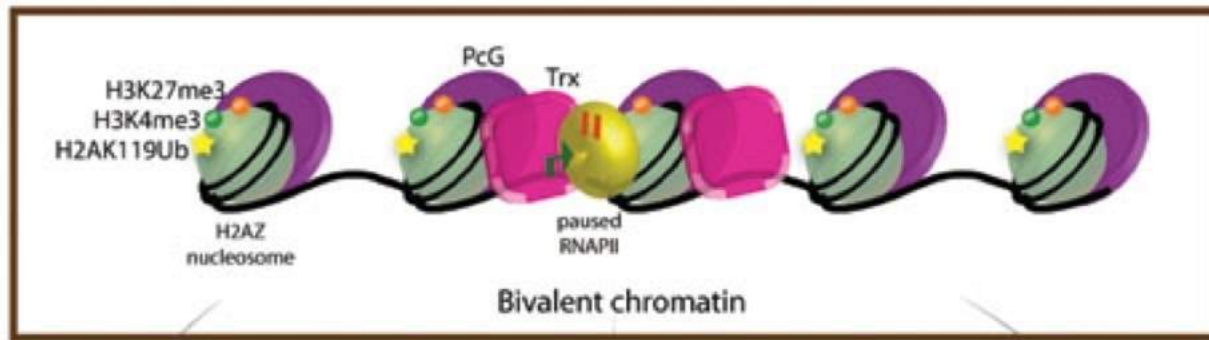


- Különböző szövetek sejtjei különböző géneket fejeznek ki, pedig ugyanazt a genomot tartalmazzák.
- Az epigenetikának kulcsszerepe van abban, hogy milyen gének nyilvánulnak meg egy adott pillanatban bizonyos sejtekben.

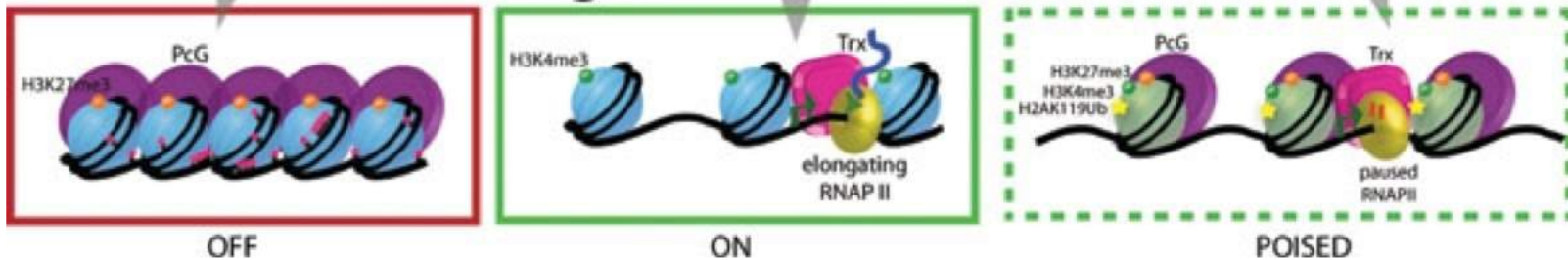


Bivalens epigenetikus módosítások

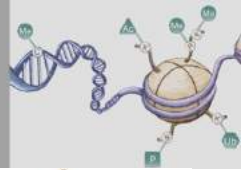
ES cells



Lineage-committed cells

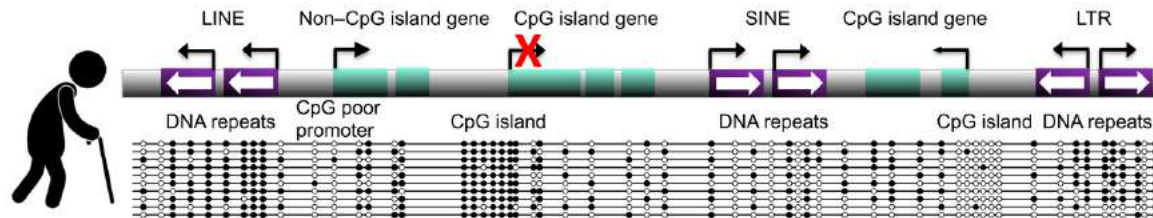
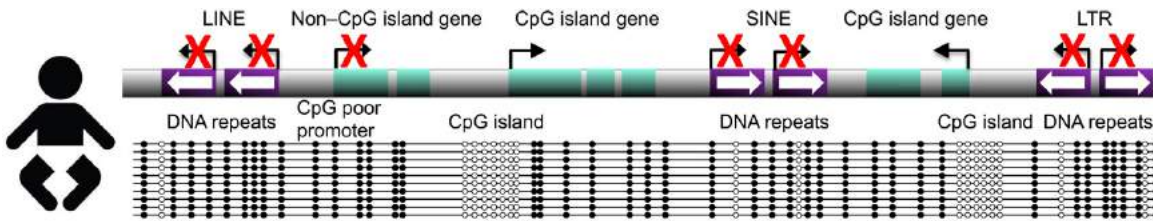
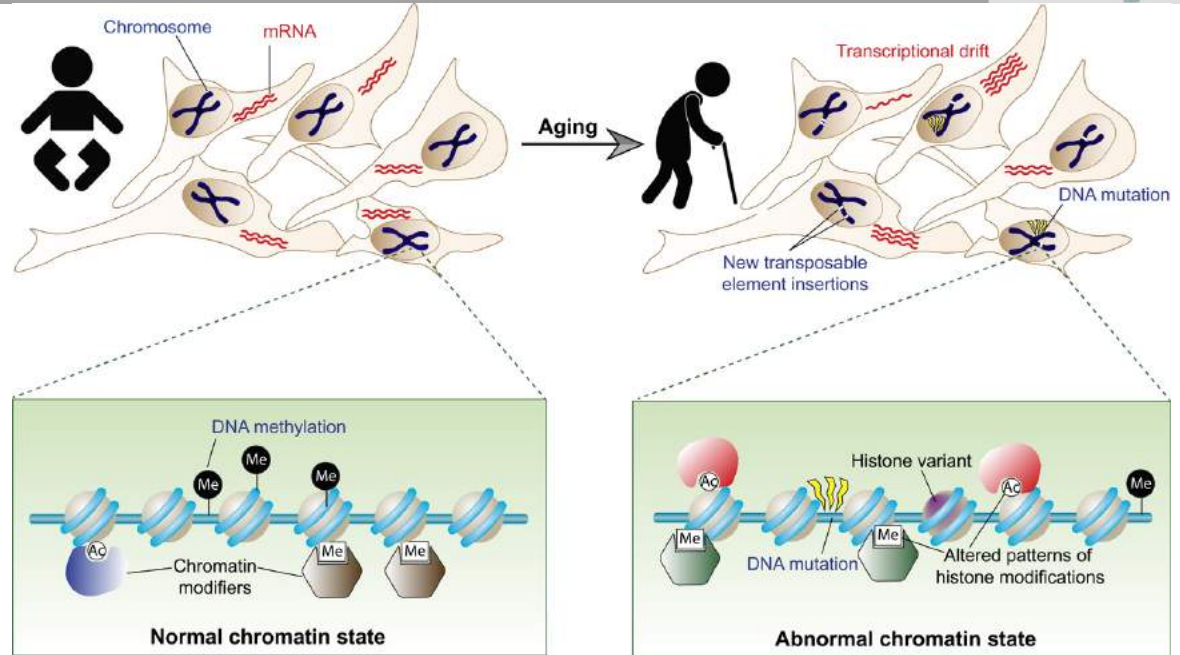


- főleg fejlődési géneknél jelentkeznek
- a bivalens státusz a fejlődés előrehaladtával feloldódik



Az öregedés epigenetikája

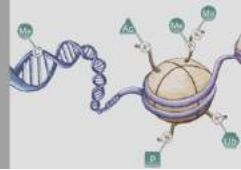
- általában a heterochromatin fellazul az öregedés során és kevesebb represszív epigenetikai módosítást találunk



Key:
 ○ Unmethylated CpG ● Methylated CpG ■ Transposable elements

- Bár a legtöbb hely hipometilált lesz, olyanokat is találunk, amelyek hipermetiláltak (ezek a gének kikapcsolódnak)
- A transzpozonok aktiválódnak, aminek többnyire káros hatásai vannak.

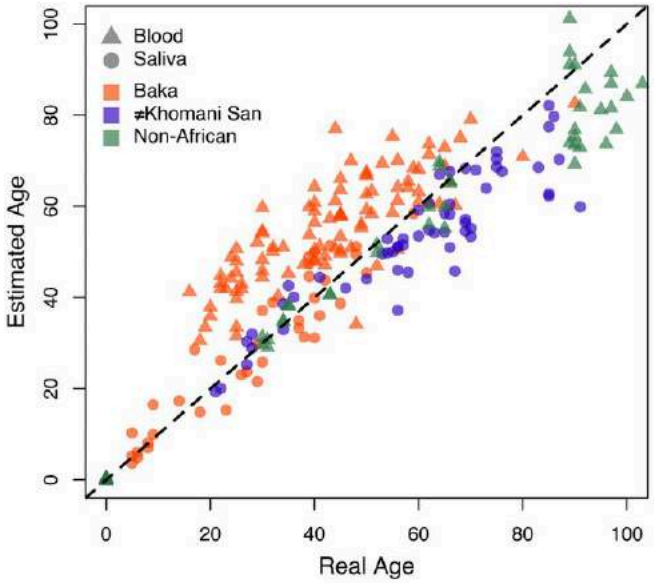
(Pal and Tyler, 2016 *Science Adv*)



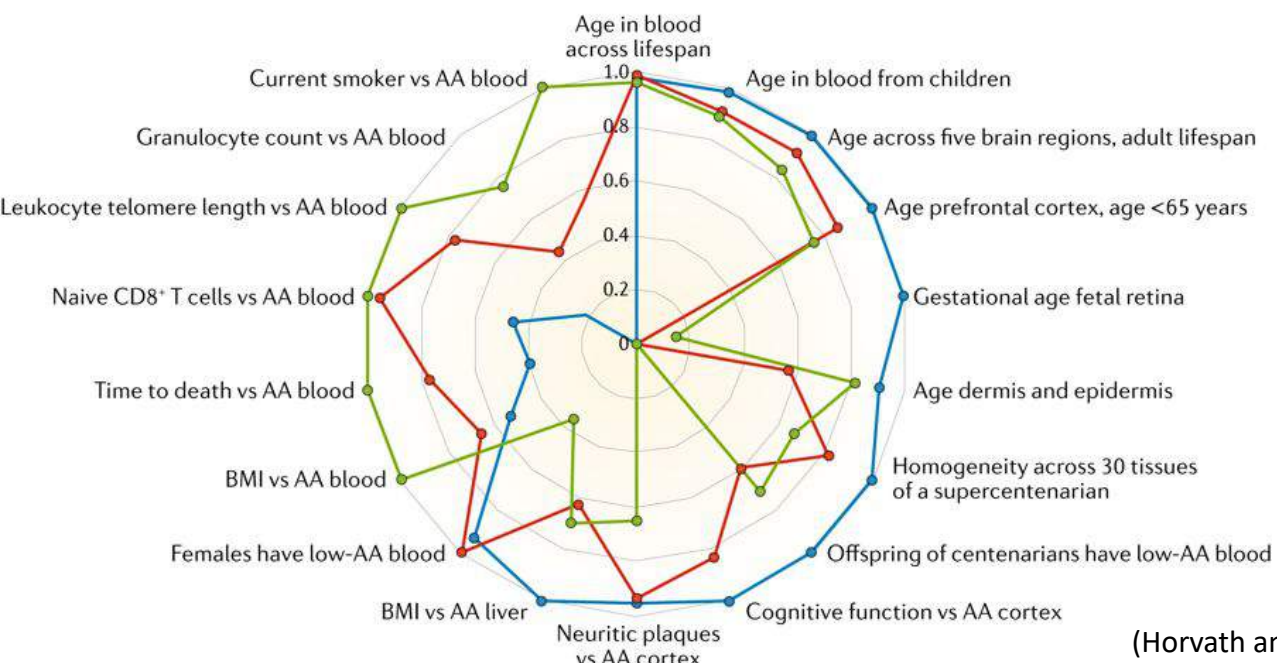
Epigenetikai órák

(Gopalan et al., 2017 *Genetics*)

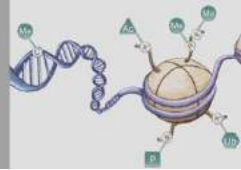
- a hipo- és hipermetilált helyek megfelelő kombinációjának vizsgálatával elég pontosan meghatározható egyes szövetek kora



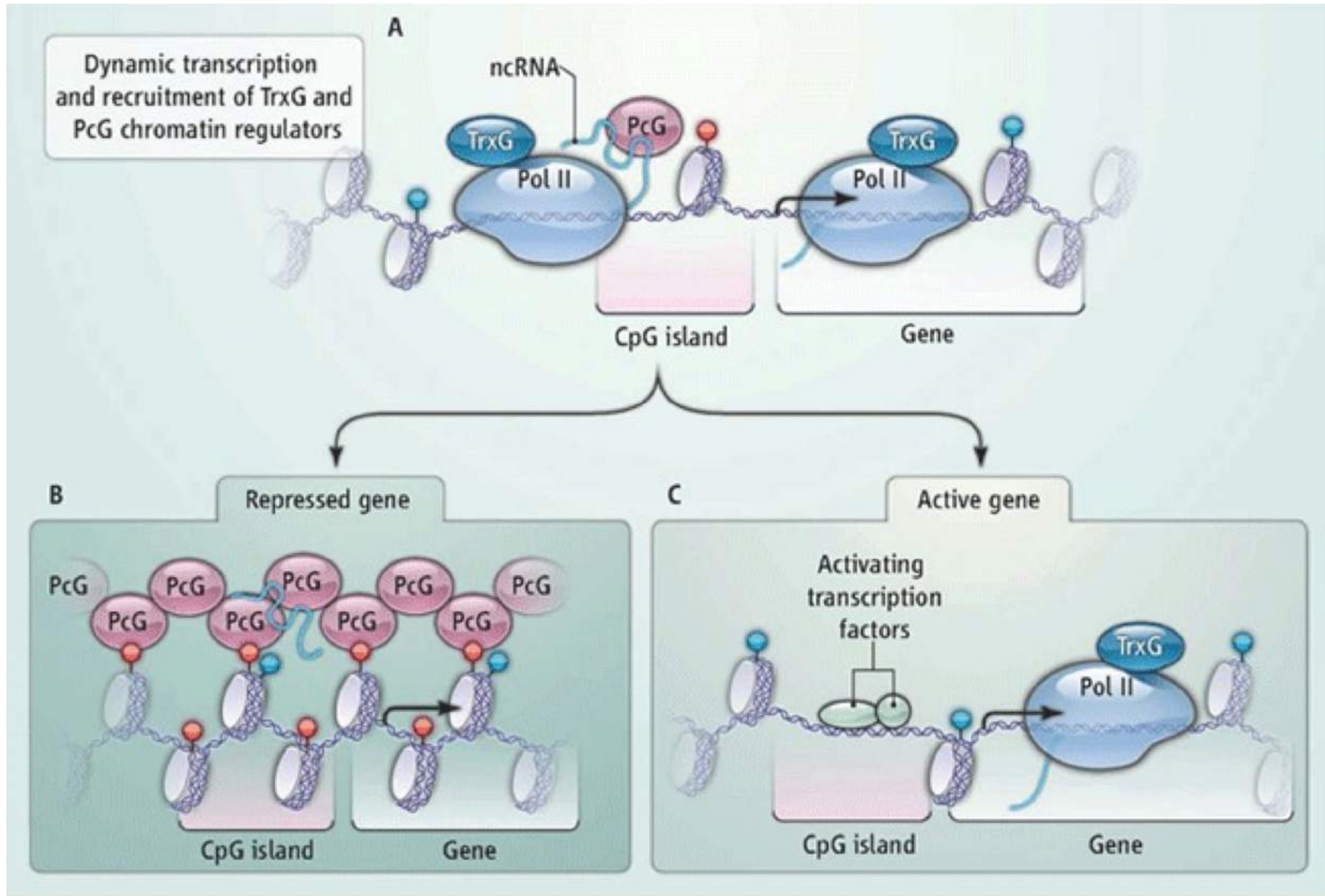
● Horvath's clock — 353 CpGs Multi-tissue DNAm age estimator
● Hannum's clock — 71 CpGs Single-tissue DNAm age estimator
● Levine's clock — 513 CpGs DNAm PhenoAge



