

PŘENOS EPIGENETICKÉ INFORMACE V LINÍCH BUNĚK SOMATICKÉ A ZÁRODEČNÉ DRÁHY

Boris Vyskot

Laboratoř vývojové genetiky, Biofyzikální ústav AV ČR

612 65 Brno, Královopolská 135

e-mail: vyskot@ibp.cz; <http://www.ibp.cz/labs/PDG/>

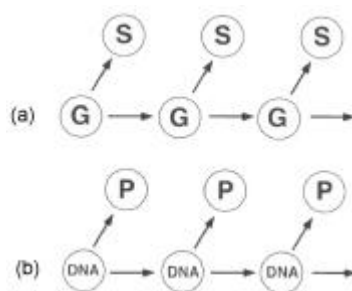
I. ÚVOD

Historickými milníky či ikonami moderní biologie poloviny 20. století se staly zejména objevy Charlese Darwina (1809-1882; evoluční teorie variability a přírodního výběru), Gregora Mendela (1822-1884; zákonitosti přenosu vloh z rodičů na potomstvo) a Watson-Crickův model DNA jako nositelky genetické informace. **Centrální dogma molekulární genetiky**, jak je formuloval Francis Crick, vychází z DNA jako univerzálního skladníka genetické informace, která je transkripcí přenášena do RNA a ta je konečně translatována do formy proteinů, které vytvářejí výkonnou mašinerii buňky. Koncem 20. století se však objevuje řada experimentálních údajů, které univerzální platnost takového dogmatu nepotvrzují. Ukazuje se, že DNA a RNA nejsou jedinými skladníky a přenašeči informace a zejména model centrálního dogmatu ignoruje složitou kaskádu regulace řízení genových aktivit, ať už na úrovni primární transkripce či v pozdějších stádiích. Realizace genetické informace, tedy cesta od genotypu k fenotypu, je klíčovým tématem nového odvětví genetiky a vývojové biologie – **epigenetiky**.

II. SOMATICKÁ A ZÁRODEČNÁ DRÁHA

Somatická a zárodečná dráha jsou termíny, které jsou významné z hlediska uplatnění genetické i epigenetické informace (obr. 1). Staly se předmětem chronických svárů koncem 19. a počátkem 20. století. Důvodem byla **teorie dědičnosti získaných vlastností**, kterou postuloval velký francouzský biolog Jean-Baptiste Lamarck (1744-1829) a která by dávala

možnost somatickým buňkám předávat svou vývojovou zkušenost. S touto teorií výrazně polemizovala německá škola vývojové biologie reprezentovaná Augustem Weismannem (1834-1914). V časném stadiu embryogeneze vyšších živočichů (zjednodušeně od *Caenorhabditis elegans* výše) dochází k tomu, že určité buňky migrují do gonád, neúčastní se tvorby těla a stávají se potenciálními gametami. Jen tyto buňky tedy mají šanci být základem jedinců příští generace. Změny v somatické linii se tedy nepřenášejí, **soma je diskontinuální**. Z určitého pohledu pak můžeme říci, že somatické linie buněk představují problematiku studia vývojové biologie, zatímco dráha zárodečná je především předmětem (transmisní) genetiky. Nutno se zmínit, že některé recentní práce připouštějí, že i somatické buňky myši jsou schopny penetrace do samičích gonád a mohou se stát i novými oocyty. Do nedávna byla u savců uznávána tzv. Zukermanova (1951) **základní biologická doktrína**: v průběhu života jedince nenastává zvýšení počtu primárních oocytů nad rámec těch, které byly vytvořeny při tvorbě vaječníku (končí narozením). Johnson et al. (2005) však zjistili, že juvenilní i adultní vaječníky myši mají mitoticky aktivní zárodečné buňky a chemoterapie eliminující zásoby folikulů může být překonána aktivací nových zárodečných buněk. Transplantace kostní dřeně nebo periferní krve (pluripotentní buňky) vedou ke vzniku oocytů donorového typu, ale schopnost fertilizace a dalšího vývoje oocytů odvozených z kostní dřeně či krve však dosud nebyla prokázána. Velká skupina druhů eukaryot však pravou zárodečnou dráhu nemá: patří sem zejména nižší živočichové (např. nezmar či ploštěnky) a rostliny. U nich tedy lze konstatovat, že změny, které se v buňkách odehrají v průběhu života individua, by se mohly přenášet do potomstva. To je zřejmě zdrojem vysoké fenotypové plasticity i adaptační schopnosti těchto skupin organismů.



Obr. 1. Ilustrace principu zárodečné dráhy z pohledu 19. resp. 20. století (podle Griesemer, 2002). (a) Weismannismus představuje doktrínu striktní separace zárodečné (G – germinální) a tělní (S – somatické) dráhy diferenciace buněk. K této separaci zjevně dochází u vyšších živočichů a buňky zárodečné linie toto vývojové určení získávají na bázi predeterminace (mozaikový typ vývoje – např. *C. elegans*) či poziční informace (regulativní typ vývoje – např. savci). Zárodečná linie tak explicitně představuje jedinou informaci, která je předávána potomstvu. (b) Crickovo centrální dogma pak prezentuje základní evoluční dráhu (DNA – přenos genetické informace), která je realizována ve fenotypu (P), jež se ovšem jako somatická linie nedědí.

III. EPIGENETIKA A JEJÍ HISTORICKÉ KOŘENY

Epigeneze a epigenetika jsou dva významné termíny, jejichž význam spolu úzce souvisí a přitom jde o jevy poněkud odlišné. Výraz **epigeneze** zavedl již starověký Aristoteles (384-322 př.n.l.) a měl na mysli pokrokovou vývojovou teorii, která je založena na kontinuální tvorbě tvarů v průběhu ontogeneze. Jistým protikladem je teorie preformismu, kdy individuální vývoj je založen na předem daných strukturách. Snad je dnes, po stoletích diskusí mezi zastánci těchto teorií, možné vyslovit názor, že obě teorie mají jistou část pravdy. Ontogeneze je opravdu epigenetická, ale „kreativní tvorba tvarů“ není neomezená. Preformismem je naopak možné rozumět i to, že informace DNA je nám opravdu předem dána a tím je definován i rámcový program individuálního vývoje. Snad je ještě dobré zmínit, že český výraz „vývoj“ má dvojí rozměr: vývojem individuálním (ontogeneze, vývin) míníme tvorbu a rozvoj tvarů v průběhu života individua, zatímco vývojem historickým (evoluce, fylogeneze) je rozuměn proces fixace individuálních změn procesy selekce a mechanismy genetiky. Tento poslední názor, dnes uznávaný vztah mezi ontogenezí a evolucí, byl postulován německo-americkým genetikem Robertem Goldschmidtem (1878-1958) teprve v polovině 20. století.

