

Ako môže prostredie ovplyvniť naše gény?

28. 3. 2018

STRETNUTIE KLUBU UČITEĽOV GEOVIED

Katedra genetiky PriF UK



PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA

PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA > PRACOVISKÁ > Biologická sekcia > Katedra genetiky

KATEDRA GENETIKY

Úvod

"Genetika nie je súradá ktorý cez plot dáva dobre mienené rady... V súčasnosti je genetika centrárou pre všetky biologické vedné disciplíny", píše Robert Plomin a jeho spoluautori v najnovom vydaní učebnice Behavioral Genetics. **Moderná genetika má esenciálnu úlohu pre integráciu prírodných a sociálnych vied a nové možnosti poskytnuté súčasnou metodológiou sú obrovskou výzvou.**

Každý, kto má seriózny záujem sôta výzvu prijať, má možnosť získat formálne genetické vzdelanie na **najstaršej slovenskej Katedre Genetiky** (založenej v roku 1968) zaoberajúcej sa výskou klasickj i modernej genetiky. Prednáškové kurzy, semináre a cvičenia a možnosť pracovať počas štúdia v laboratóriách na vlastných projektoch, pripravujú študentov na vzrušujúcu kariéru experimentálnych i klinických genetikov, nachádzajúcich uplatnenie nielen na domácom, ale aj na špičkových zahraničných pracoviskách. Naši učatelia, vedci i aj technickí pracovníci sú presvedčení, že sa asistencie našich talentovaných študentov je Katedra atraktívnym vzdelávacím a výskumným pracoviskom.

O katedre

Pracovisko sa dlhodobo venuje štúdiu **molekulárných mechanizmov opravy poškodení DNA** u viacerých modelových eukaryotických organizmov a tich **modulácie počas bunkového cyklu, resp. vplyvom bioaktívnych látok**. V spolupráci s Katedrou biochémie sa študujú **mechanizmy replikácie lineárných DNA molekúl v jadre i mitochondriách** vybraných eukaryotických buniek, so zameraním na **štúdium stabilizácie ich koncov (telomér) a s implikáciami pre bunkovú senescenciu a nádorovú transformáciu**. **Molekulárne mechanizmy zabezpečujúce správnu segregáciu chromozómov počas mitózy a meiózy** sa študujú na modelovej kvásinke *S. pombe*. Okrem toho sa študujú **molekulárne princípy koordinácie funkcií organel eukaryotickej bunky**. V spolupráci s Katedrou mikrobiológie a virológie sa študujú **molekulárne mechanizmy odpovede patogénnych mikroorganizmov na vonkajšiu vyvolávajúcu chemickú a oxidatívny stres**. V oblasti rastlinnej genetiky sa rieši **populačno-genetická analýza rôznych druhov plienice a ich evolučného pôvodu**. V spolupráci s Ústavom experimentálnej endokrinológie sa **študuje genetická kontrola ontogenézy u *Drosophila melanogaster***.

V **medzinárodnej činnosti**, opšobujúcej u kontexte vedeckého zamerania Katedry, má pracovisko