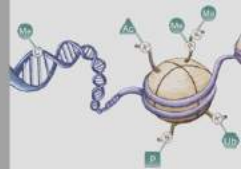
(Horvath and Raj, 2018 *Nat Rev Gen*)



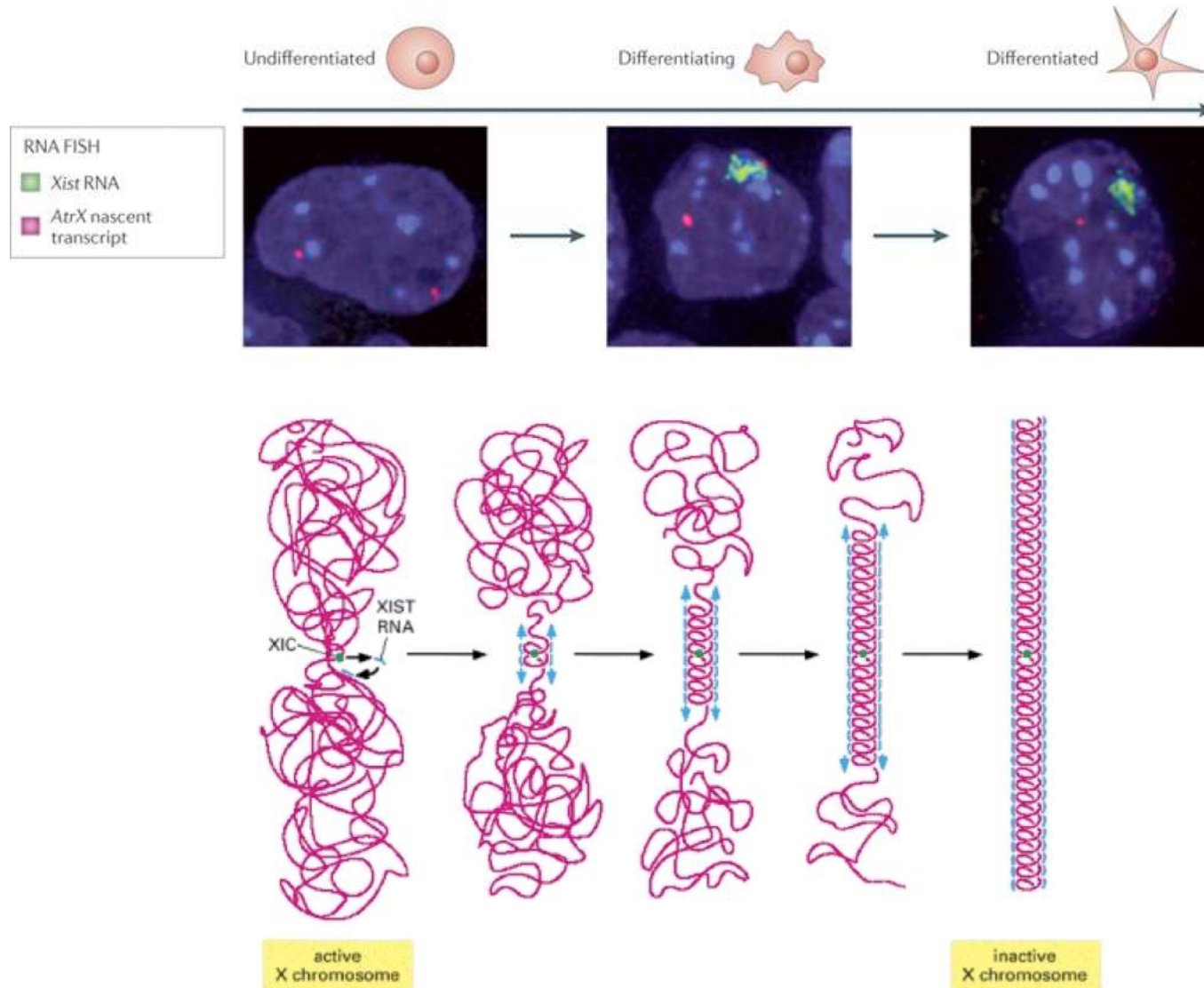
A transzkripció lehet represszív hatású is

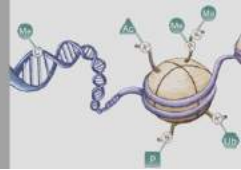


(PcG = Polycomb Group Protein; TrxG = Trithorax Group Protein)

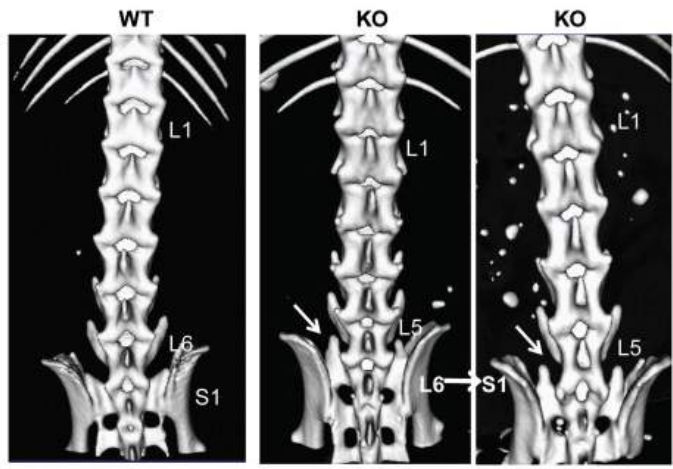
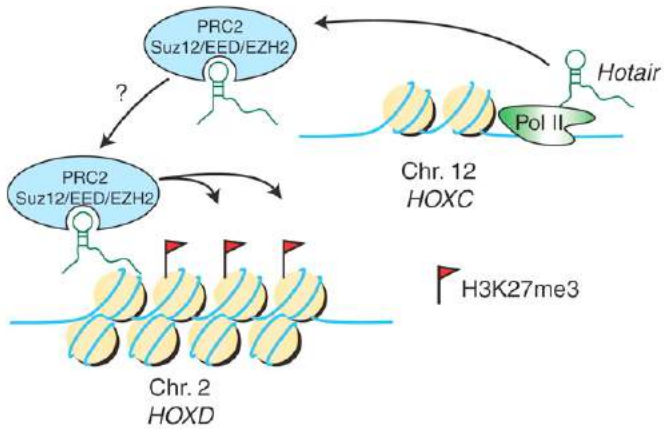


X kromoszóma inaktiváció: a represszív transzkripció klasszikus esete



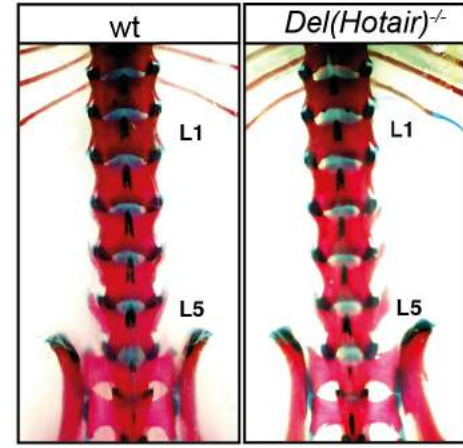


IncRNS-ek funkciója lehet a más kromoszómákon levő gének csendesítése (?)



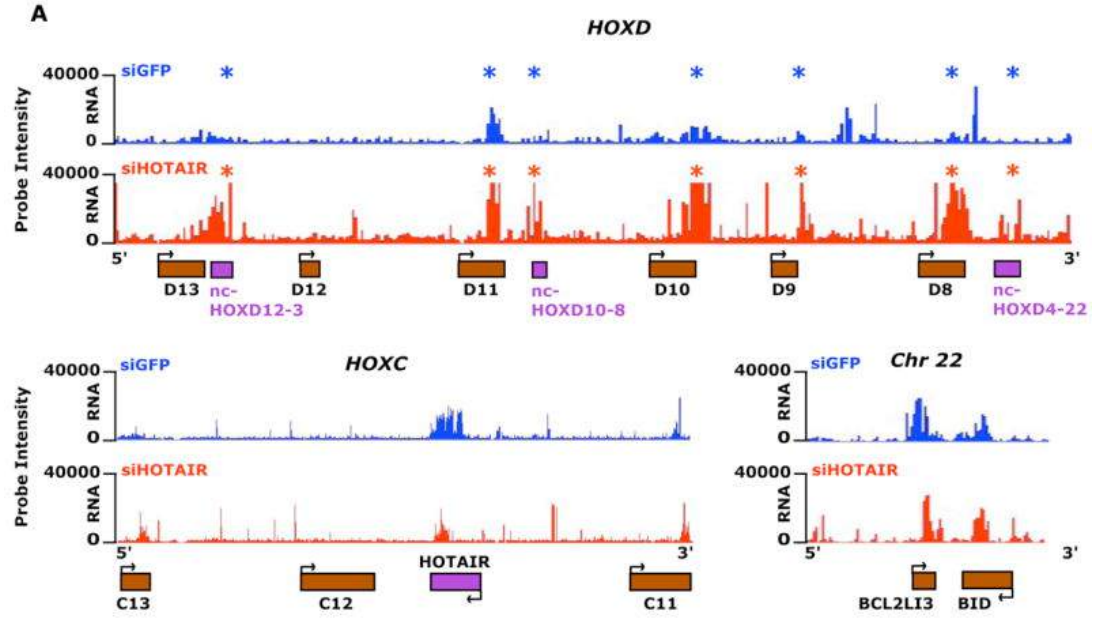
C57BL/6

(Li et al., 2013 *Cell Rep*)



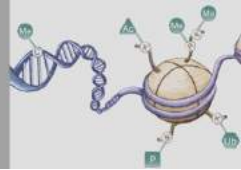
C57BL/6 x CBA

(Amandio et al., 2016 *PLOS Gen*)

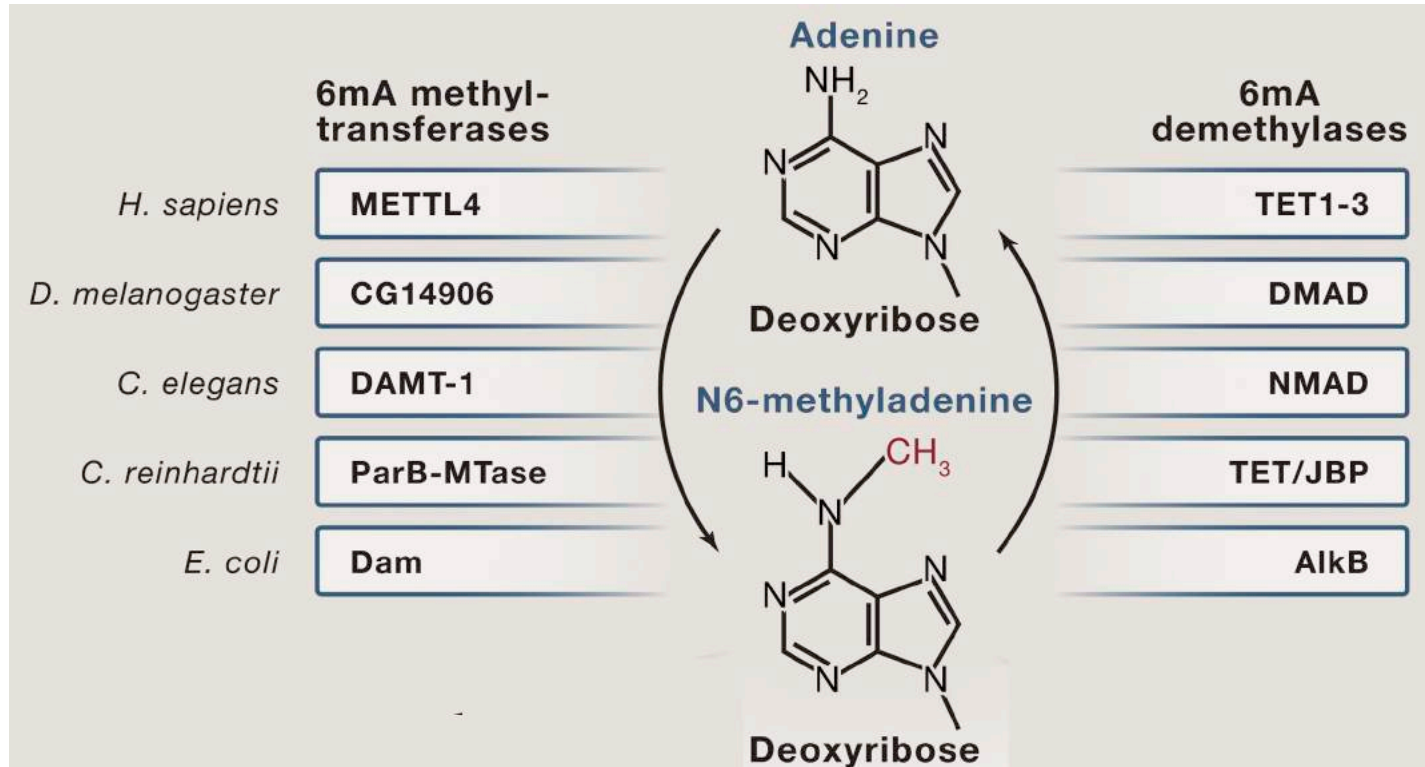


(Rinn et al., 2007 *Cell*)

De: Denis Duboule csoportja korábban a teljes HoxC klasztert (benne a *HOTAIR*-t is) kiütötte és nem volt fenotípusos hatás. Hogy lehet ez?