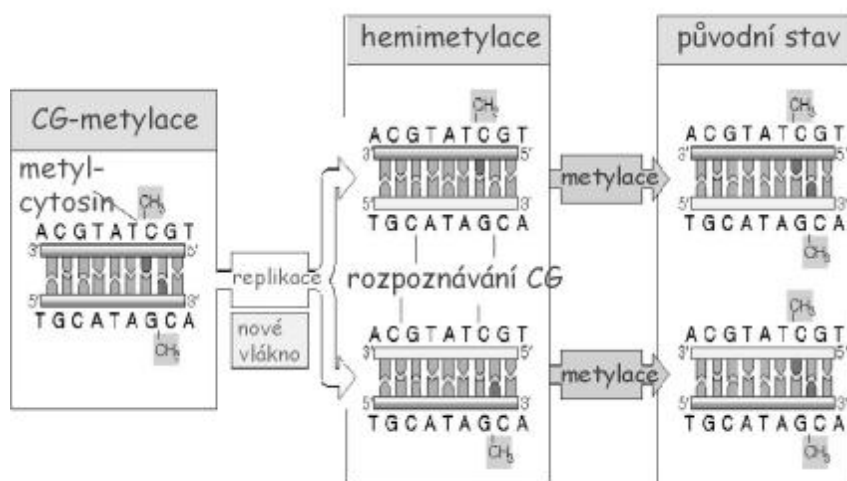
Od výrazu epigeneze se přesuneme k poněkud nejasnému termínu **epigenetika**. Ten poprvé použil v 50. letech minulého století velký teoretický biolog Conrad Waddington (1905-1975). Tento britský představitel teorií diferenciace je dnes znám především svým modelem **epigenetické krajiny**, který si lze též představit jako lyžařský svah či hřiště minigolfu, kde kulička znázorňuje jednotlivou buňku, která se ireverzibilně pohybuje na bázi gravitace a mění směr své dráhy podle členitosti terénu (model vlivu environmentálních změn na specifický osud buňky). Odtud jsou dodnes vlivy prostředí či individuální variabilita považovány za faktory epigenetické či epigenní. Conrad Waddington, když vyslovil termín epigenetika, však měl na mysli něco jiného: soubor změn genové exprese, ke kterým dochází v průběhu ontogeneze, a které mají za následek tvorbu odlišných buněčných typů, tkání a orgánů. Termín epigenetika se kupodivu ujal a byl opět velmi volně interpretován. Především bývá dáván do souvislostí s odkazem Jean-Baptiste Lamarcka.

Epigenetiku definujeme jako mitoticky a/nebo meioticky děděné změny genové exprese, ke kterým dochází beze změny primární genetické informace (tedy beze změny sekvencí nukleotidů v DNA). Epigenetika byla také definována jako tzv. chromatinová dědičnost, neboť bylo prokázáno, že je způsobena (či lépe provázena) strukturními i chemickými modifikacemi chromatinu – především DNA a nukleosomálních histonů.

Epigenetika je výrazně charakterizována jako nejistá (nestabilní) dědičnost, která se obvykle neřídí mendelovskými pravidly. Znamená to asi tolik, že epigeneticky řízené lokusy se zpravidla vyznačují neúplnou penetrancí a variabilní expresivitou. Penetrance genu znamená jeho projev (typu ano/ne), v mendelovské genetice míníme u dominantních alel obvykle penetranci úplnou. U epigeneticky řízených lokusů je **penetrance** relativně nízká: přítomnost genu často neznamena jeho projev. Predikce penetrance také může být problematická, neboť je ovlivněna prostředím. Termín **variabilní expresivita** se vyjadřuje k různorodosti individuálního fenotypu. Znamená to, že vzhledem k projevu určitého genu nemáme jen dva možné fenotypy, odpovídající přítomnosti či nepřítomnosti (expresi či umlčení) určitého genu, ale exprese je v různých buňkách či tkáních jedince kolísavá, a proto výsledný fenotyp může být intermediální nebo mozaikový. Klasickým příkladem tohoto mozaikového fenotypu je tzv. poziční efekt u drosofily, kdy exprese genu odpovídající za barvu očního pigmentu se může podrobovat epigenetickému umlčování vlivem sousedního heterochromatinu.

IV. METYLACE DNA A MODIFIKACE NUKLEOZOMÁLNÍCH HISTONŮ

Epigenetické procesy patří v současné době k neaktuálnější problematice vývojové genetiky eukaryotických organismů. Mechanismy, které epigenetickou kontrolu realizují, zejména **struktura chromatinu, metylace cytosinu a kinetika replikace DNA**, navozují

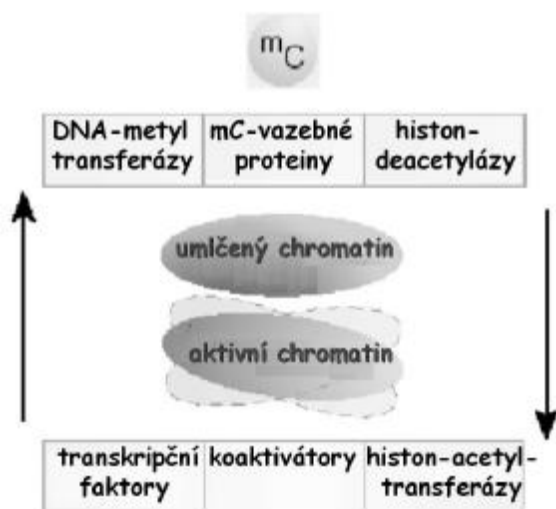


Obr. 2. Methylace cytosinu je nejčastější modifikací DNA templátu. Dochází k ní obvykle v dinukleotidu CpG, popř. i v jiném sledu nukleotidů, CpNpG (u vyšších rostlin). Methylace DNA se vyskuteje u většiny eukaryotických druhů a je zřejmě nejlépe prostudovaným mechanismem epigenetických procesů. Na příkladu uchovávání a replikativního předávání metylačních spekter CpG lze demonstrovat mechanismus mitotické či meiotické transmise epigenetického signálu: metylaci dceřinného vlákna DNA zajišťuje enzym udržovací DNA metyláza (podle Bird, 2002).

stav kompetence (potenciální transkripční aktivity či inaktivity) příslušných genů, genomových domén, celých chromosomů nebo dokonce chromosomových sad. Tyto stavy potenciální aktivity genů se v průběhu ontogeneze obvykle mění, což představuje jeden z mechanismů řízení diferenciace. Častým výsledkem epigenetických procesů jsou odlišné exprese různých kopií stejného genu (alel) v daném buněčném jádře.