<https://fns.uniba.sk/kge/>



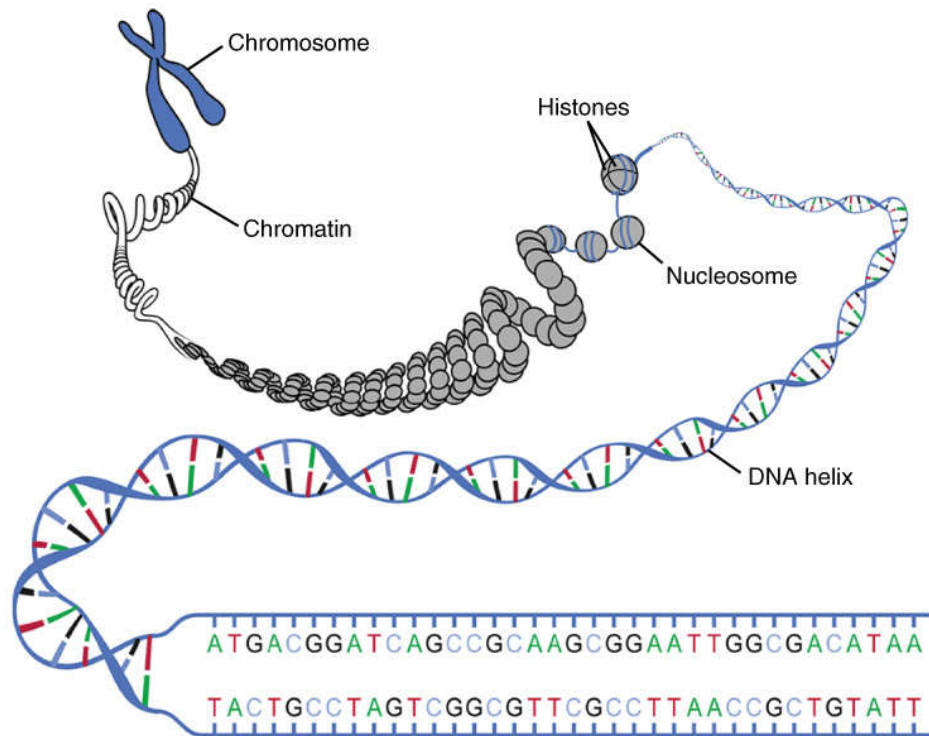
Biológia

pre 2. ročník gymnázia
a 6. ročník gymnázia s osemročným štúdiom

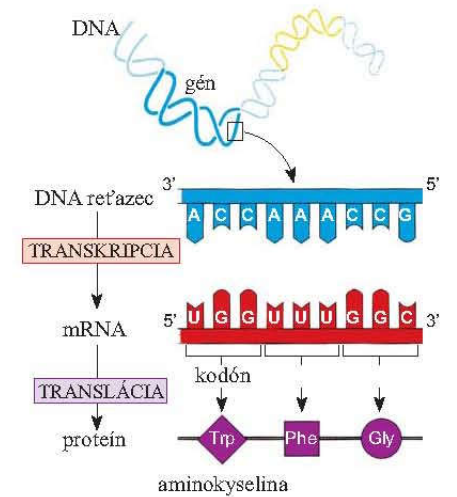
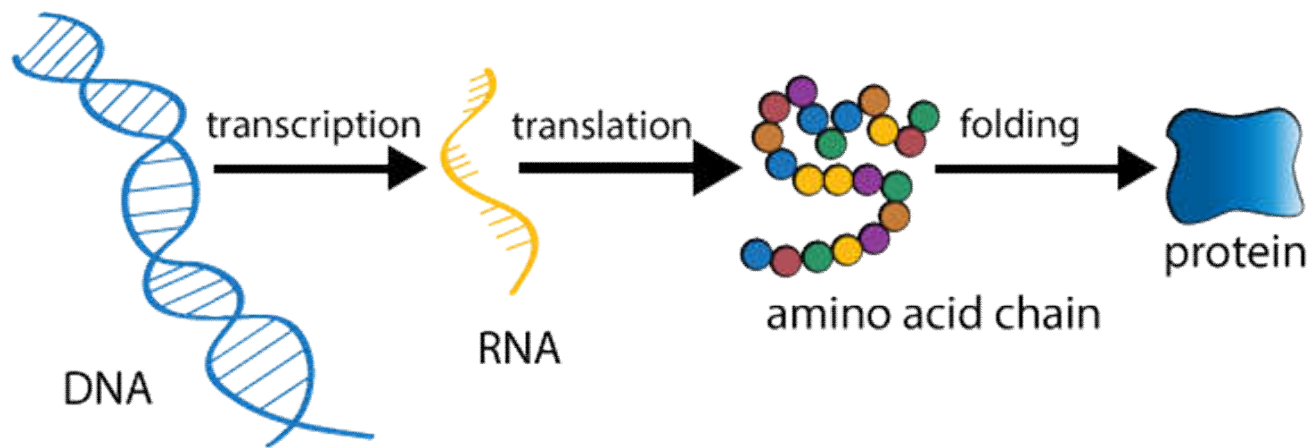
Obsah prednášky

- Ako prostredie ovplyvňuje náš genóm I – poškodenie DNA a mutácie
- Ako prostredie ovplyvňuje náš genóm II – základné princípy epigenetiky

Genetická informácia väčšiny organizmov je uložená v DNA

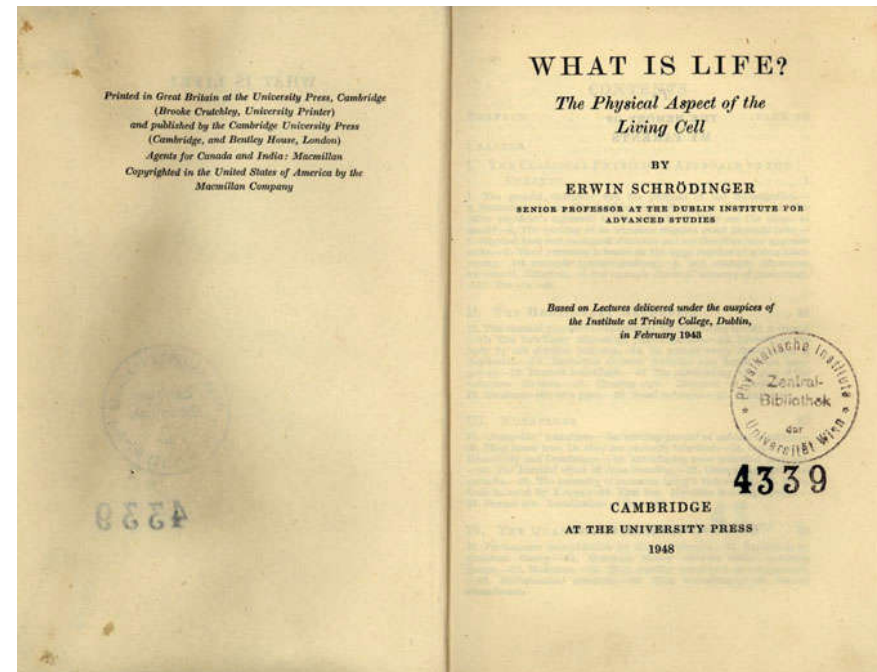


Expresia genetickej informácie



4.42. Prepis z poradia nukleotidov DNA do poradia aminokyselín v polypeptidovom reťazci

Erwin Schrödinger*: „Makromolekula, v ktorej je zakódovaná genetická informácia, by mala byť výnimočne stabilná.“