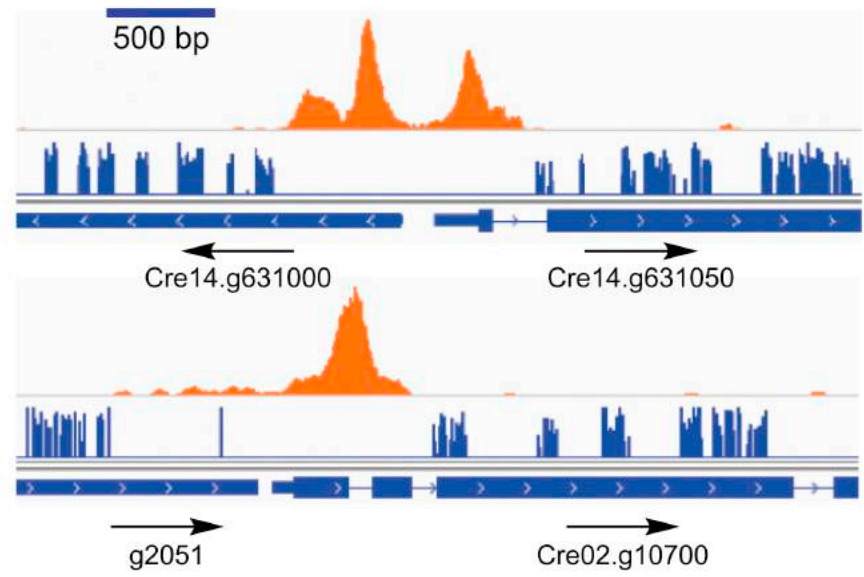
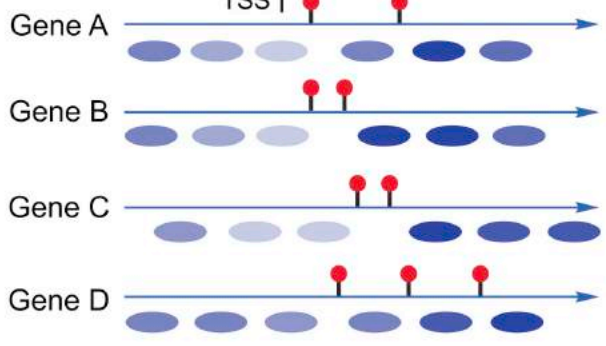
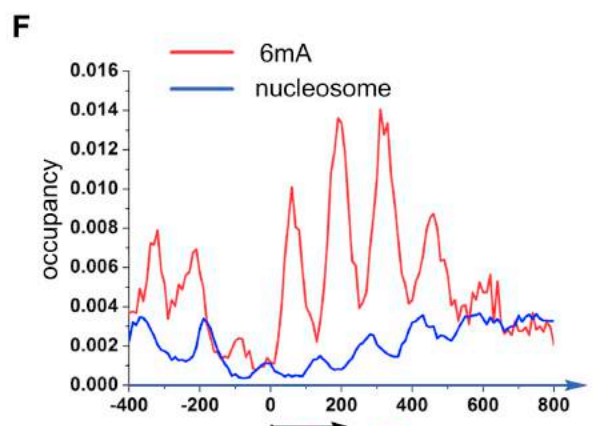
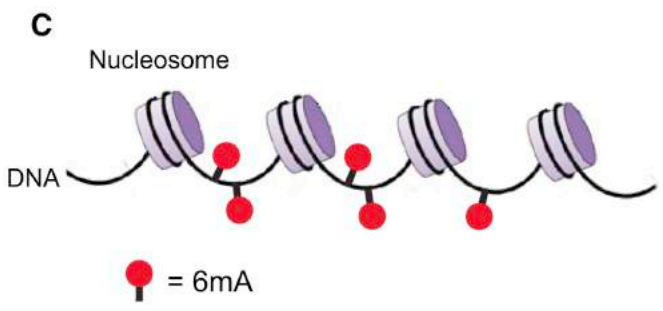
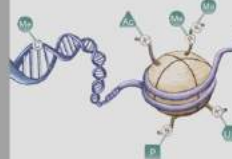


N6-adenin metiláció (m6A): van, de mennyire jelentős?

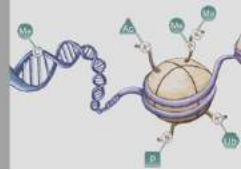


Prokariótákban a m6A metiláció a fontos (m5C nem ismert), a közelmúltban azonban eukariótákban is leírták.

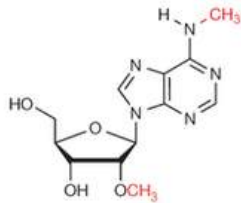
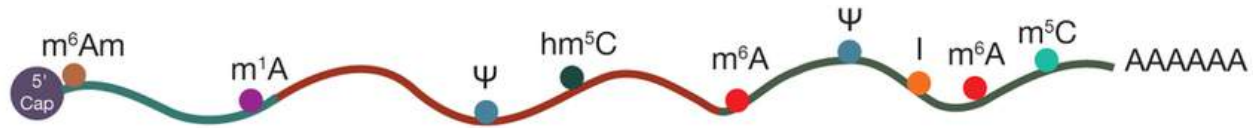
m6A DNS-metiláció szerepe a *Chlamydomonas* génszabályozásában



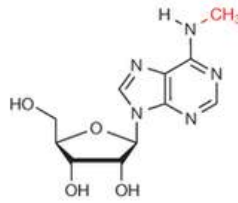
- *Chlamydomonas*-ban a DNS linker régiójában, a TSS környékén található (szemben az m5C-vel ami a gének belsejére jellemző)



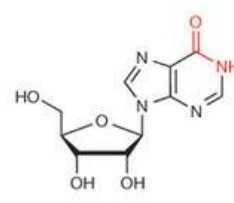
Epitranszkriptóma: az RNS posztranszkripció módosítása



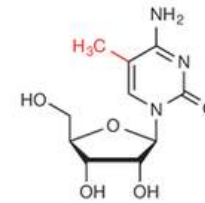
*N*⁶,2'-*O*-dimethyladenosine (m⁶Am)



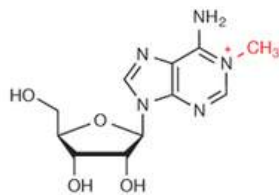
*N*⁶-methyladenosine (m⁶A)



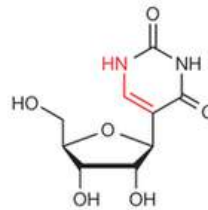
Inosine (I)



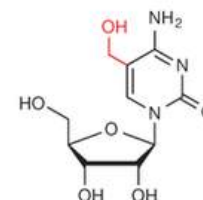
5-methylcytidine (m⁵C)



*N*¹-methyladenosine (m¹A)

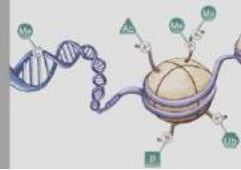


Pseudouridine (Ψ)

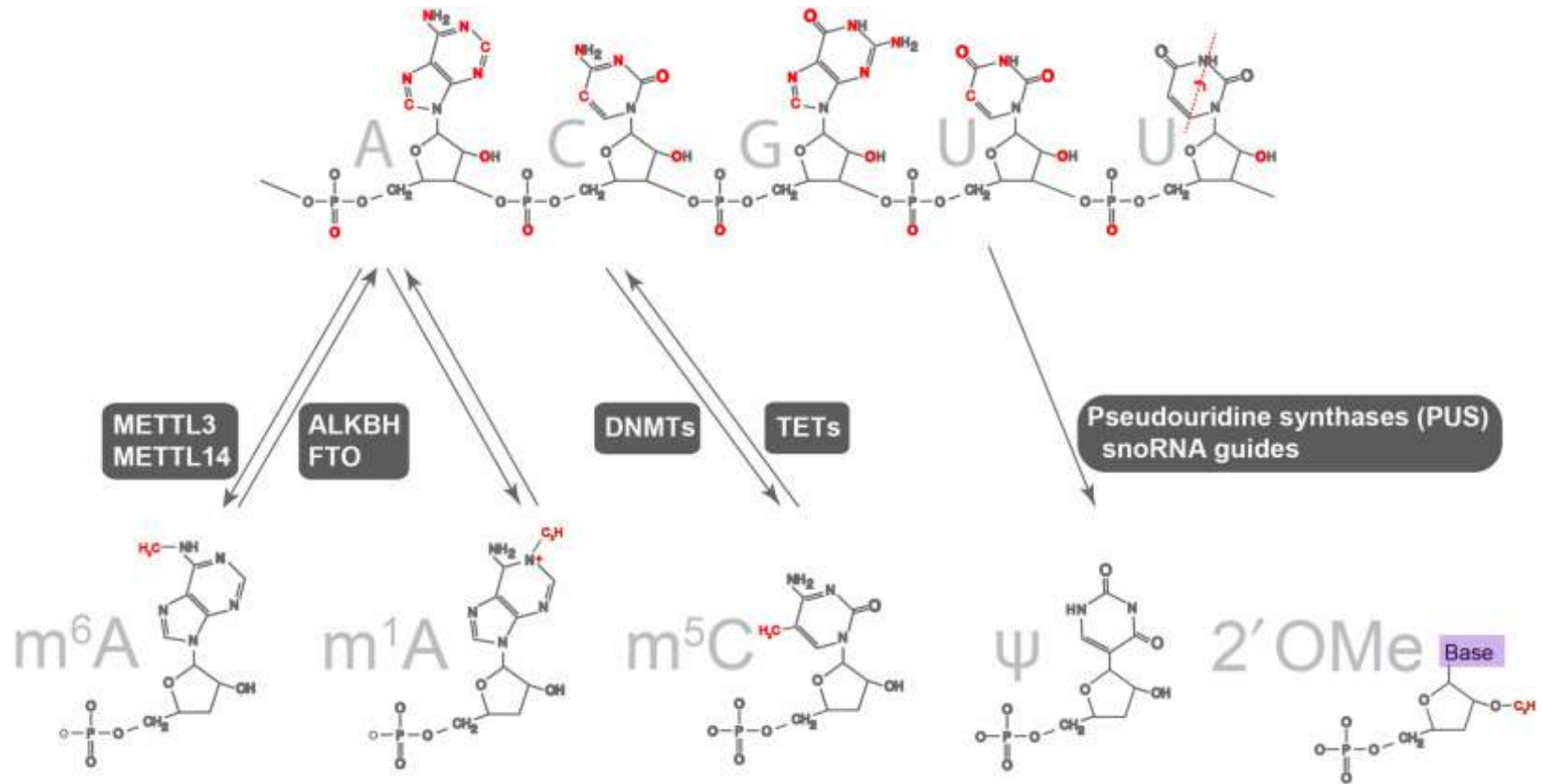


5-hydroxymethylcytidine (hm⁵C)

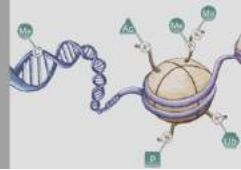
- a posztranszkripció módosításoknak az RNS stabilitására (is) lehet hatása



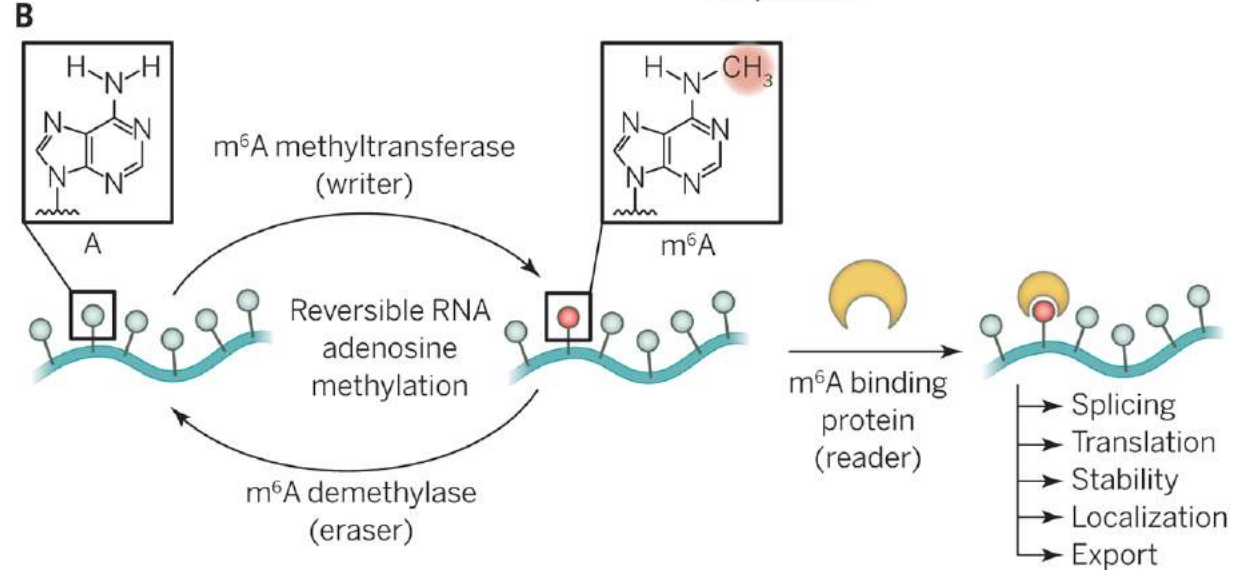
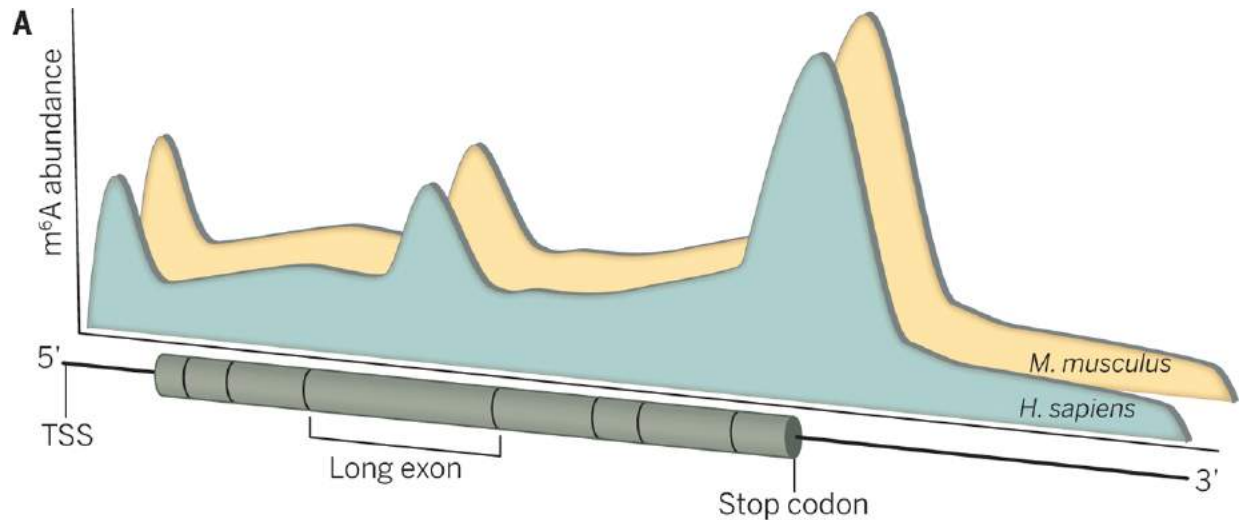
Az epitranszkriptóma módosításai dinamikusak