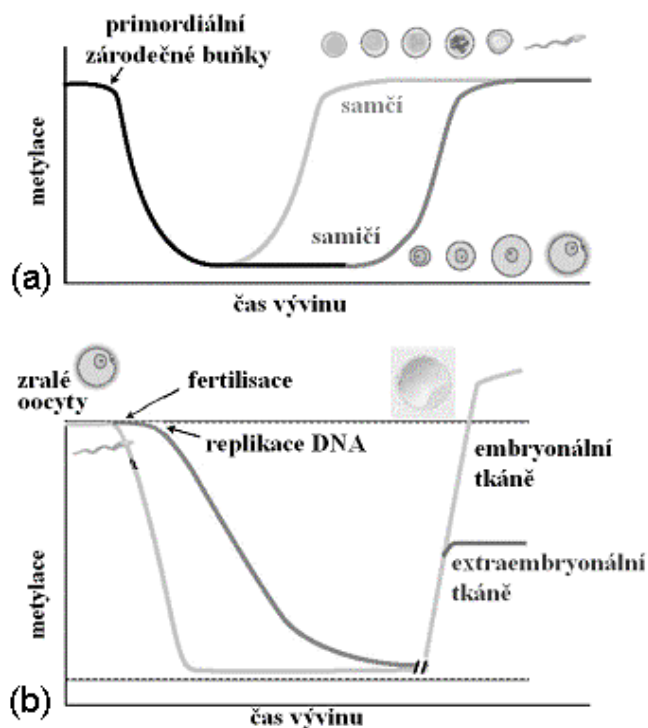
Epigenetické efekty mají v principu dva hlavní typy mechanismů v závislosti na tom, zda cílovým místem pro konverzi z „naivního“ na „determinovaný“ stav je DNA nebo jaderný protein. Modifikací DNA jsou kovalentní adice chemických skupin do specifických sekvencí DNA, nejčastěji metylace cytosinu v dinukleotidu cytosin-guanin, což je obvykle spojeno s inaktivací cílové sekvence. Uhlík v pozici 5 pyrimidinového kruhu cytosinu je enzymaticky metylován, donorem metylové skupiny je S-adenosylmetionin (SAM). Metylcytosin v místě cytosinu ovlivňuje strukturu molekuly DNA, zejména vazbu specifických proteinů v promotorových oblastech genů. Tato modifikace je děděna epigeneticky, protože existuje systém, který po replikaci DNA rozpoznává hemimetylované sekvence a konvertuje je na plně (v obou vláknech) metylované (obr. 2).

Epigenetický stav může být navozen metylací *de novo* nebo naopak revertován odstraněním metylové skupiny: buď postupně replikativně (absencí „udržovací“ metylace v sérii buněčných dělení) nebo aktivní demethylací. Epigenetické stavy mohou být také navozeny modifikací proteinů, zejména acetylací či metylací nukleosomálních histonů. Acetylace i deacetylace jsou aktivními procesy katalyzovanými příslušnými enzymy (histon acetylázy a deacetylázy, obr. 3). Recentní studia ukazují, že specifické modifikace řady aminokyselin jaderných histonů jsou pro genovou expresi klíčové a tvoří tzv. histonový kód.



Obr. 3. Metylce DNA a modifikace nukleosomálních histonů jsou hlavními mechanismy dynamické tranzice mezi aktivním a umlčeným chromatinem (podle Jaenisch a Bird, 2003).

Metylace cytosinu bývají v genomech rozsáhlé, u druhů s velkým genomem tvoří až 30% ze všech metylcytosinových residuů. Metylcytosin nacházíme především v oblastech repetitivních sekvencí DNA, kde jsou součástí konstitutivního heterochromatinu. Methylace se podrobují v průběhu individuálního vývoje jedince výraznými cyklickými aktivitami. Primordiální zárodečné buňky obou pohlaví se rozsáhle demethylují a teprve při zrání gamet dochází k prudkému nárůstu aktivity DNA-metyltransferáz (obr. 4). Smyslem těchto dynamických změn je zřejmě určitá ochrana (metabolické umlčení) genomu pohlavních buněk. Nejmenší frakci metylcytosinu, avšak důležitou, tvoří jeho přítomnost v promotorech imprintovaných genů. Tento záznam vzniká zřejmě při meióze a je pohlavně specifický. Z hlediska proporcí metylovaného cytosinu v genomu jde jen o zlomek procenta: pouze několik desítek imprintovaných genů bylo identifikováno u savců a krytosemenných rostlin.