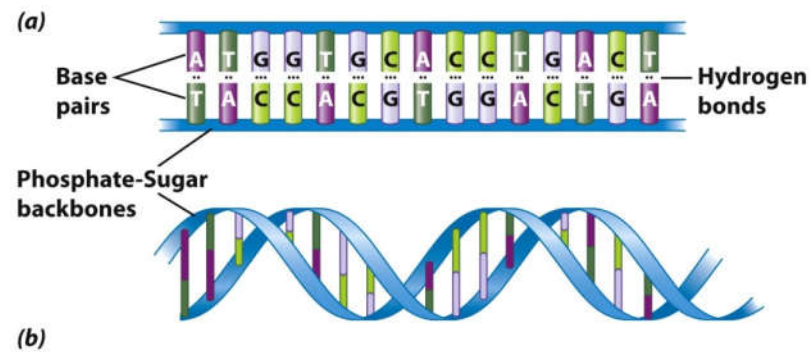
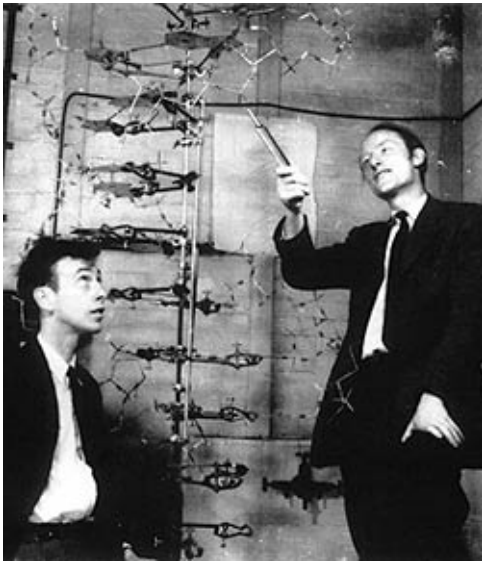


Čo je život? (1944)



* 1933 Nobelova cena za fyziku (spolu s Paulom Diracom)

DNA nie je statická, ale podlieha zmenám

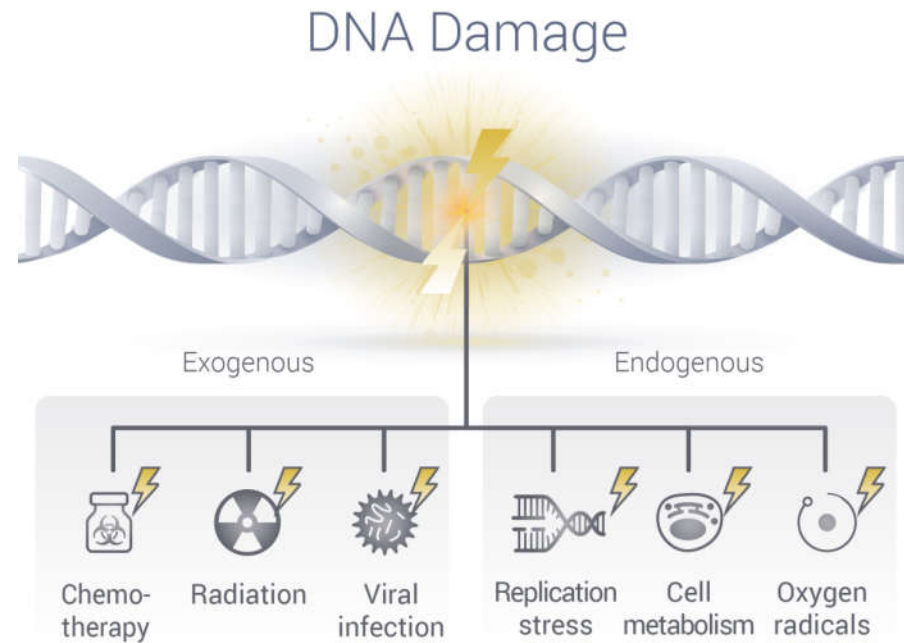


James D. *Watson*, Francis *Crick* - objav štruktúry DNA (1953)



1962 Nobelova cena za fyziológiu a medicínu (spolu s Mauricom Wilkinsom)

DNA nie je statická, ale podlieha zmenám



Indukované poškodenia DNA

3 skupiny mutagénov:

- ▶ Fyzikálne – UV žiarenie, ionizačné žiarenie
- ▶ Chemické – alkylačné látky, interkalačné agensy ...
- ▶ Biologické – vírusy, transpozóny ...