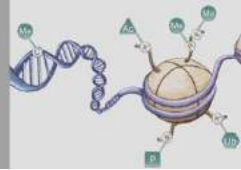


- Itt is megkülönböztetünk “író” (writer), “törlő” (eraser) és “olvasó” (reader) fehérjéket

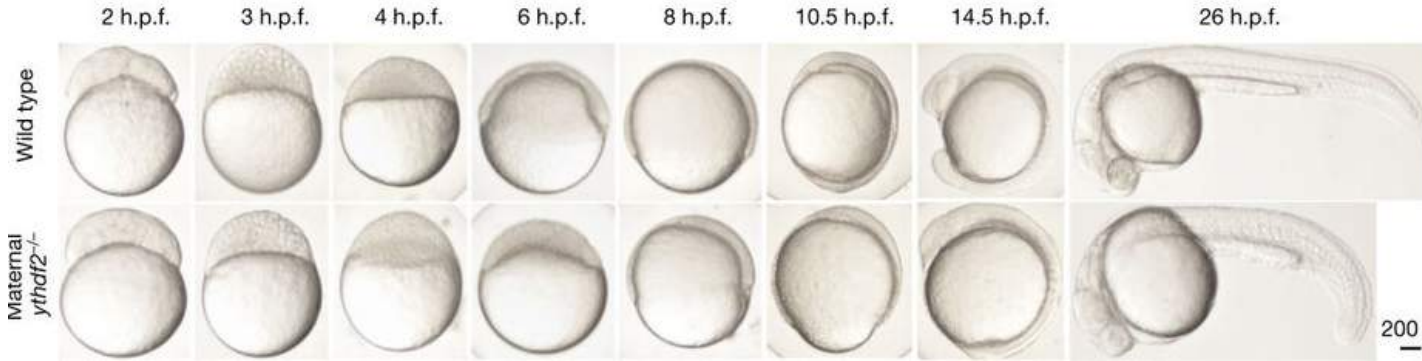


m6A módosítások eloszlása az elsődleges mRNS-en

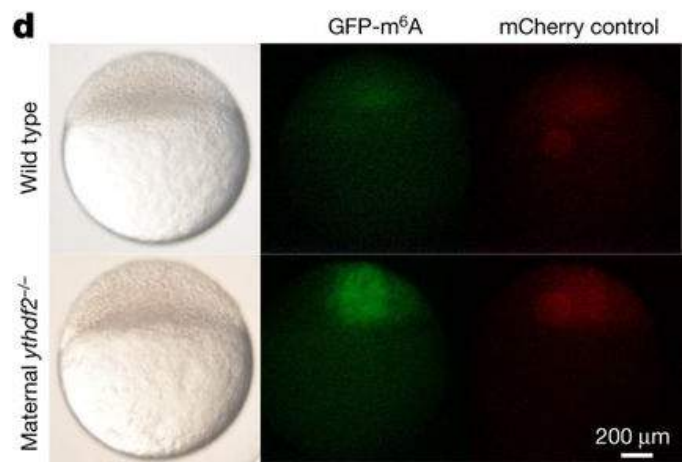
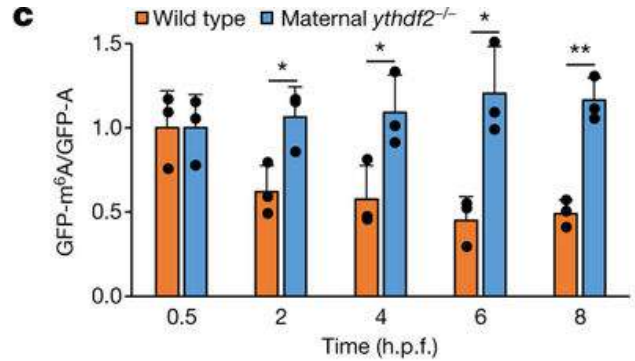
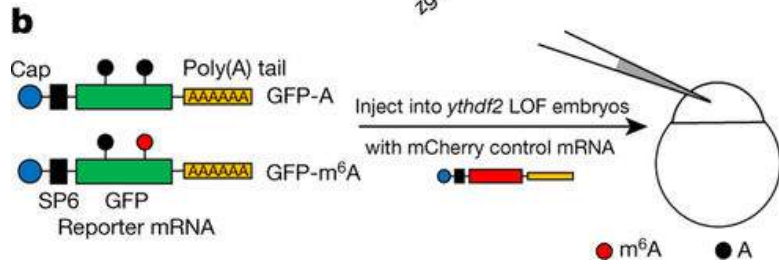
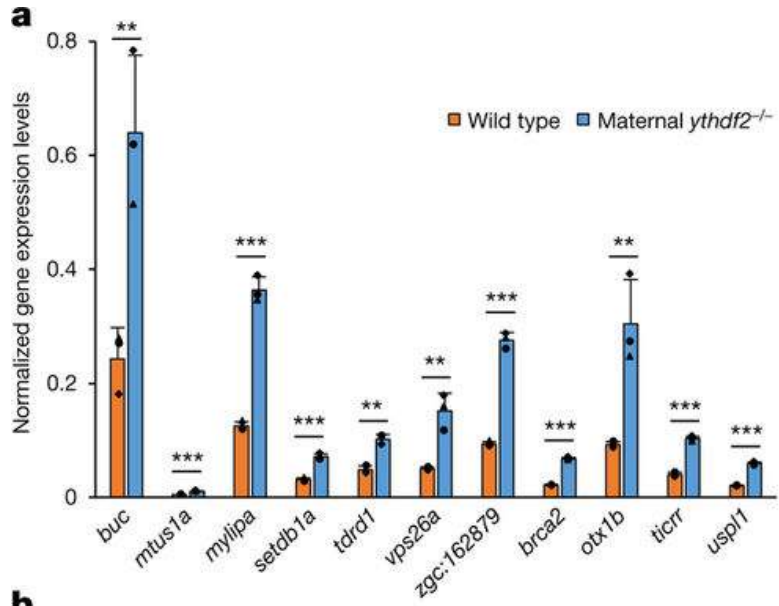


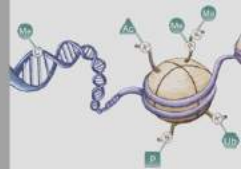


Zebrahal fejlődésben az m6A az anyai transzkriptumok stabilitását befolyásolja

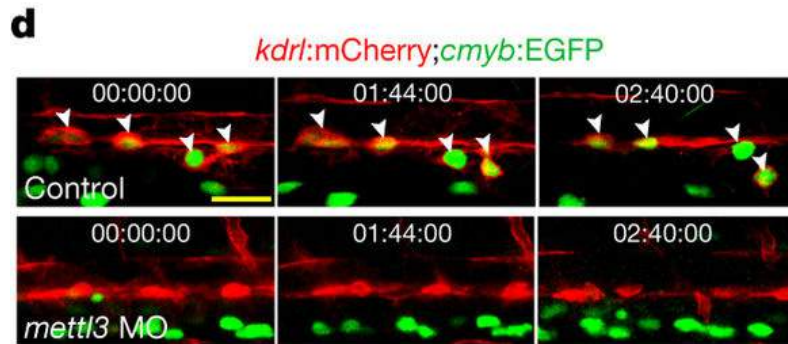
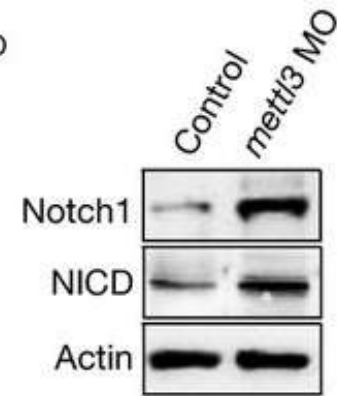
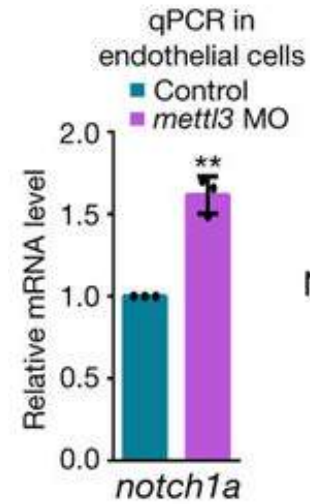
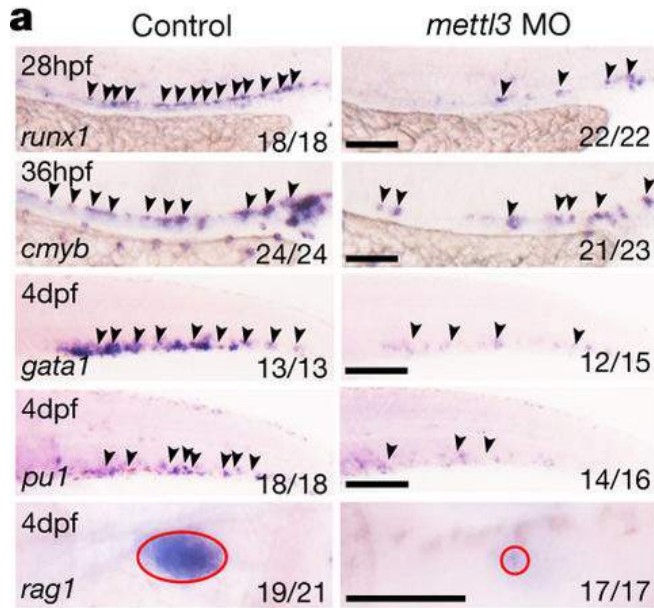


Ythdf2 – “olvasó” fehérje



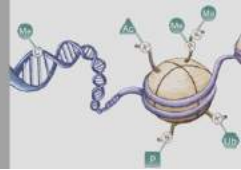


Az m6A a *notch1* transzkriptumok stabilitásának szabályozásával a HSC populáció kialakulását is befolyásolja

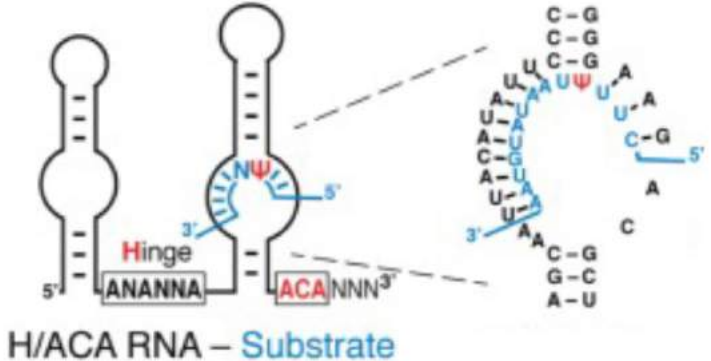


- a túlzottan aktív Notch1a gátolja a HSC-k kialakulását az endotéliumból

- Mettl3 (m6A "író" enzim) hiányában nem alakulnak ki HSC-k (se differenciálódott vérvonalak)

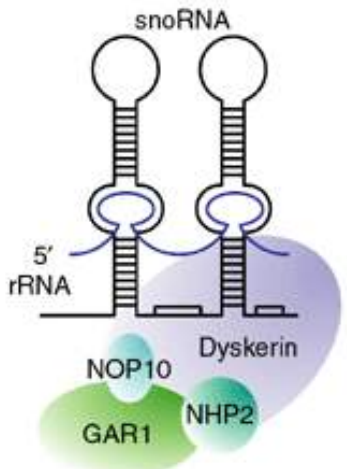


A pseudouridilációt H/ACA-box snoRNS-ek irányítják

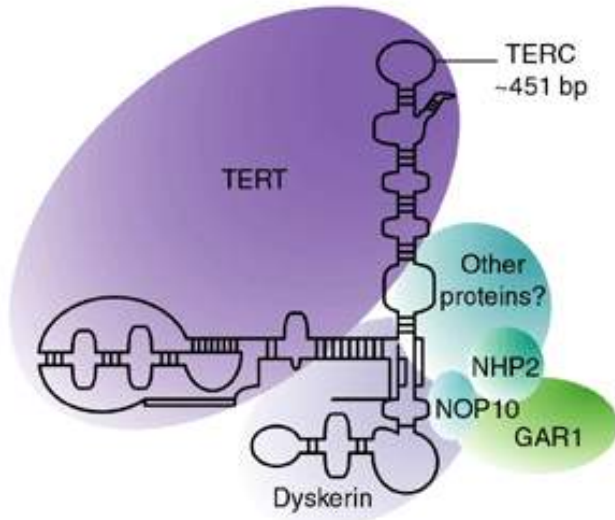


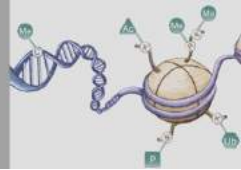
(Yu and Meier, 2014 *RNA Biology*)