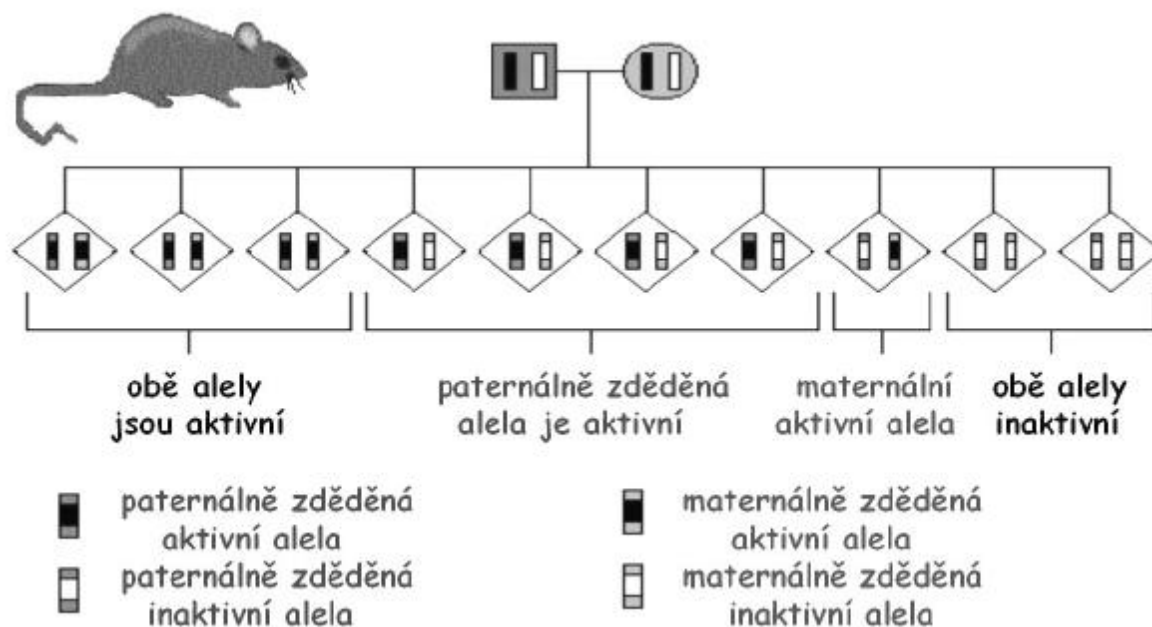


Obr. 4. Dynamika globálních metylačních změn jaderného genomu při samčí a samičí gametogenezi (a), fertilizaci a časně embryogenezi (b) u savců (Reik et al., 2001).

V. IMPRINTING: MATERNÁLNÍ ČI PATERNÁLNÍ PŘENOS GENOVÉ AKTIVITY

Genomový (též nazývaný parentální nebo gametický) imprinting je definován jako reverzibilní proces, kdy specifická modifikace genů v parentální generaci vede k funkčním

rozdílům mezi paternálními a maternálními genomy v diploidních buňkách potomstva. Je významným faktorem v embryonálním vývinu savců a jeho jednoznačnými důkazy jsou geny, jejichž alely jsou aktivní pouze buď paternálního nebo maternálního původu, tj. jejich exprese závisí výhradně na pohlaví rodiče, od kterého byla příslušná alela zděděna. K vytvoření imprintu genu (tj. informace o jeho potenciální expresi nebo transkripční inaktivitě) dochází v průběhu meiotického dělení nebo tvorby gamet a jeho mechanismem jsou s velkou pravděpodobností metylace DNA. U savců bylo dosud identifikováno nejméně 50 imprintovaných lokusů. Imprinting je ovšem epigenetickým jevem a o těch víme, že mají neúplnou penetranci a variabilní expresivitu. Provést přesnou predikci aktivity určité imprintované alely je proto často problematické (obr. 5). Je zajímavé, že tyto lokusy nejsou na chromosomech lokalizovány rozptýleně, ale mnohé vytvářejí shluky. Ve většině těchto genových shluků jsou zastoupeny společně geny paternálně a maternálně imprintované. Nejznámějšími příklady takových imprintovaných shluků jsou oblasti na lidských chromosomech číslo 15 a 11. V obou případech je tu umístěno několik genů exprimovaných výhradně maternálně a několik genů exprimovaných paternálně; jen takovýto stav vede k životu normálního jedince.

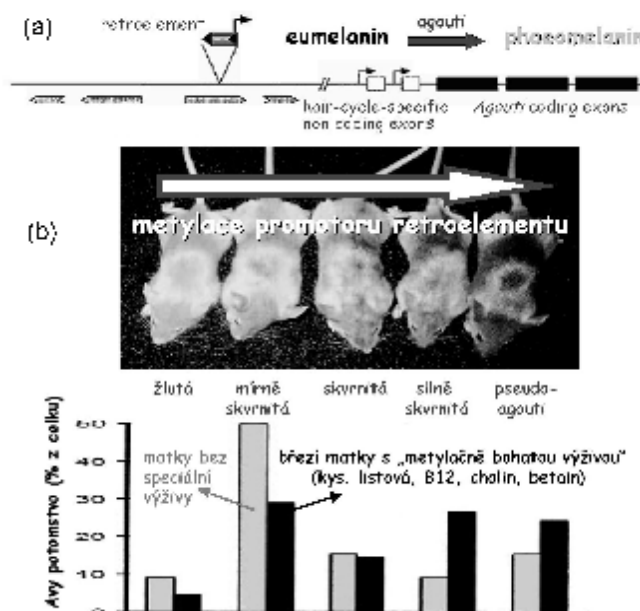


Obr. 5. Genomový imprinting je definován jako nemendelistické chování specifického lokusu, který je ve filiální generaci exprimován v závislosti na pohlaví rodiče, od kterého alela pochází. V uvedeném příkladu lokusu Kinked-tail myši očekáváme exkluzivně paternální transmissi exprese, vzhledem k epigenetické labilitě lokusu však v potomstvu nalezneme všechny možné kombinace aktivity alel i fenotypů (podle Rakyan et al., 2003).

VI. EPIGENETICKÉ MECHANISMY UMLČOVÁNÍ PARAZITICKÝCH SEKVENCÍ

Za jednu z příčin dynamické proměnlivosti genotypu i fenotypu rostlin a živočichů je považována aktivita mobilních genetických elementů: jejich mobilita však též závisí na metylaci příslušných promotorů. Genové inženýrství u rostlin i savců odhalilo jejich rozmanité schopnosti degradovat nebo na různé úrovni, transkripční i posttranskripční, umlčovat vnášené sekvence DNA. Nejčastěji jde o fenomén transkripčního umlčování genů. Jeho mechanismy jsou obvykle *cis*-inaktivace (metylace a umlčování tandemově se opakujících kopií integrovaných transgenů), *trans*-inaktivace (jev analogický paramutací: metylovaná kopie genu způsobí změnu své původně aktivní kopie na inaktivní) nebo *co*-suprese (koordinované umlčování dvou nebo více homologních genů). Časté jsou i případy posttranskripčního umlčování transgenů, zejména RNA interference.

Elegantní demonstrací úlohy metylace DNA, vlivu retroelementů, maternální výživy a výsledného fenotypu je funkce genu *Agouti* (obr. 6). Gen odpovídá za zbarvení myšího kožíšku a jeho funkce je proto snadno monitorovatelná. I když jde jen o experimentální systém, kdy do blízkosti genu je vložen epigeneticky nestabilní retroelement, bylo již demonstrováno, že (a) v maternální linii lze provádět lamarckistickou selekci fenotypových znaků, a že (b) dieta pregnantní matky, bohatá či chudá na zdroje metylových skupin, ovlivní metylaci genomu embrya i jeho fenotyp.