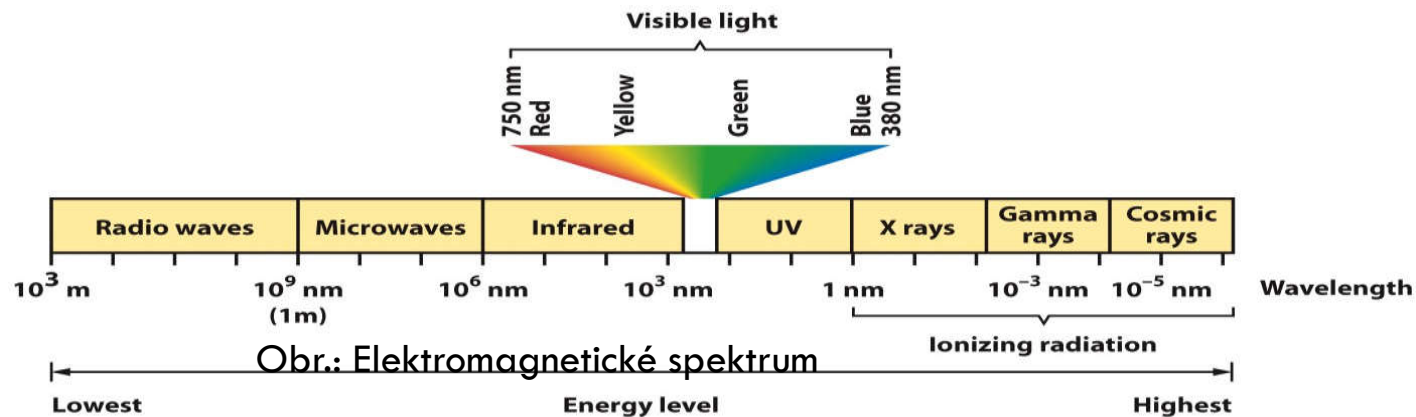


objav, že dedičné zmeny – mutácie môžu vznikáť pôsobením X žiarenia (Nobelova cena za fyziológiu a medicínu 1946)

Hermann Joseph Müller



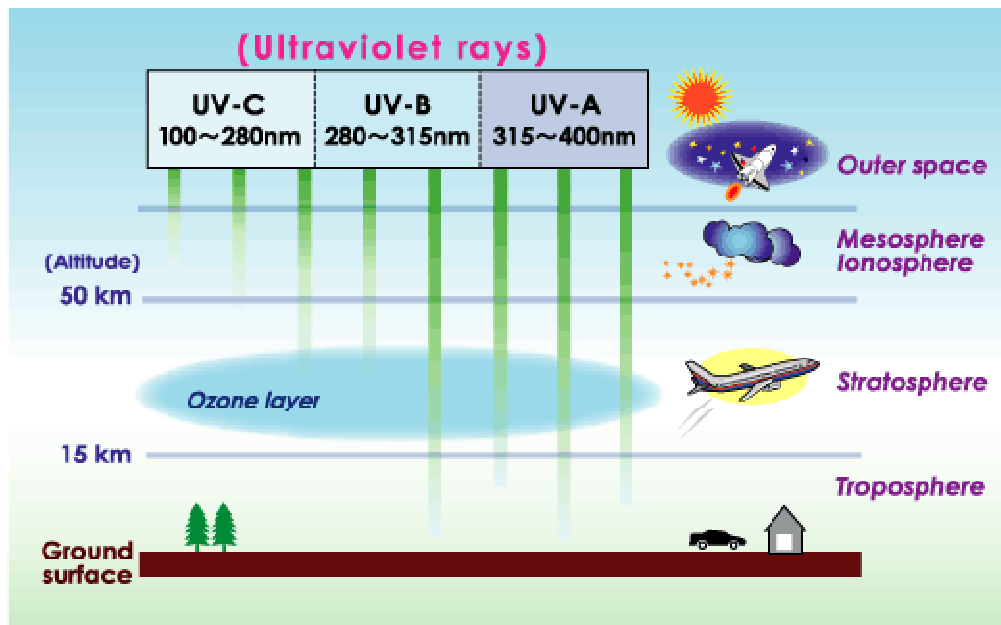
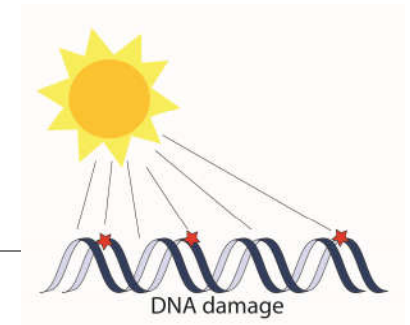
Fyzikálne mutagény