The 'pseudouridylation' complex

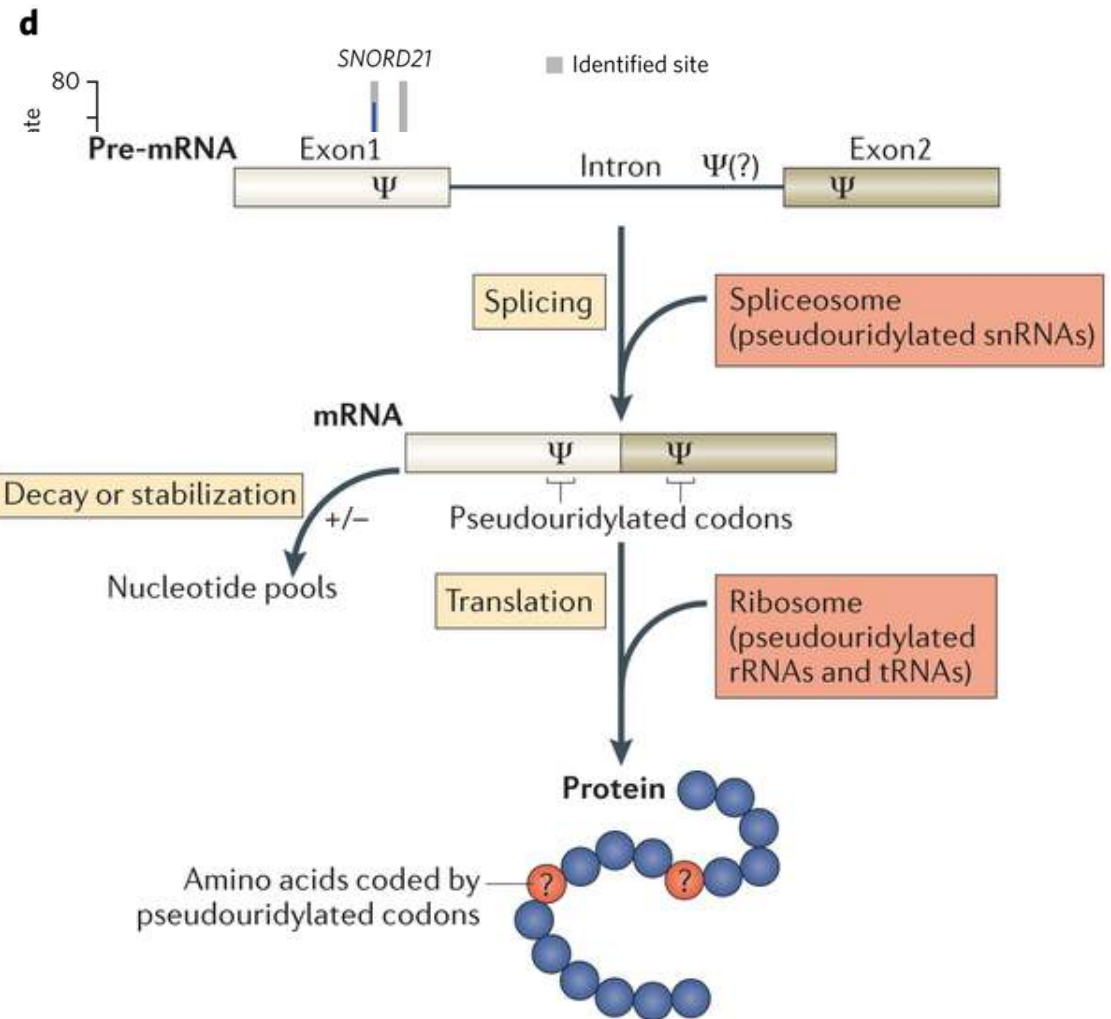
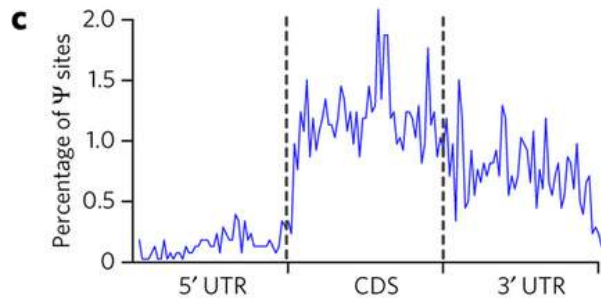
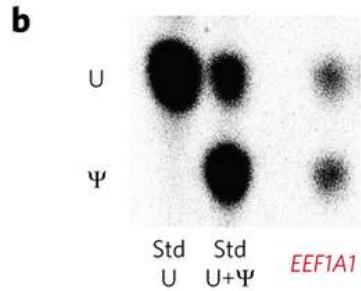
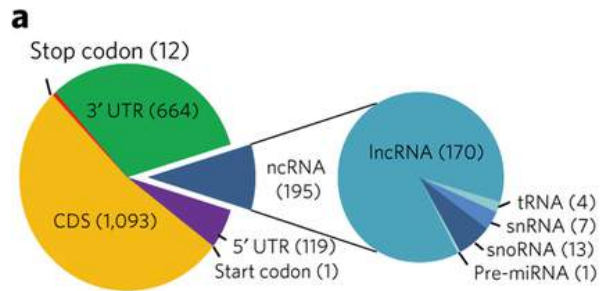


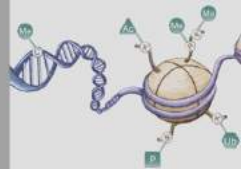
The telomerase complex



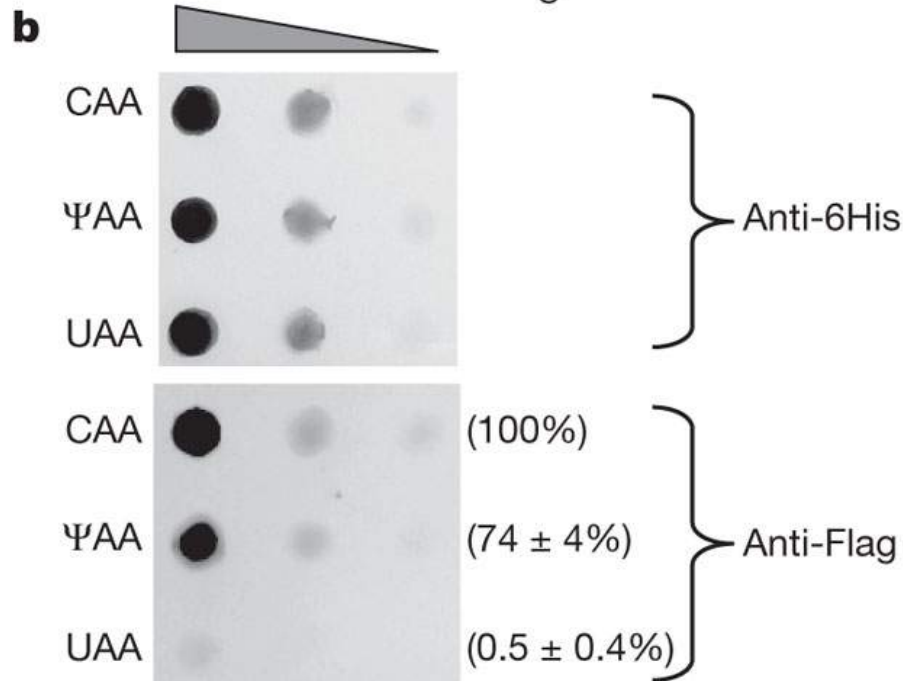
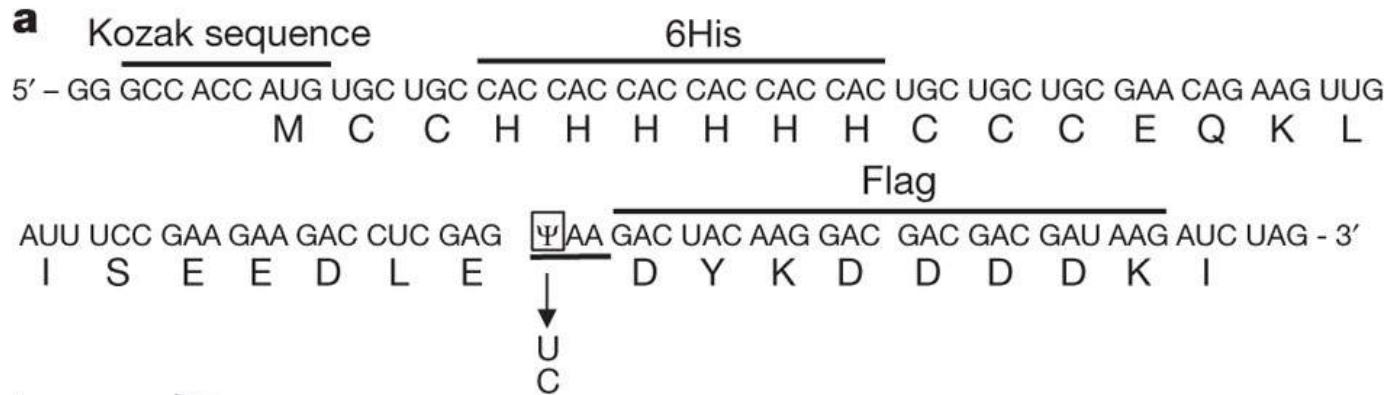


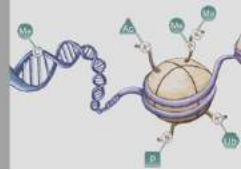
Az mRNS is nagyszámú pseU helyet tartalmaz



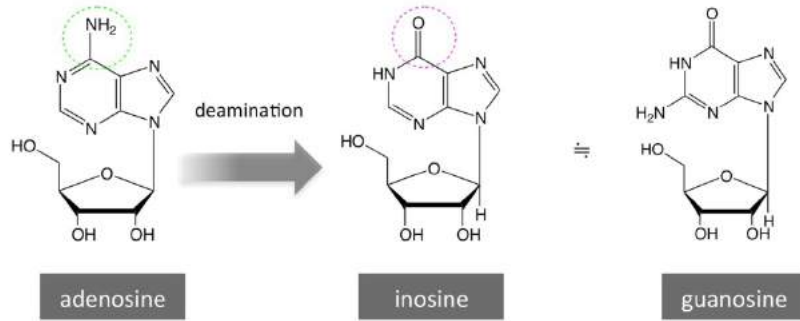


Élesztőben a STOP-kodonok pszeudouridiláció read-through-t eredményez

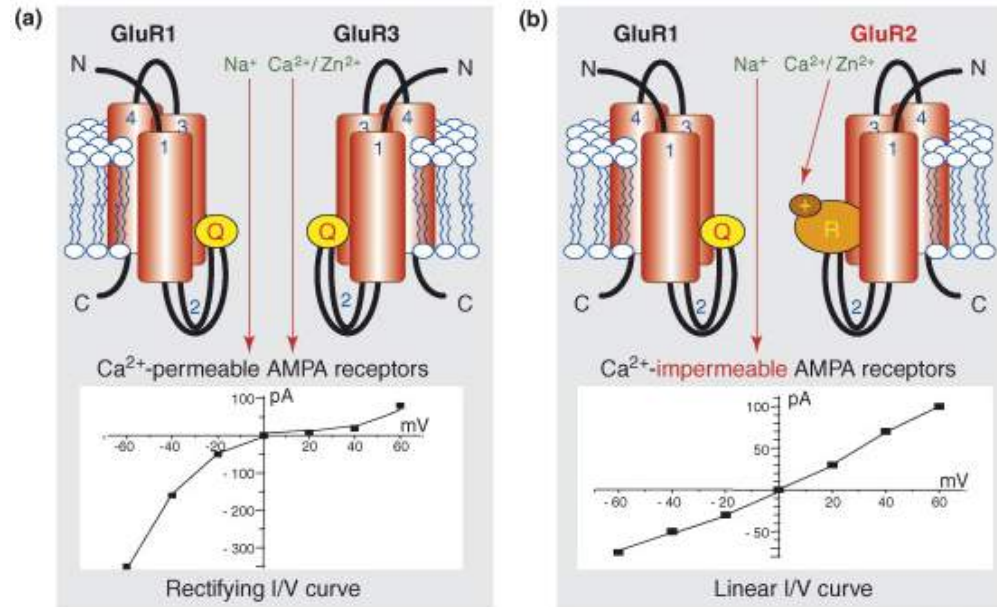
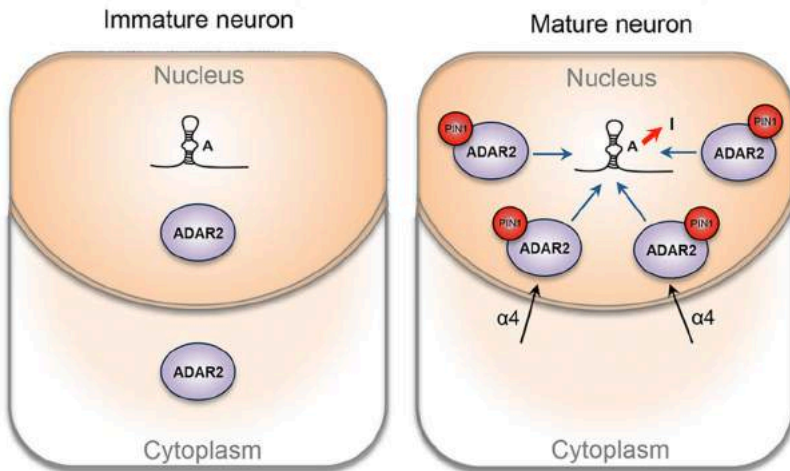
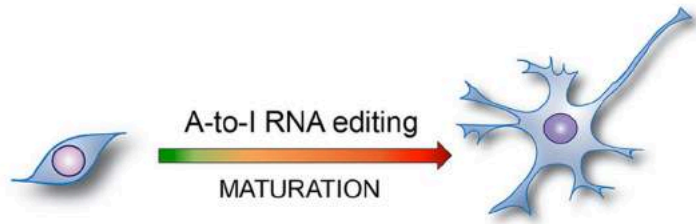




Az adenoszin (A) – inozin (I) RNS editálás és szerepe az idegsejtek működésében



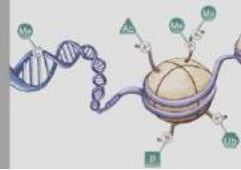
- Az A-to-I RNS editálást ADAR (Adenosine deaminase acting on RNA) enzimek katalizálják