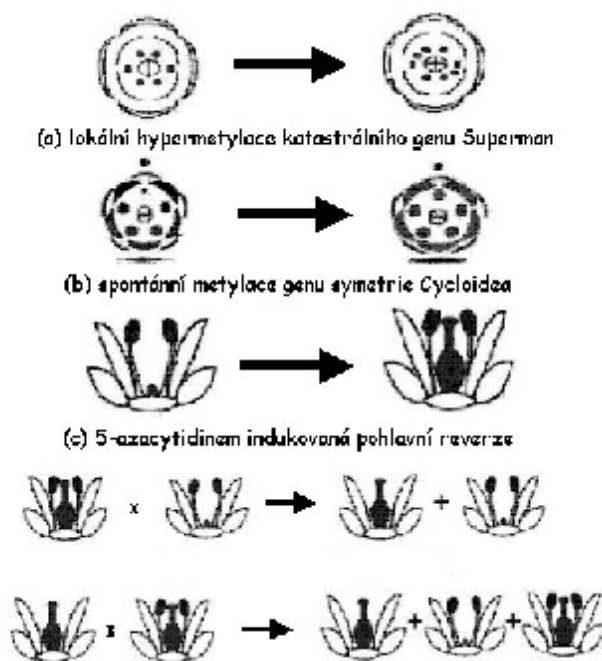


Obr. 6. Barva myší srsti závisí na stupni metylace genomu, který nastavován v průběhu embryogeneze, ke které dochází uvnitř těla matky (*in utero*). Jedním z genů odpovídajících za tvorbu žlutého pigmentu phaeomelaninu z černého melaninu v myším chloupku je gen *Agouti*.

(a) Pokud se před tímto genem nachází na chromosomu nestabilní retrotransposon, je tento element nepravidelně metylován a exprese genu *Agouti* může být řízena ektopicky z promotoru retroelementu. Na obrázku jsou zleva do prava myšky se žlutým až tmavým fenotypem, což odpovídá nedostatečné až standardní úrovni metylace. Tmavý fenotyp (vpravo) se nazývá agouti a odpovídá přirozené expresi genu *Agouti*, tedy stejně jako s umlčeným retroelementem (Blewitt et al., 2006). Jelikož se metylační záznam vytváří v průběhu těhotenství matky, o barvě chloupků myši budoucí generace rozhoduje výživa matky. Pokud je tato dostatečně bohatá na potenciální zdroj metylových skupin (finálně S-adenosyl-L-metionin), je účinnost nastavení metylační inaktivace vysoká, promotor retroelementu je vypnut a gen *Agouti* je exprimován výhradně ze svého přirozeného promotoru: výsledkem je tmavé zbarvení srsti (Waterland a Jirtle 2003).

VII. EPIGENETIKA JAKO SOUČÁST ADAPTIVNÍCH SCHOPNOSTÍ ROSTLIN

Krytosemenné rostliny představují z mnoha důvodů ideální model ke studiu epigenetických procesů. Mají schopnost totipotence (extrémně vysoká regenerační schopnost), tedy každá – somatická či generativní buňka (spóra či gameta) – je v podstatě schopna dát vznik celému novému jedinci, což je jistě pro experimentátora velmi výhodné. Nepřítomnost pravé zárodečné dráhy pak umožňuje, aby buňky apikálních a axilárních



Obr. 7. Epigenetické řízení květního vývoje (podle Negrutiu et al., 2001). Změny v metylačních spetrech DNA často vedou k modifikaci květních částí. (a) Hypermetylace lokusu *Superman* vede ke zvýšení počtu prašníků či pestíků u *Arabidopsis thaliana* (Jacobsen a Meyerowitz, 1997). (b) Epigenetická inaktivace homologa genu *Cycloidea* je odpovědná za variabilitu květní symetrie u *Linaria vulgaris* (Cubas et al., 1999). (c) Globální hypometylace genomu dvoudomé *Silene latifolia* indukovala pohlavní reverzi ze samčího pohlaví na hermafroditní. Tato epimutace byla zřejmě lokalizována na chromozomu Y, protože ve zpětných kříženích vykázala holandrickou dědičnost (Janoušek et al., 1996).

meristémů po květní indukci předávaly svou genetickou i epigenetickou informaci do potomstva. Již klasickým modelem ke studiu epigenetických interakcí genomů jsou paramutace u kukuřice, později to bylo umlčování transgenů (realizováno na modelu s vysokou regenerační a transformační účinností – tabáku) a v současné době je to sledování mutantů a epialel u *Arabidopsis thaliana*. Je zajímavé, že především květní vývoj je vysoce citlivý za změny metylačního stavu jaderného genomu. Týká se to procesů květní indukce, symetrie květních částí i rozsahu a identity pohlavních orgánů (obr. 7).

VIII. EPIGENETICKÉ PŘÍČINY VROZENÝCH CHOROB ČLOVĚKA

Změna exprese imprintovaných genů (v důsledku nestandardní aktivace, inaktivace, delece nebo uniparentální disomie) má fatální důsledky na zdravotní stav plodu, dítěte nebo dospělé; obvykle jde o těžké mentálně-fyzické syndromy často provázené nádorovým bujením (obr. 8). Dalším příkladem imprintingu rozsáhlé oblasti genů je chromosom X u samic savců, který je paternálně inaktivován v trofoblastu placenty. Typickým rysem imprintovaných genů je jejich asynchronní replikace a odlišná metylace DNA: reprimované alely se replikují v S fázi buněčného cyklu později a mají obvykle vyšší stupeň metylace cytosinu. Epigenetické umlčování autosomálních genů nastoluje v podstatě hemizygotní stav organismu s ohledem na imprintované geny. Je zjevné, že hlavní význam parentálního imprintingu u savců spočívá v kontrolním mechanismu správného složení zygoty (a posléze diploidního individua) z jedné kompletní sady chromosomů matky a druhé sady z otce.