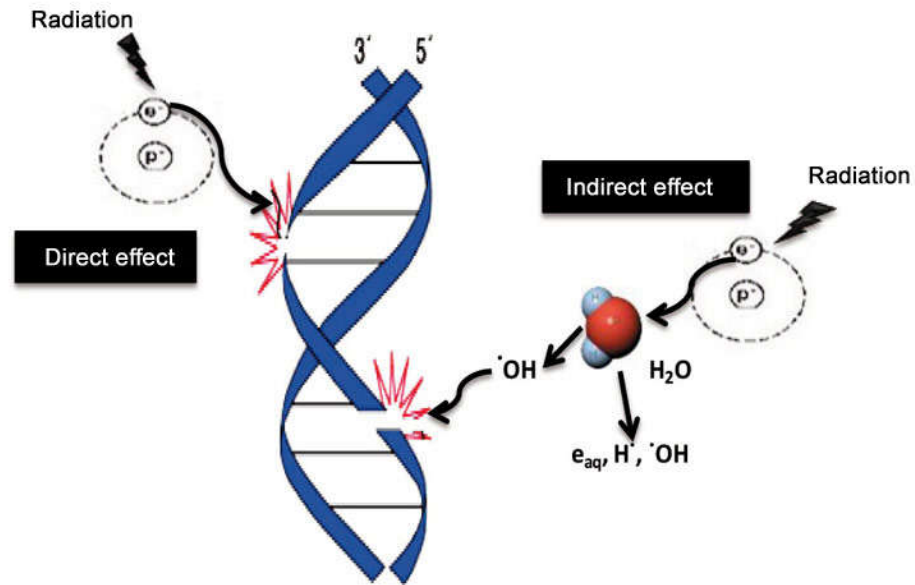
Ionizačné žiarenie (X-žiarenie, gama) spôsobuje mutácie ionizáciou molekúl
UV žiarenie spôsobuje mutácie excitáciou molekúl.

Žiarenie nevytvára nové typy mutácií, ale len zvyšuje frekvenciu tých istých mutácií, ktoré vznikajú spontánne.

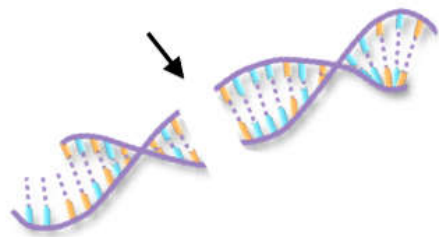
UV žiarenie



Priamy a nepriamy vplyv žiarenia

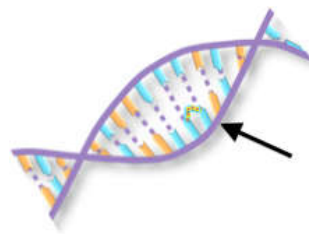


Účínok žiarenia



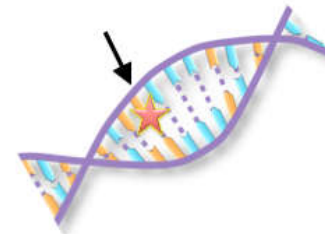
Type of Damage: Double-strand break

- Common Causes:
- Normal cellular activity
 - Ionizing radiation (including X-rays)
 - Chemotherapeutic drugs
 - DNA repair of other types of damage



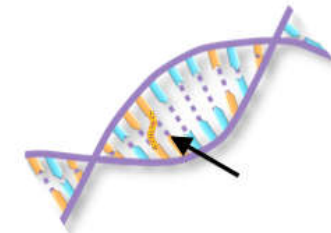
Chemical bond between neighboring nucleotides

- Ultraviolet (UV) light



Chemical modification of a nucleotide

- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals
- Normal modifications that regulate what genes are active

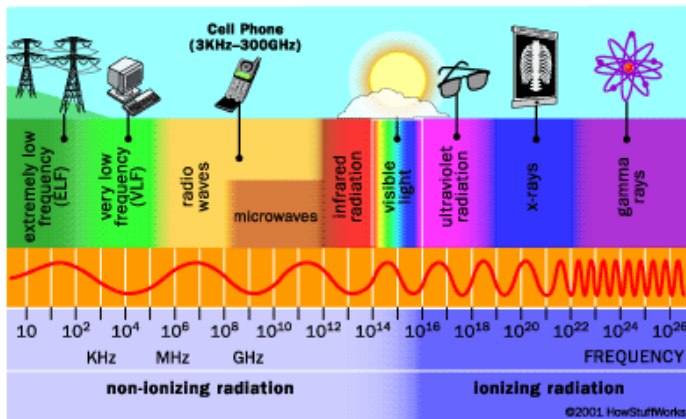


Chemical Linkage of Two Strands

- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals



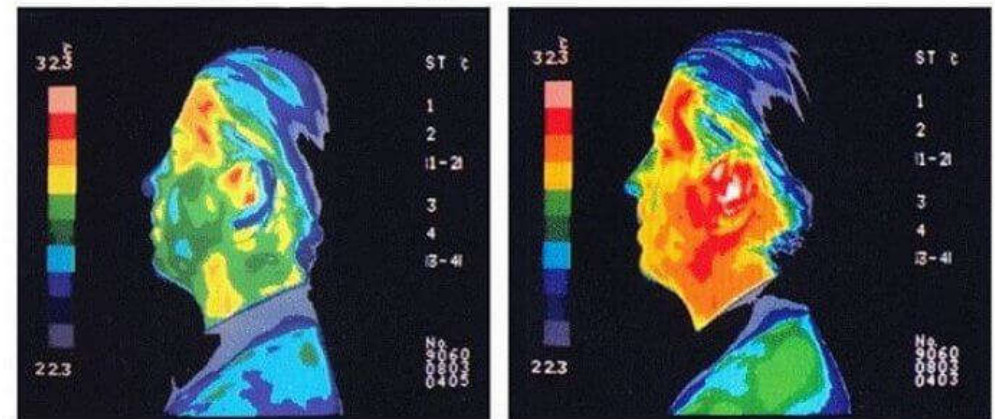
Žiarenie emitované mobilnými telefónmi



Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) ho zaradila do skupiny 2B, t.j. agensy potenciálne spôsobujúce rakovinu.