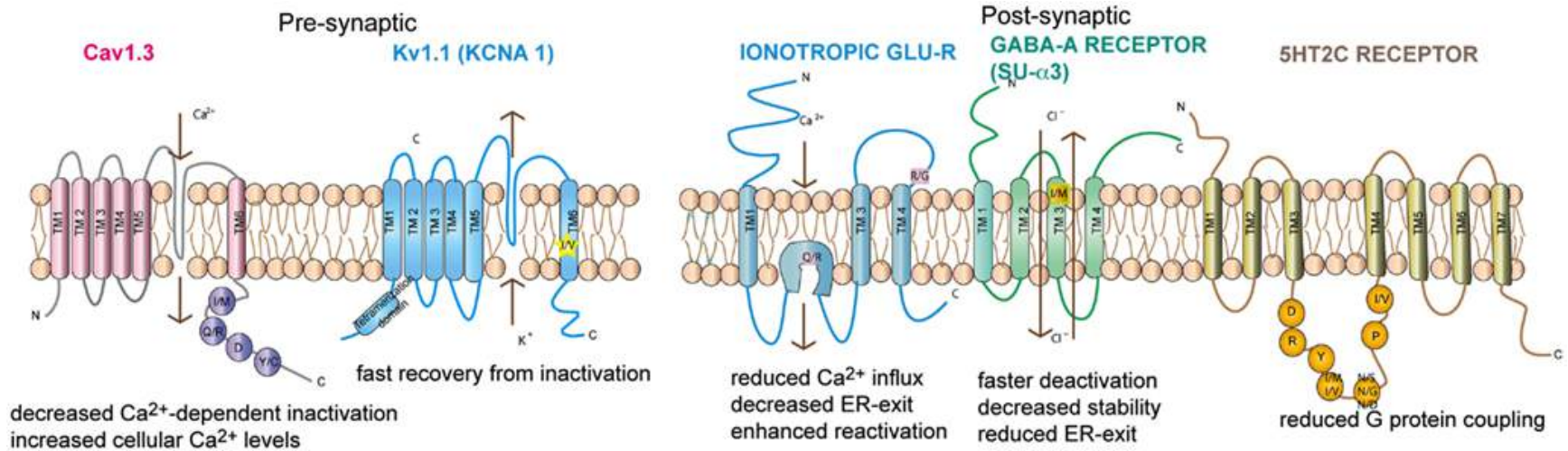
TRENDS in Neurosciences

- GluR2 esetében az AMPA-receptor Ca²⁺ permeabilitása változhat az editálás eredményeként (glutamát helyett arginin), ami a membránpotenciál dinamikájába szól bele

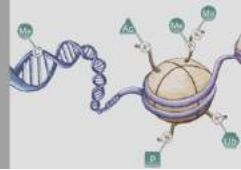
(Behm et al., 2017 *J Cell Sci*, Liu and Zukin, 2007 *Trend Neurosci*)



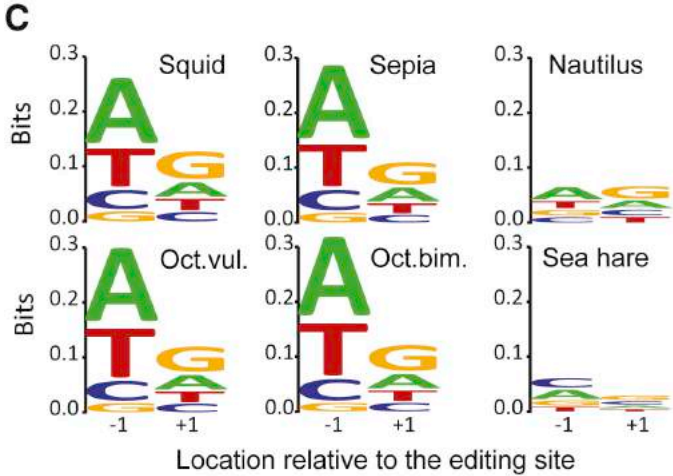
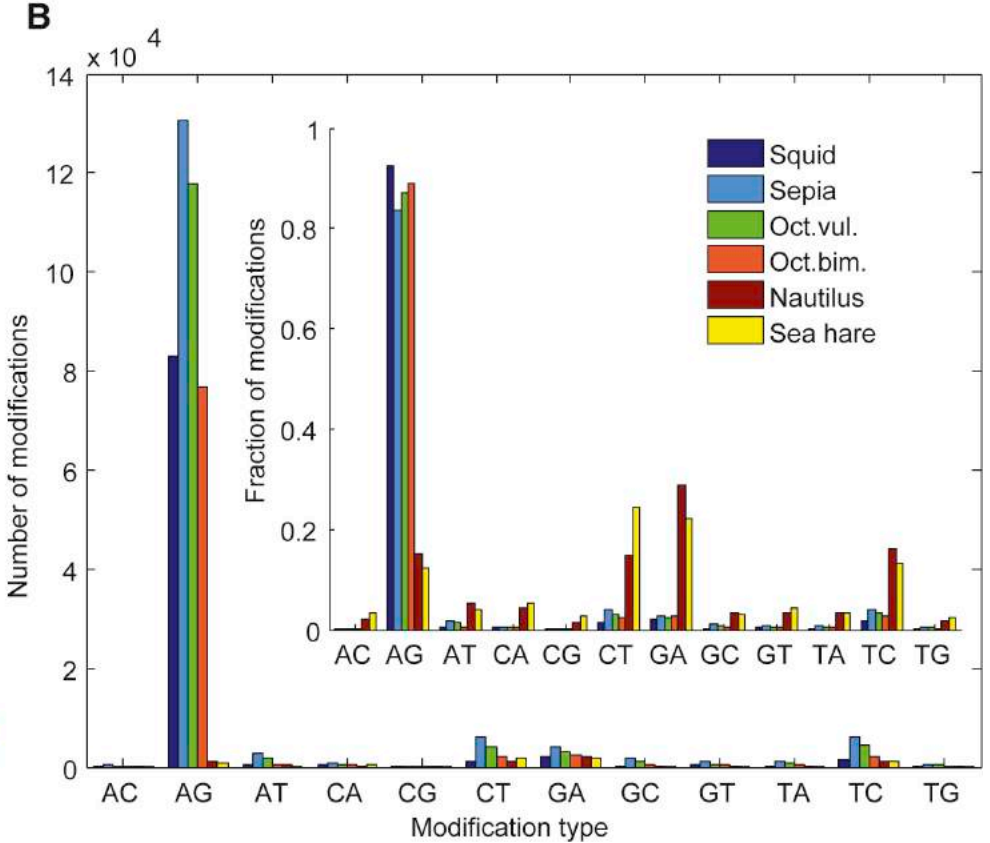
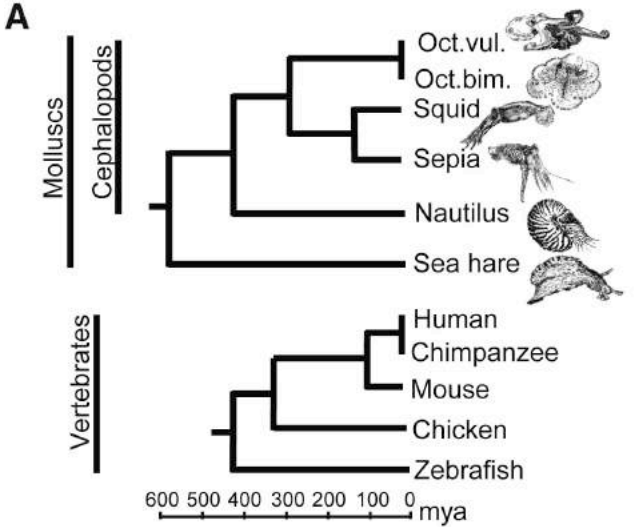
Az adenzin (A) – inozin (I) RNS editálás és szerepe az idegsejtek működésében



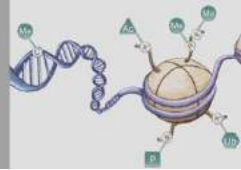
- számos további ion-csatorna működését változtatja meg az RNS-editálás következtében bekövetkező aminosav-csere



Az A-to-I editálás bajnokai, a fejlábúak

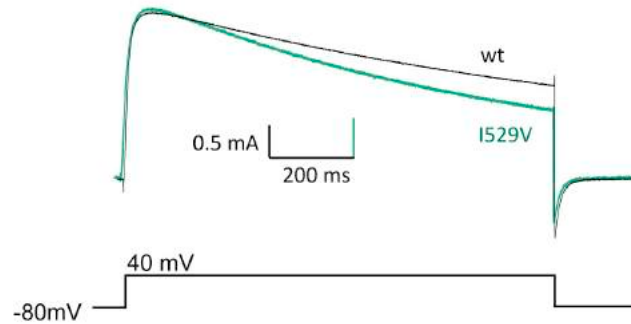


- a Coleoid fejlábúakra jellemző az A-to-I editálás



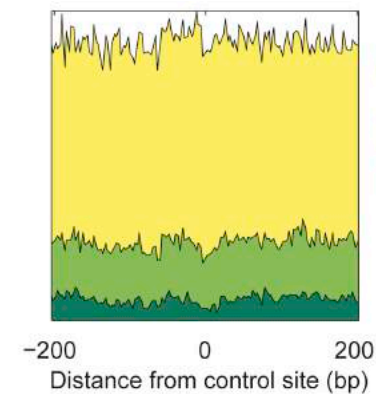
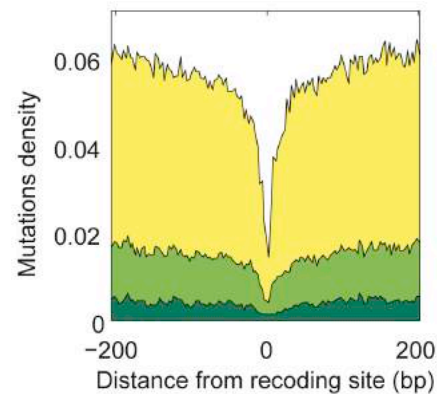
Az A-to-I editálás bajnokai, a fejlábúak

Sepia $K_v2.1$ specific editing site



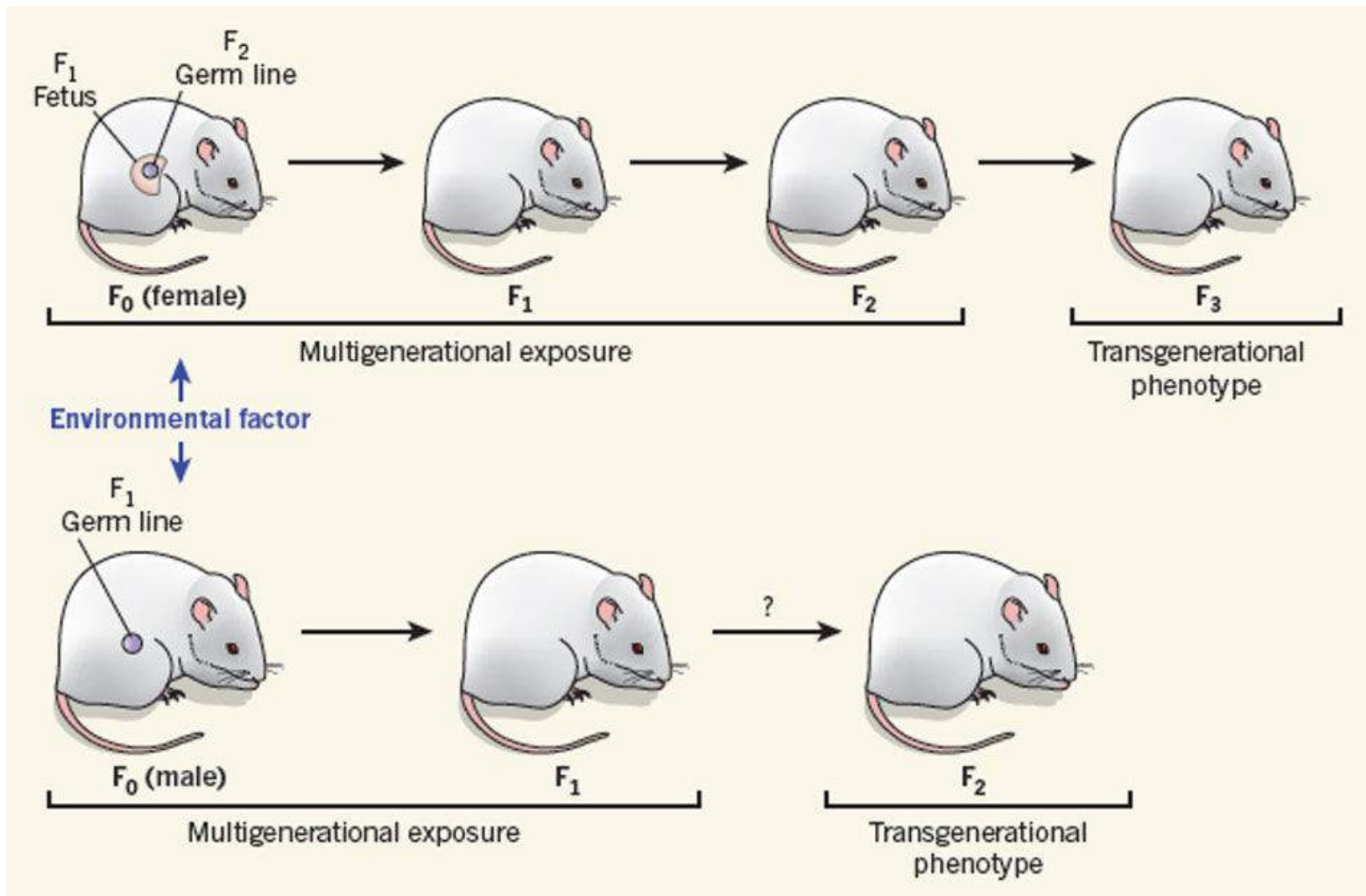
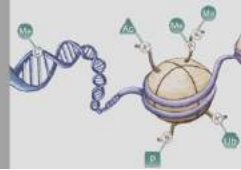
- a K_v2 kálium-csatorna pl. gyorsabban zárul az editálás hatására

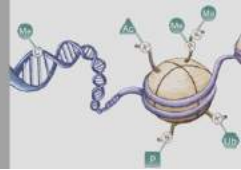
- mivel a nagyszámú editálandó hely (editing-site) pozitív szelekció alatt van, ezek jelenléte miatt a fejlábúakban lelassul a genom evolúciós változása



■ Synonymous changes
■ Non-synonymous changes
■ Deletions

Az elefánt a szobában: transzgenerációs epigenetikai módosítások

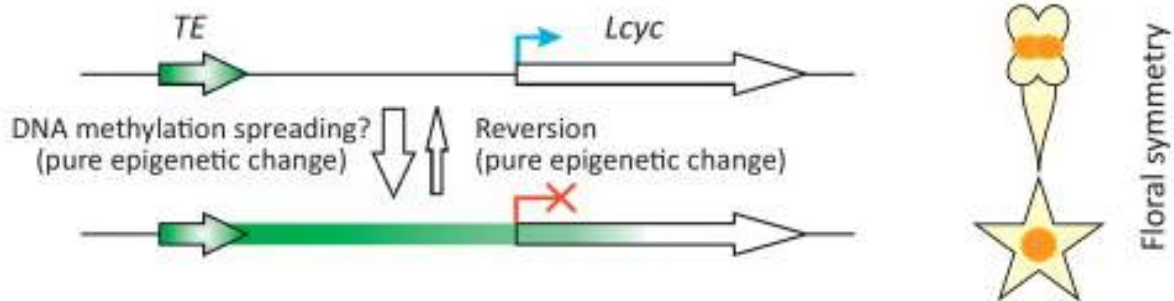




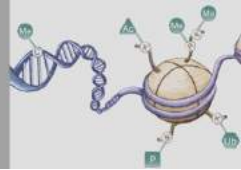
A közönséges gyújtoványfű virágzatának szimmetriája: a transzgenerációs epigenetika klasszikus példája



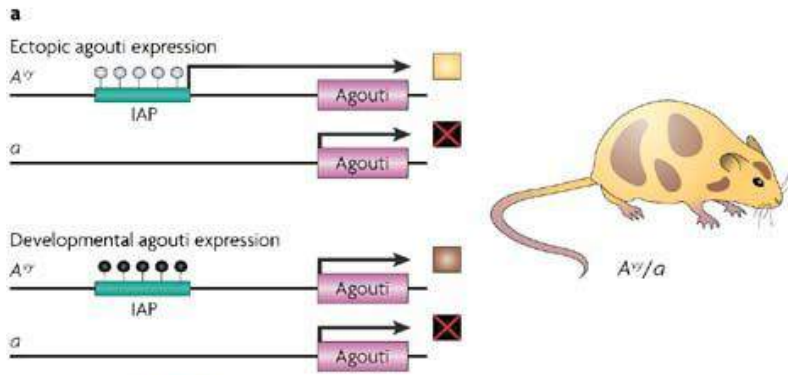
- A közönséges gyújtoványfű (*Linaria vulgaris*) normális esetben aszimmetrikus virágzatot hoz, de vannak virágok, amelyek szimmetrikusak
- A szimmetrikus-virágzatú növényeknek lehetnek szimmetrikus utódjaik, de az öröklődés koránt sem mendeli
- A virágzat szimmetriájáért a *CYCLOIDEA-like (Lcyc)* gén felelős, de a génben nem találtak mutációt.