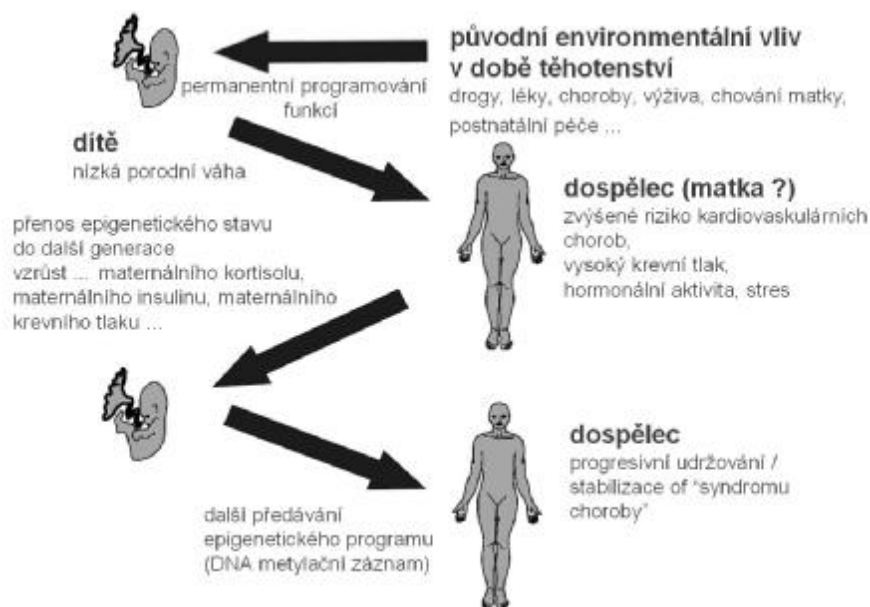


Obr. 8. Příklady chorob souvisejících s nesprávnou epigenetickou modulací genomu (obvykle chybná metylace DNA) či uniparentální disomií. (a,b) Ilustrace poruch parentálního imprintingu genů kódujících růstové faktory u člověka (odpovídá teorii parentálního konfliktu). Jinými slovy, „vítězství“ paternálních alel určitých lokusů může vést k

nadměrnému růstu plodu (Beckwith-Wiedemannův syndrom, a), naopak Pyrrhovo vítězství maternálních alel způsobuje potlačování růstu a trpasličí fenotyp (Russell-Silverův syndrom, b). (c,d) Ilustrace dvojice nejznámějších psychosomatických defektů souvisejících s chybným imprintingem na chromozomu 15, oblast q11-13. Lehčí Prader-Williův syndrom (c) je způsoben jedním otcovským dysfunkčním lokusem, u těžšího Angelmanova syndromu (d) je nefunkční lokus maternálního původu: oba odlišně imprintované lokusy jsou ve vazbě, což je pro tyto geny charakteristické. (e,f) Choroby související s chybnou metylací DNA u genů, vázaných na chromozom X. Martin-Bellův syndrom (fraxilní X, e) se vyskytuje převážně u mužů a je způsoben rozsáhlou amplifikací a metylací tripletu CGG v genu FMR1 kódujícím protein důležitý pro činnost mozku. Rettův syndrom (f) postihuje jen dívky, u chlapců vzhledem k jejich jedinému chromozomu X končí abortem. Jde u mutaci genu, který kóduje protein vážící se k metylované DNA a zajišťující inaktivitu takových sekvencí.

IX. ENVIRONMENTÁLNÍ OVLIVNĚNÍ EMBRYOGENEZE

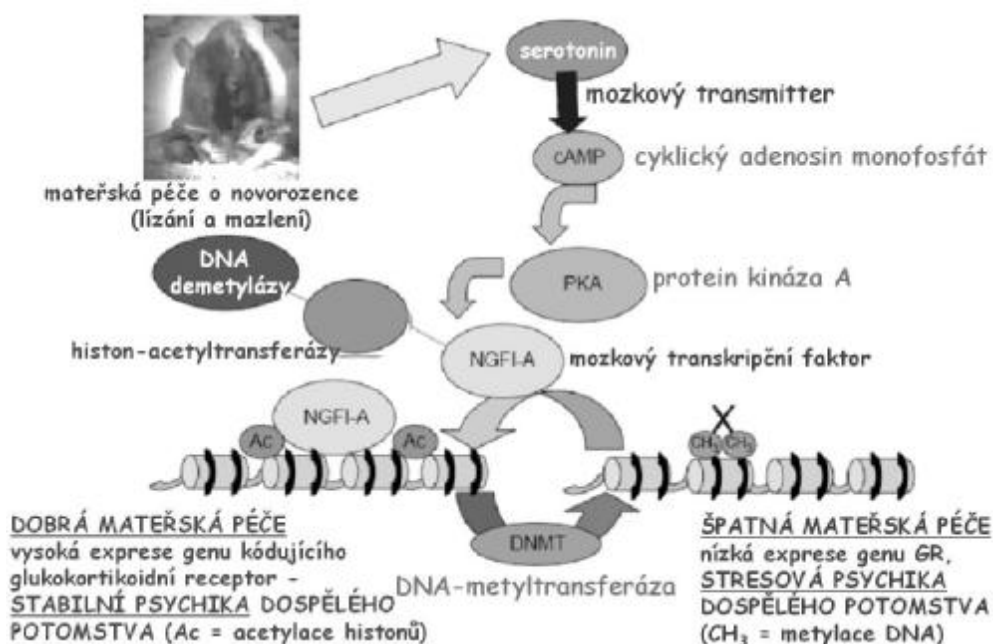
Je notoricky známo, že embryonální i fetální vývoj dítěte uvnitř těla matky je velmi citlivý na vnější vlivy: historicky demonstrováno na malformacích způsobených např. alkoholem, thalidomidem, či infekcí zarděnek. Podle recentních studií mohou negativní (environmentální) faktory, které ovlivňují fyzické i duševní zdraví matky, negativně ovlivnit i zdraví dítěte (zejména jeho porodní váhu a tendenci ke kardiovaskulárním poruchám) a tento syndrom může být epigeneticky fixován a předáván do dalších generací (obr. 9).



Obr. 9. Hypotetický model intergeneračního programování porodní váhy a rizika ke kardiovaskulárním chorobám (podle Drake a Walker, 2004). Expozice matky vůči nepříznivým vlivům prostředí může mít za následek vznik signálu v generaci F1, což vede k fyziologickým změnám a jejich expresnímu „nastavení“. Stav je stabilizován a předáván do dalších generací zřejmě prostřednictvím metylačního záznamu. Situace by mohla připomínat jev genetické asimilace Conrada Waddingtona.