Thermal Effects

Heat generated on the face by 15 minutes of cell phone use due to their electromagnetic radiation



Before using mobile phone

After using 15 minute mobile phone

Chemické mutagény

- 1942 Auerbachová – dokázala, že chemické látky (dusíkatý yperit) spôsobuje mutácie v bunkách
- Konzervačné látky, pesticídy, polycyklické aromatické uhľovodíky, ťažké kovy...

Typy:

Analógy báz

Interkalačné činidlá

Látky, ktoré chemicky menia DNA

Látky, ktoré vytvárajú reťazcové väzby

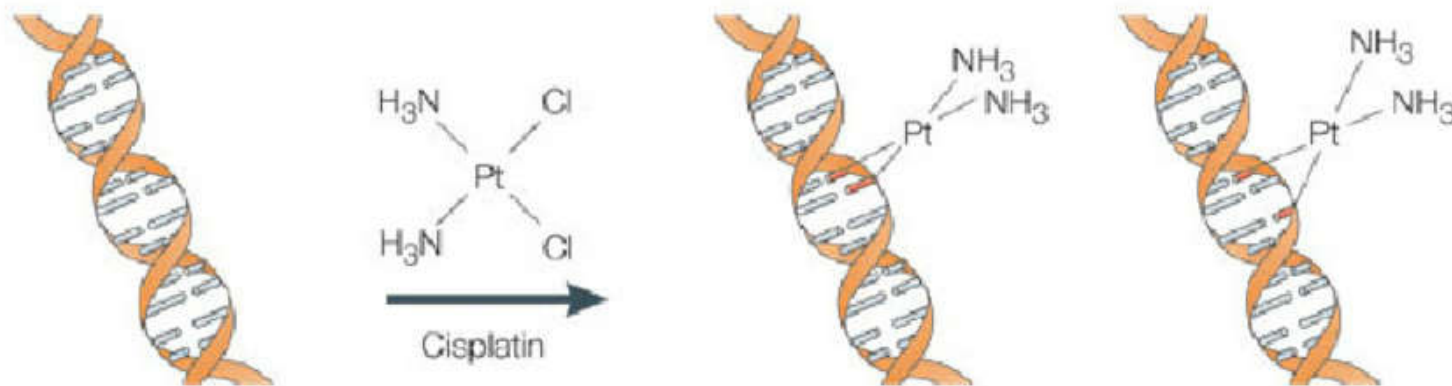
Alkylačné látky



Chemické mutagény

- látky, ktoré vytvárajú reťazcové väzby

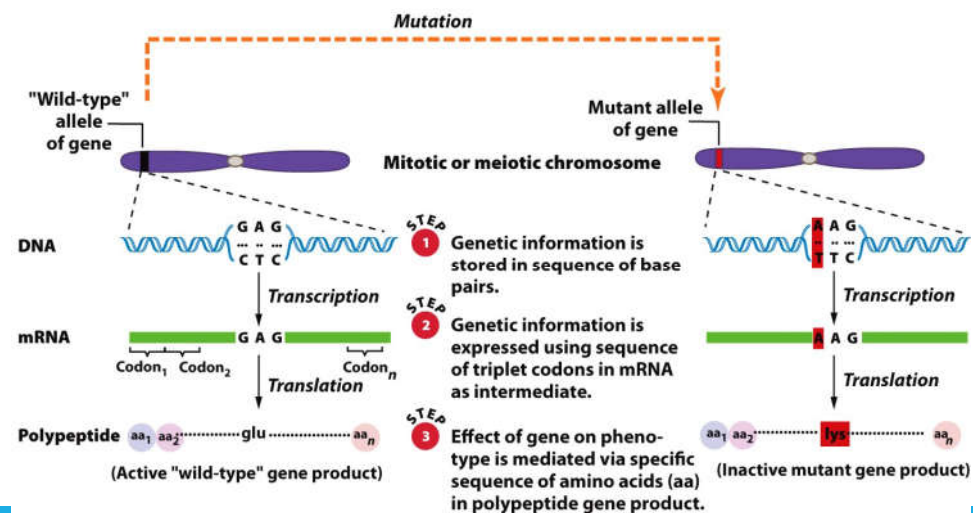
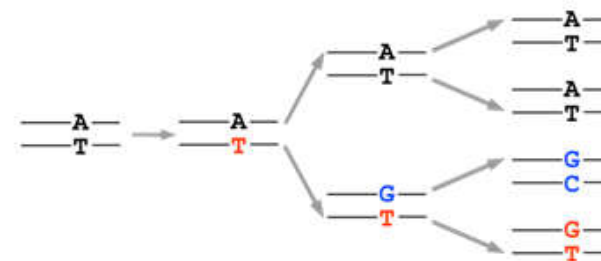
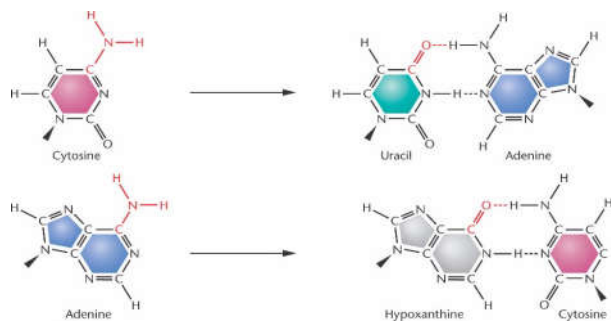
cis-platina - cytostatikum