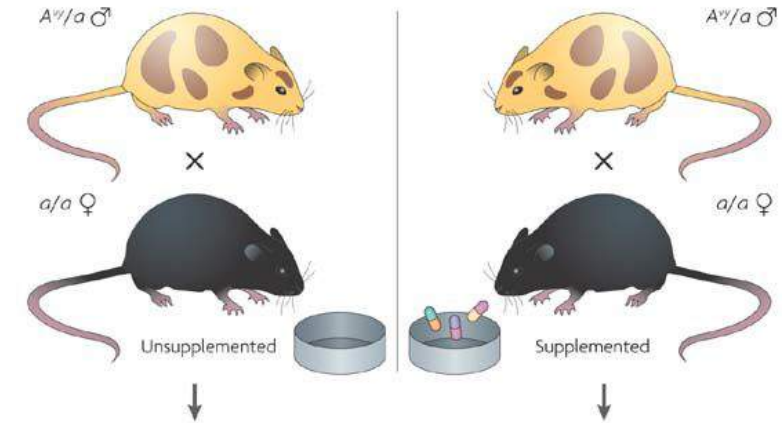
- Egy közeli transzpozon (TE) okozta metiláció tud átterjedni az *Lcyc* lókusztól is



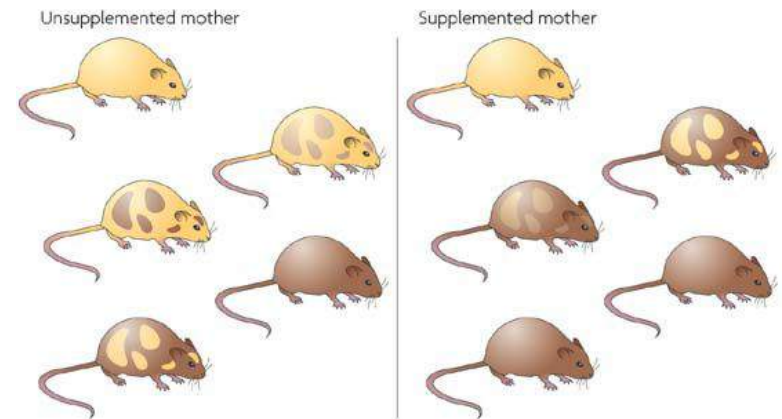
Az agouti szőrszín: egy klasszikus példa nem-mendeli, epigenetikai öröklődésre



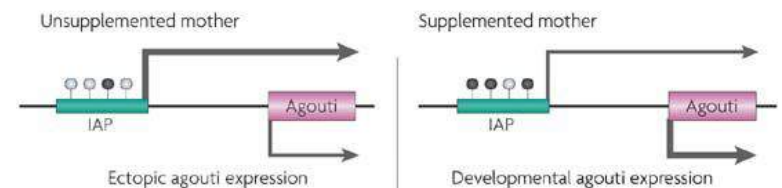
a Dietary supplementation during pregnancy



b A^y/a offspring



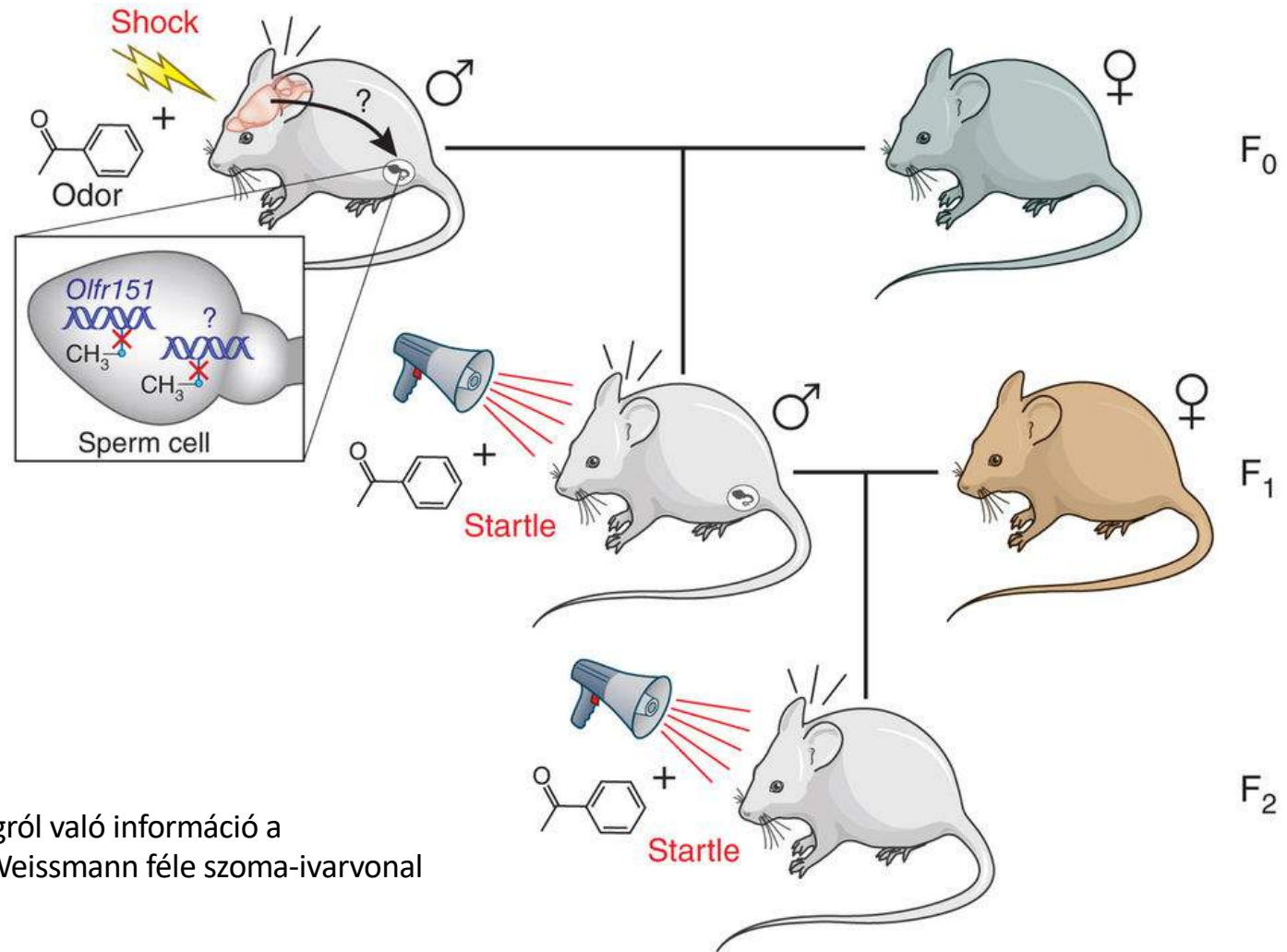
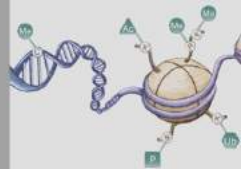
c Agouti expression



- Az Avy lókusz egy retrotranszpozont hordoz, amiből több ezer van a genomban, általában metilált formában.
- De van néhány (pl az agouti promóterben levő), ami metastabil
- Az öt egér azonos allélkombinációt hordoz, a különbségek epigenetikai eredetűek.
- Az agouti egerek nem csak világosak, de kövérebbek is. (Többfajta epigenetikai hatás.)

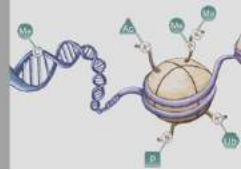
(Jirtle and Skinner, 2007 *Nat Rev Gen*)

Egy ezoterikus példa transzgenerációs öröklődésre: kondicionálás öröklődése

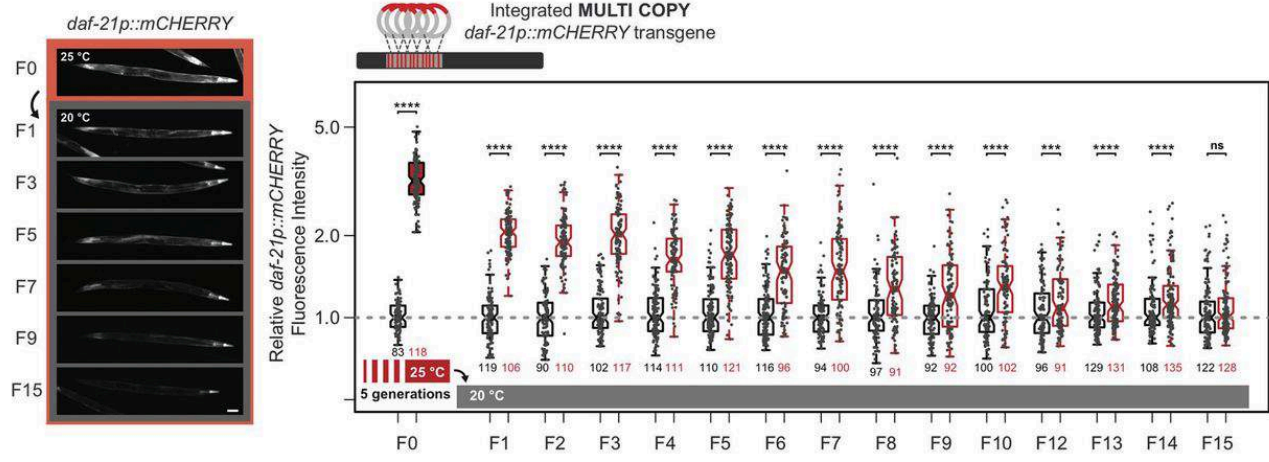


Kérdések:

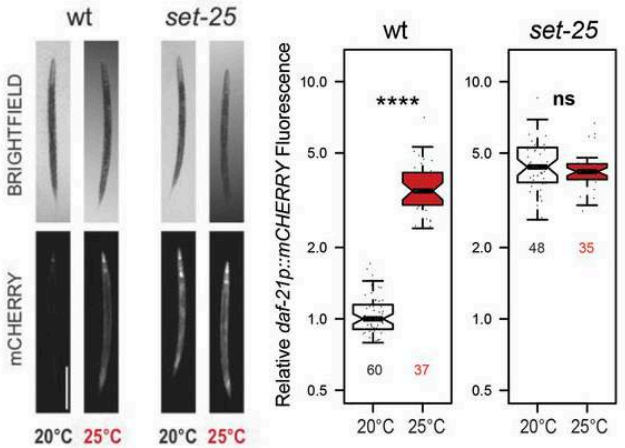
- Hogy juthat el a konkrét szagról való információ a spermiumokba? (lásd még Weissmann féle szoma-ivarvonal szegregációt.)
- Mennyire specifikus ez?
- Egy elvileg dinamikus metilációs változás, hogyan marad meg a fejlődés korai szakaszát kísérő demetilációs hullám alatt?



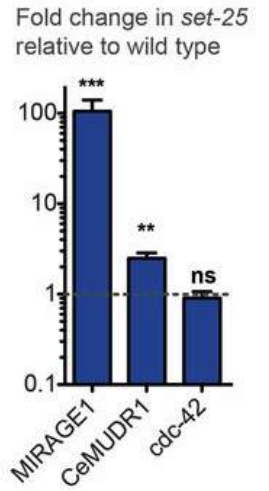
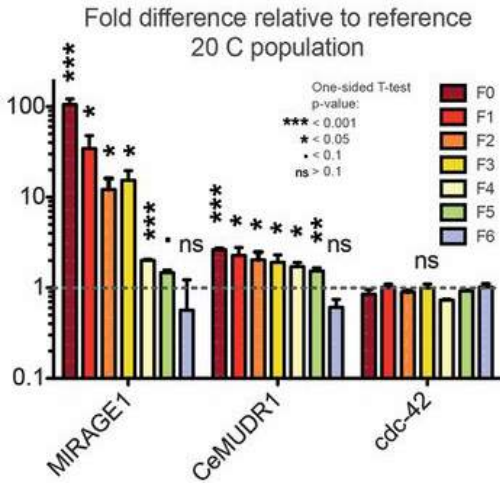
Egy megmagyarázható példa transzgenerációs öröklődésre



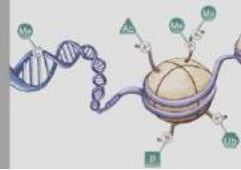
- egy hőszokkolható, többkópiás transzgen 14 (!) generáción át marad bekapcsolva hőszokk után