Studie prováděné na březích krysách s embryi ve stádiu gonadální determinace ukázaly, že aplikace endokrinního toxinu vinclozinu (látky s antiandrogenním účinkem) indukovala adultní fenotyp generace F1 se sníženou spermatogenní schopností a s tendencí k samčí sterilitě (Anway et al., 2005). Tyto efekty se postupně objevovaly v celé populaci sameček po několika dalších generacích a korelovaly se změněnou metylací DNA. Výsledky tedy naznačují, že environmentální faktory mohou reprogramovat zárodečnou dráhu a způsobovat dědičná onemocnění.

Maternální péče zejména v postnatálním období je významným faktorem zdravého vývoje dítěte. Dosud se uvažovaly především faktory psychologické, poslední výzkumy však ukázaly, že může jít i o významné mechanismy epigenetické. Weaver et al. (2004) prokázali, že mazlení krysy matky s novorozenci u nich spouští kaskádu signálů, které vedou k aktivitě a epigenetické stabilizaci genu kódujícího glukokortikoidní receptor, který je podmínkou psychické stability. Tento epigenetický stav je v somatické linii předáván (hypometylace promotoru příslušného genu) a podmiňuje psychické zdraví zvířete až do dospělosti (obr. 10).



Obr. 10. Maternální programování epigenetických stavů (podle Meaney a Szyf, 2005). Dobrá mateřská péče potkaní matky v průběhu prvních 24 hodin po narození mláďat vede k aktivaci jejich serotoninu a poté je kaskádovou reakcí aktivován gen kódující glukokortikoidní receptor. Jeho promotor je demetylován a tato aktivace je replikativně udržována po celý život jedince: vede to k jeho vyšší odolnosti vůči stresu. Pokud matka o své novorozence řádně nepečuje, signální dráha není spuštěna, gen kódující glukokortikoidní receptor není aktivován a jedinec trpí stresovými stavy.

X. KLASIFIKACE EPIGENETICKÝCH JEVŮ

Existuje velké spektrum epigenetických jevů (od pozičního efektu, přes inaktivaci samičího chromozomu X u samic savců, paramutace, epimutace, parentální imprinting až po umlčování transgenů) i mechanismů, kterými jsou tyto jevy realizovány (metylace cytosinu, chemické modifikace histonů, 3-D struktura jádra, RNA interference). Na základě recentní analytické rešerše Erica Richardse (Richards, 2006) zde provedeme pokus o jistou klasifikaci či utřídění této široké problematiky.

1. Především můžeme rozdělit epialely na základě jejich obvyklého přenosu:

1.1. **Epialela se přenáší pouze v somatické linii**, tedy mechanismus je mitotický, zárodečnou dráhu nezahrnuje, není tedy dědičný. Tato kategorie nebyla dříve do epigenetiky zahrnována podle definice, že ... epigenetika se údajně týká pouze dědičných změn mimo sekvence DNA ... Jako příklady lze uvést inaktivaci chromozomu X u samic savců (záznam vzniká po invaginaci embrya a končí s životem jedince), lokální hypermetylace či hypometylace související s tvorbou nádorů (zejména demetylace nádorových supresorů) nebo vernalizaci u krytosemenných rostlin (aplikace nízké teploty na semena způsobuje změny v některých lokusech a indukuje kvetení: nikdy se nepřenáší do semenné generace).

1.2. **Epialela** se vyskytuje i v zárodečné dráze a s jistou pravděpodobností (neúplná penetrance a variabilní expresivita) **se přenáší do pohlavního potomstva**. Pokud jsou penetrance a expresivita lokusu relativně vysoké, takový gen se chová jako mendelistický a lze vyslovit jeho dědičnou prognózu. Pokud jsou penetrance a expresivita epigenetického lokusu nízké, exprese genu je nestabilní a prognóza obtížná (např. Huntingtonova chorea). Klasickými příklady jsou epialela *Agouti viable yellow* (barva srsti a obezita u myši), epialela lokusu *Cycloidea* (gen květní symetrie u lnice) či gen *Superman* (jeho hypermetylované alely zvané Clark odpovídají za katastrální změny ve tvorbě pohlavních orgánů ve květech *Arabidopsis thaliana*).

2. Podle toho, jak meiotická transmise výsledných epigenetických stavů závisí na genotypu, můžeme rozlišit tři třídy epigenetické variability:

2.1. **Epigenotyp lokusu je striktně determinován genotypem**: epigenotyp je obligatorním fenotypem alternujících genotypů. Penetrance a expresivita jsou v těchto případech vysoké. Patří sem například sex-specifický parentální imprinting u savců či striktně maternální exprese genu *Medea* u krytosemenných rostlin.

2.2. Druhou třídou je tzv. „usnadněná“ **epigenetická variabilita**, která funguje v „pravděpodobnostním“ režimu, obvykle v kontextu s genotypem. Penetrance a expresivita

jsou při přenosu variabilní. Příkladem jsou již jmenované lokusy *Agouti viable yellow* v samičí zárodečné dráze u myši nebo *Superman* v DNA-metylačních mutantech (DDM) u *Arabidopsis*.

2.3. **Stochastické případy** dávají vznik alternativním epialelům v omezené četnosti, bez ohledu na genotyp. Penetrance a expresivita jsou u těchto epialelů nízké. Jako příklad lze uvést náhodné změny metylací u člověka v průběhu stárnutí či divergence epigenomů v průběhu života u jednovaječných dvojčat (Fraga et al., 2005). Tyto případy uvádí Richards (2006), nejde však o meiotickou transmissi. Stochasticky četné epialely se vyskytují především u rostlin, například při regeneraci z explantátových kultur *in vitro* (somaklonální variabilita).

3. Epigenetika může být charakterizována jako „měkká dědičnost (lamarckistická soft inheritance)“. Znamená to, že tvorba epialelů je do jisté míry vyvolávána prostředím nebo chováním jedince či buňky. Četnost epimutací i jejich reverzí jsou řádově vyšší než u pravých mutací (které se podle neodarwinistů nazývají „hard inheritance“, odolné vůči vlivům prostředí). Recentní výsledky ukazují, že epigenetické stavy (alele) mohou být ovlivňovány prostředím, odtud používaný termín **environmentální dědičnost** („environmental inheritance“).