Chemické mutagény

- látky, ktoré chemicky menia DNA

kyselina dusitá spôsobuje modifikáciu báz

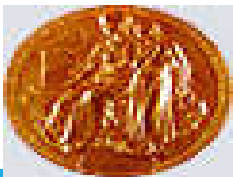


Biologické mutagény

- Mobilné genetické elementy – 40. roky 20. stor., Barbara Mc Clintock u kukurice spôsobujú inzercie, delécie a translokácie



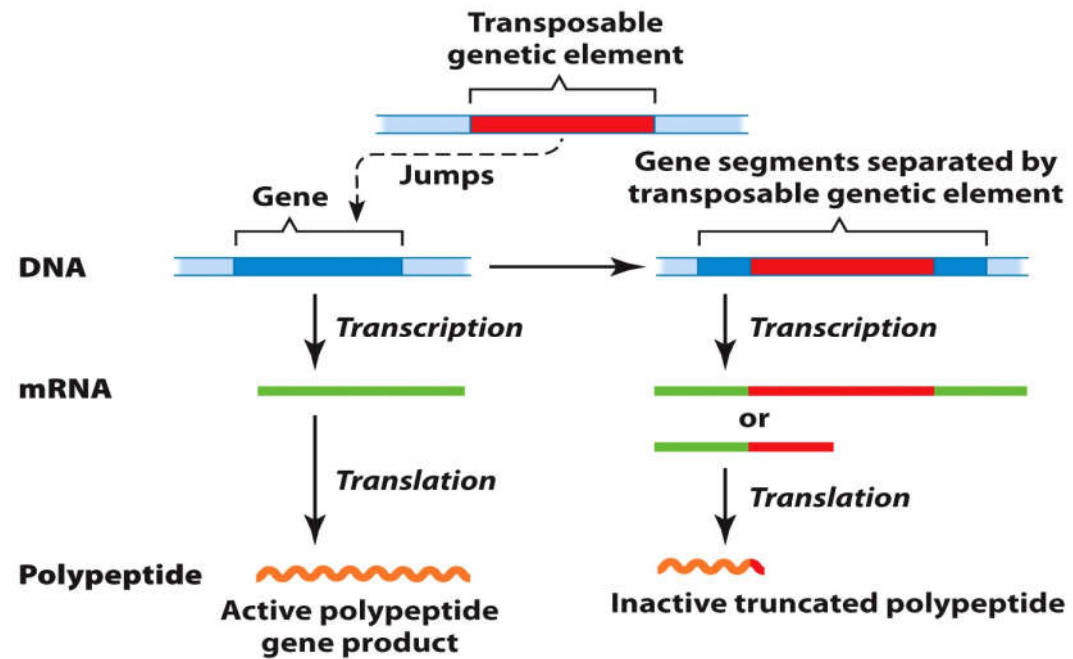
- Vírusy



B. Mc Clintock (1902-1992) 1983 Nobelova cena za objav mobilných genetických elementov



Biologické mutagény - mutácie indukované transpozónmi



Poškodenie DNA

mutagénne

**zmenená expresia
génov**

**neblokuje replikáciu
DNA**

neblokuje transkripciu

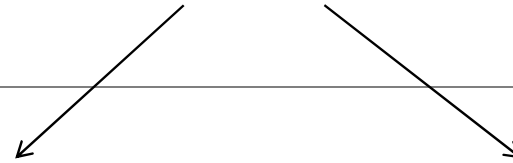
cytotoxické

blokuje replikáciu DNA

blokuje transkripciu

**blokuje segregáciu
chromozómov**

Poškodenie DNA



mutagénne

zmenená expresia
génov

neblokuje replikáciu
DNA

neblokuje transkripciu

presnosť replikácie ↓
mutácie ↑
karcinogenéza ↑

cytotoxické

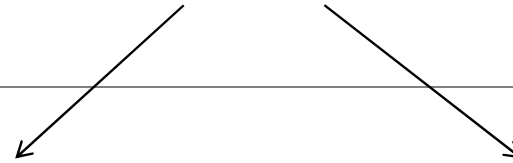
blokuje replikáciu DNA

blokuje transkripciu

blokuje segregáciu
chromozómov



Poškodenie DNA



mutagénne

zmenená expresia
génov

neblokuje replikáciu
DNA

neblokuje transkripciu

presnosť replikácie ↓
mutácie ↑
karcinogenéza ↑



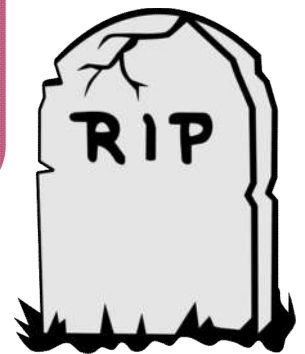
cytotoxické

blokuje replikáciu DNA

blokuje transkripciu

blokuje segregáciu
chromozómov

zastavenie delenia
smrť bunky
starnutie



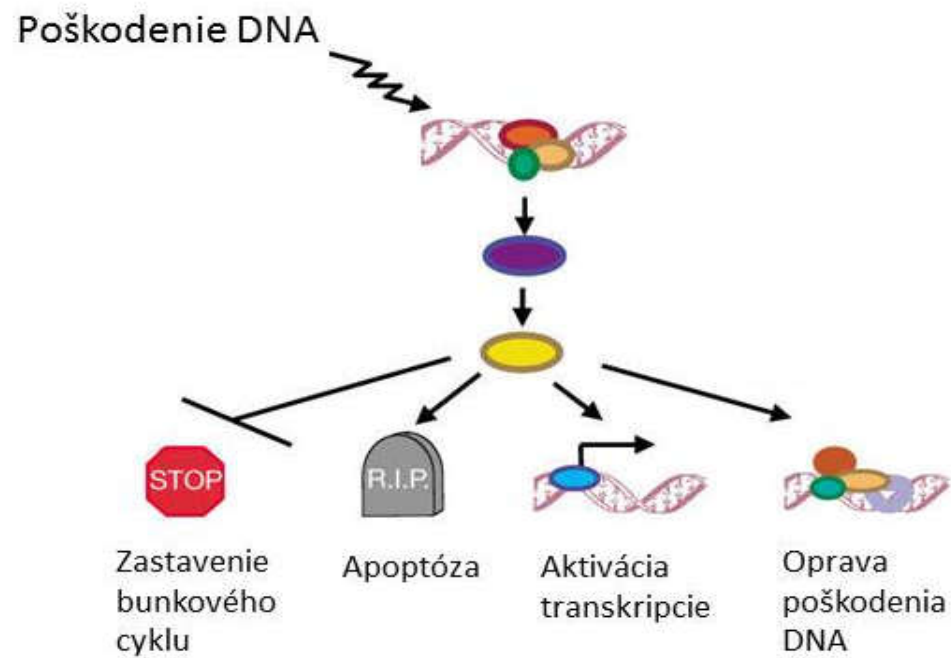
Potreba eliminácie DNA poškodení