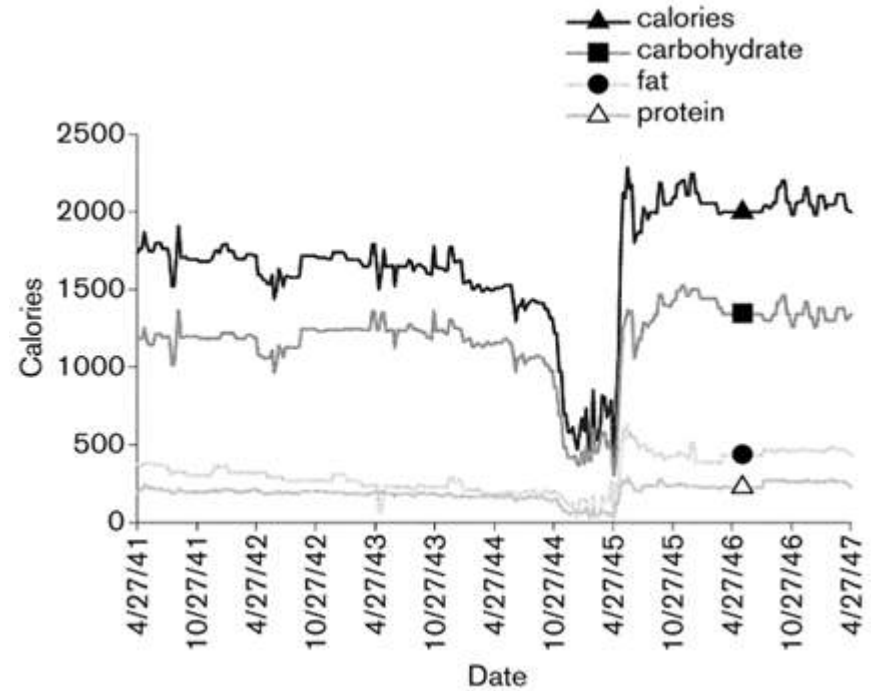
- SET-25: hiszton metiltranszferáz, H3K9me3-ért felel



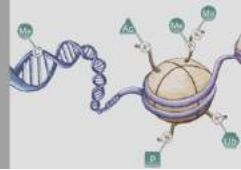
- hőszokk hatására általános SET-25 gátlás történik (így más lokuszknál is több generáció, amíg visszaáll az eredeti állapot)



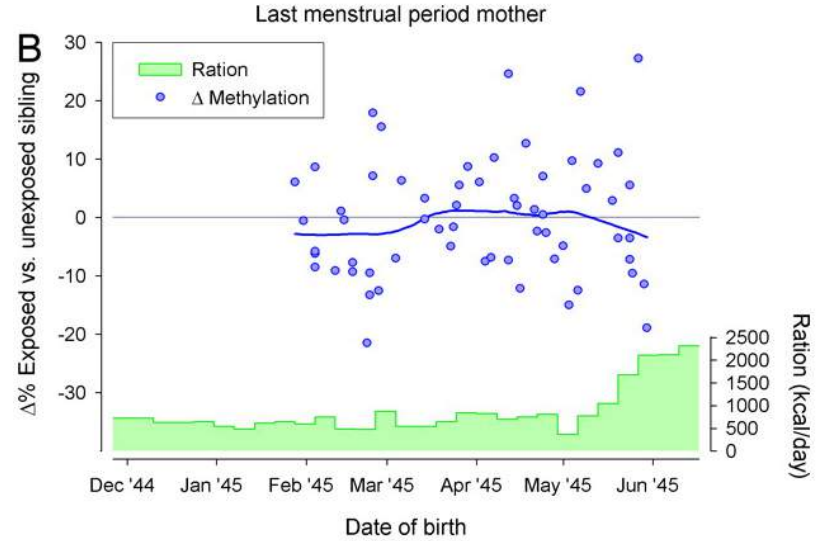
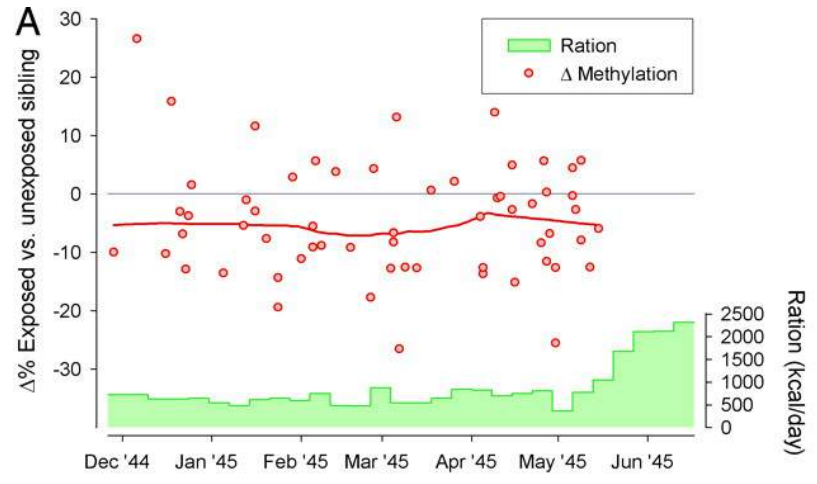
Emberi példák: a holland Hungerwinter (1944/45)



- az ez idő alatt embrionális fejlődésben levő gyerekeben felnőttként nagyobb a cukorbetegség, elhízás, kardiovaszkuláris betegségek, bizonyos pszichiátriai problémák gyakorisága



Emberi példák: a holland Hungerwinter (1944/45)



- a gesztáció alatti éhezés az *IGF2* gén DMR régiójának hipometiláltságát okozza, ami hat évtizeddel később is jelen van!

(Heijmans et al, 2008 PNAS)

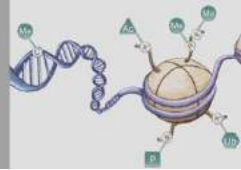
DE: F2-ben már nincs szignifikáns hatás

Table 2. Prevalence of F2 self-reported disease* according to F1 gender

	F1 exposed	F1 unexposed	All
F2 of F1 men			
<i>n</i>	52	99	151
Cardiovascular%	5.9	2.0	3.4
Pulmonary%	9.8	8.2	8.7
Hay fever%	19.6	30.6	26.8
Eczema%	25.5	24.5	24.8
Cholesterol%	0.0	2.0	1.3
Diabetes%	0.0	2.0	1.3
Hypertension%	3.9	2.0	2.7
F2 of F1 women			
<i>n</i>	106	103	209
Cardiovascular%	1.9	4.0	3.0
Pulmonary%	4.9	5.0	4.9
Hay fever%	20.6	18.0	19.3
Eczema%	19.4	24.0	21.7
Cholesterol%	0.0	0.0	0.0
Diabetes%	1.0	0.0	0.5
Hypertension%	3.9	5.0	4.4

*Defined as answering in the affirmative to questions phrased as 'has a doctor ever diagnosed' or 'has a doctor ever prescribed medication for' the different conditions.

(Veenendaal et al., 2013 BJOG)

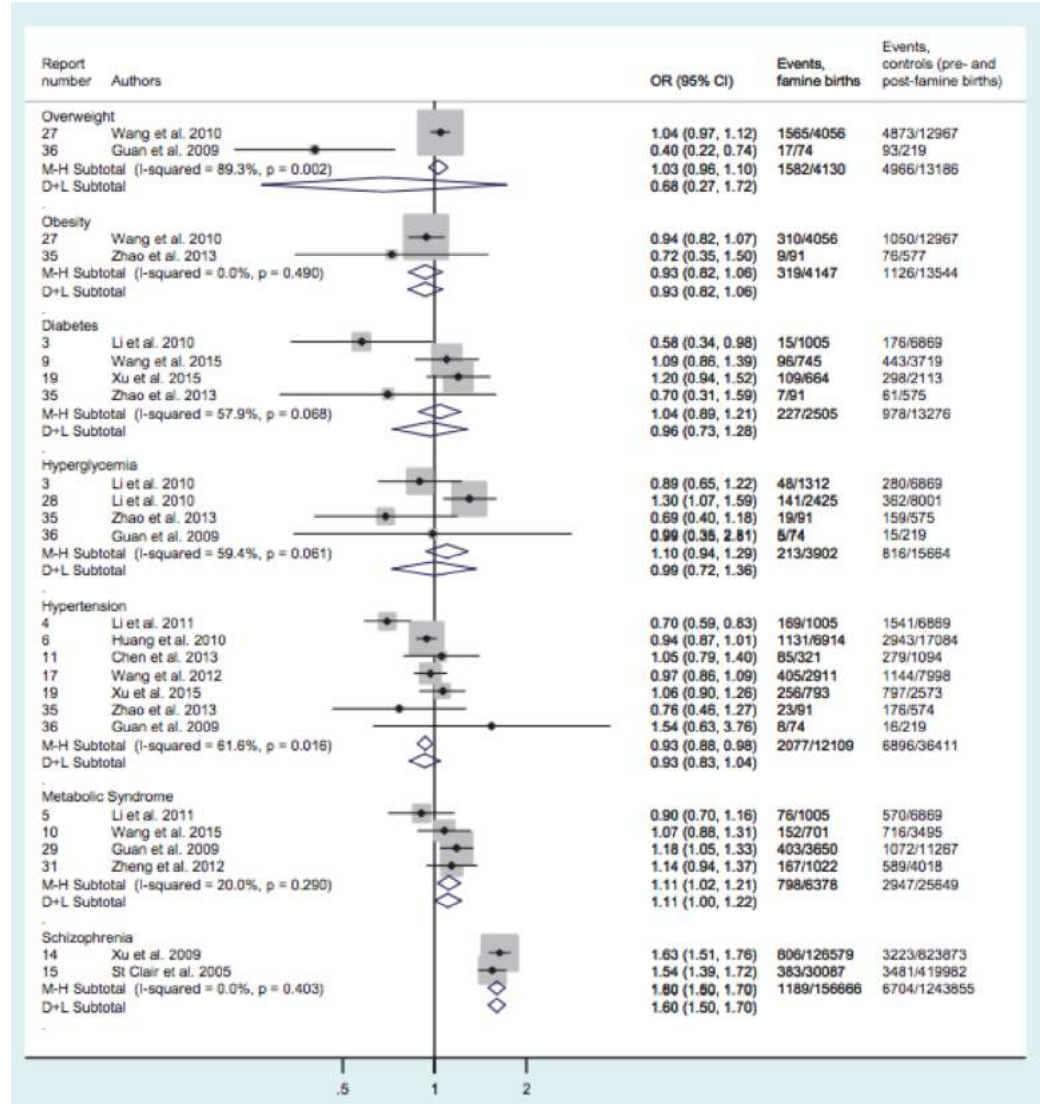


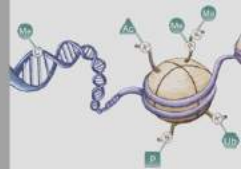
Emberi példák: Kína, Mao reformjai (1959-60)



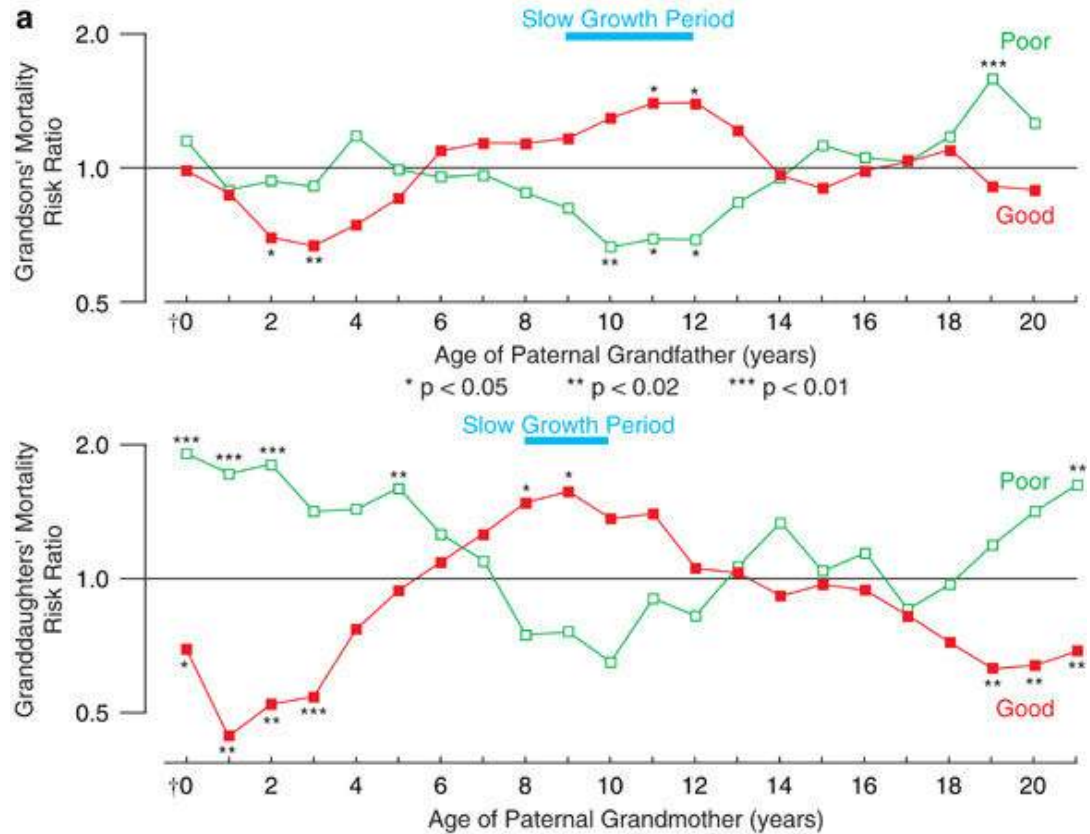
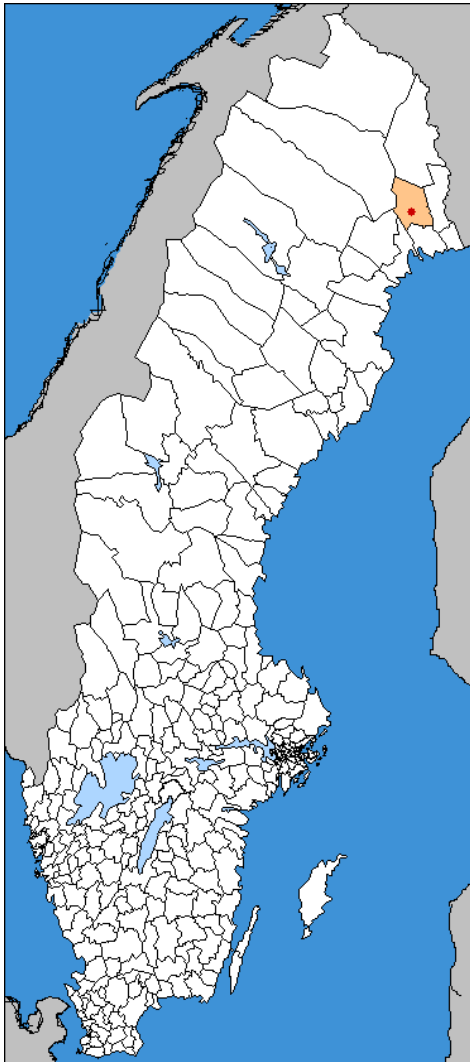
- a "Nagy Ugrás" eredményeképpen 30-55 millió ember halhatott éhen

- ma egyedül a skizofrénia esetében látszik asszociáció





Emberi példák: Överkalix



- ez egy kétgenerációs fura *asszociáció* igazából nem tudjuk mi az oka, az epigenetikai ok csak egy lehetőség