3.1. První skupinou tvorby epigenotypů indukovaných prostředím jsou **změny meioticky nepřenášené**. Jak již bylo uvedeno výše, tyto epimutace obvykle nezasahují zárodečnou dráhu, proto taky jejich pohlavní přenos není očekáván. Patří sem již uvedené příklady chladového působení na semena (vyvolává změny struktury chromatinu a časné kvetení rostlin), změny metylace DNA v důsledku dietního režimu u hlodavců (projev genu *Agouti*) nebo remodelování epigenetických stavů glukokortikoidního receptorového genu v důsledku mateřské péče o novorozence.

3.2. Konečně poslední skupinou epimutací jsou **změny vyvolané prostředím, které se s jistou četností meioticky přenášejí do potomstva**. Tyto epigenetické jevy jistě evokují již mnohokrát odmítanou teorii o dědičnosti získaných znaků („ghost of Lamarck“). Mechanismy těchto přenosů nejsou v některých případech ještě zcela objasněny a budou jistě vyžadovat ověření a další kritické hodnocení. Z oblasti genetiky savců sem patří dědičné poruchy samčí fertility po aplikaci disruptorů endokrinních funkcí na gravidní krysy (Anway et al., 2005) či intergenerační účinky fetálního programování – epigenetické mechanismy dědičnosti nízké porodní váhy a rizika kardiovaskulárních onemocnění u člověka (Drake and Walker, 2004). Klonování savců (myši) cestou transplantace jader somatických buněk vede k dědičným změnám genové exprese, růstovým defektům (nadměrný fetální růst) a chybám v metylaci DNA (Roemer et al., 1997). U rostlin jsou tyto dědičné, prostředím indukované změny ještě

výraznější vzhledem k nepřítomnosti zárodečné dráhy i indeterminantnímu typu individuálního vývoje. Jako příklady lze uvést částečně dědičné genotropy lnu indukované podnebím či výživou (Cullis, 2001) nebo chemicky indukovanou dědičnou pohlavní reverzi u dvoudomé silenky (Vyskot, 1999).

CITOVANÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA

- Anway, M.D., Cupp, A.S., Uzumcu, M. and Skinner, M.K.: Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 308(2005)1466.
- Bender, J.: Plant epigenetics. *Curr. Biol.* 12(2002)R412.
- Bird, A.: DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Devel.* 16(2002)6.
- Blewitt, M.E., Vickaryous, N.K., Paldi, A., Koseki, H. and Whitelaw, E.: Dynamic reprogramming of DNA methylation at an epigenetically sensitive allele in mice. *PLoS Genet.* 2(2006)e49.
- Cubas, P., Vincent, C. and Coen, E.: An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry. *Nature* 401(1999)157.
- Cullis, C.A.: Mechanisms and control of rapid genomic changes in flax. *Ann. Bot.* 95(2005)201.
- Drake, A.J. and Walker, B.R.: The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk. *J. Endocrinol.* 180(2004)1.
- Fraga, M.F. et al.: Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102(2005)10604.
- Gilbert, S.: Mechanisms for the environmental regulation of gene expression: ecological aspects of animal development. *J. Biosci.* 30(2005)65.
- Griesemer, J.: What is „epi“ about epigenetics? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 981(2002)97.
- Henikoff, S.: Rapid changes in plant genomes. *Plant Cell* 17(2005)2852.
- Holliday, R.: Epigenetics. A historical overview. *Epigenetics* 1(2006)76.
- Jaenisch, R. and Bird, A.: Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genet. Suppl.* 33(2003)245.
- Jacobsen, S.E. and Meyerowitz, E.M.: Hypermethylated *Superman* epigenetic alleles in *Arabidopsis*. *Science* 277(1997)1100.
- Janoušek, B., Šíroký, J. and Vyskot, B.: Epigenetic control of sexual phenotype in a dioecious plant, *Melandrium album*. *Mol. Gen. Genet.* 250(1996)483.
- Johnson, J., Bagley, J., Skaznik-Wiekel, M., Lee, H.-J., Adams, G.B., Niikura, Y., Tschudy, K.S., Tilly, J.C., Cortes, M.L., Forket, R., Spitzer, T., Iacomini, J., Scadden, D.T. and Tilly, J.L.: Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* 122(2005)303.
- Meaney, M.J. and Szyf, M.: Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? *Trends Neurosci.* 28(2005)456.

- Negrutiu, I., Vyskot, B., Barbacar, N., Georgiev, S. and Moneger, F.: Dioecious plants. A key to the early events of sex chromosome evolution. *Plant Physiol.* 127(2001)1418.
- Pembrey, M.E., Bygren, L.O., Kaati, G., Edvinsson, S., Northstone, K., Sjöström, M. and Golding, J.: Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur. J. Human Genet.* 14(2006)159.
- Petronis, A.: Human morbid genetics revisited: relevance of epigenetics. *Trends Genet.* 17(2001)142.
- Rakyan, V.K., Chong, S., Champ, M.E., Cuthbert, P.C., Morgan, H.D., Luu, K.V.K. and Whitelaw, E.: Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin-Fused allele occurs after maternal and paternal transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100(2003)2538.
- Reik, W., Dean, W. and Walter, J.: Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293(2001)1089.
- Richards, E.J.: Inherited epigenetic variation – revisiting soft inheritance. *Nature Rev. Genet.* 7(2006)395.
- Roemer, I., Reik, W., Dean, W. and Klose, J.: Epigenetic inheritance in the mouse. *Curr. Biol.* 7(1997)277.
- Slack, C.H.: Conrad Hal Waddington: the last renaissance biologist? *Nature Rev. Genet.* 3(2002)889.
- Vyskot, B.: The role of DNA methylation in plant reproductive development (Ainsworth, C.C., ed.: Sex Determination in Plants), 101-120, BIOS Oxford, 1999.
- Vyskot, B.: Přehled vývojové biologie a genetiky. Skriptum ÚMG AV ČR Praha, 1999
- Vyskot, B. and Hobza, P.: Gender in plants: sex chromosomes are emerging from the fog. *Trends Genet.* 20(2004)432.
- Waterland, R.A. and Jirtle, R.L.: Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol. Cell. Biol.* 23(2003)5293.
- Weaver, I.C.G., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Allesio, A.C.D., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M. and Meaney, M.J.: Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neurosci.* 7(2004)847.
- Zukerman, S.: The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Progress Hormonal Res.* 6(1951)63.

KLÍČOVÁ SLOVA

epigenetika, metylace DNA, nukleozomální histony, umlčování genů, imprinting, somatická linie, zárodečná dráha, epimutace, penetrance a expresivita genů