V bunke vznikne každý deň 10000 - 20000 ($1-2 \times 10^4$) poškodení DNA .

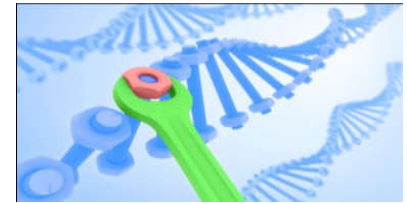
V ľudskom tele (10^{12} buniek) treba denne opraviť približne **1 000 000 000 000 000 000** DNA poškodení ($1 \times 10^{16} - 10^{18}$).

Napriek tomu, že bunka má mechanizmy na elimináciu takýchto poškodení, niektoré z nich nie sú opravené , čoho dôsledkom dochádza k vzniku mutácií, starnutiu a rôznym ochoreniam, vrátane karcinogenézy a neurodegenerácie.

Odpoveď bunky na poškodenie DNA



Existencia reparačných mechanizmov



Zdravá bunka má mechanizmy na elimináciu poškodení DNA

Rýchlosť vzniku DNA poškodení = rýchlosť opravy DNA poškodení

Postihnutá bunka

Rýchlosť vzniku DNA poškodení > rýchlosť opravy DNA poškodení

=> mutácie, karcinogenéza, apoptóza, senescencia



Dôsledky porúch opravy DNA u ľudí



Xeroderma Pigmentosum (XP)

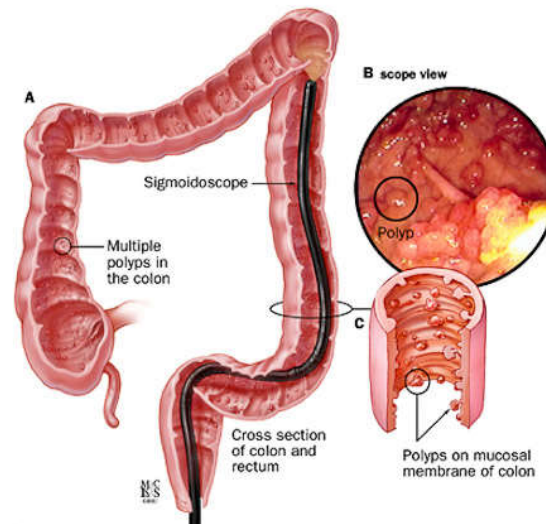
- UV senzitivita
- nízky vzrast
- neurologické abnormality
- častá rakovina



Cockaynov syndróm (CS)

- UV senzitivita
- mentálna retardácia
- neurologické a vývinové poruchy
- predčasné starnutie

Dôsledky porúch opravy DNA u ľudí



Hereditárny nonpolypózny
kolorektálny karcinóm

Mutácia – nie vždy negatívna

Somatická mutácia vytvorená u jablák Delicious



Pôvodná mutácia vznikla v somatických bunkách – somatická mozaika

Vegetatívne rozmnožovanie umožnilo zachovanie mutácie

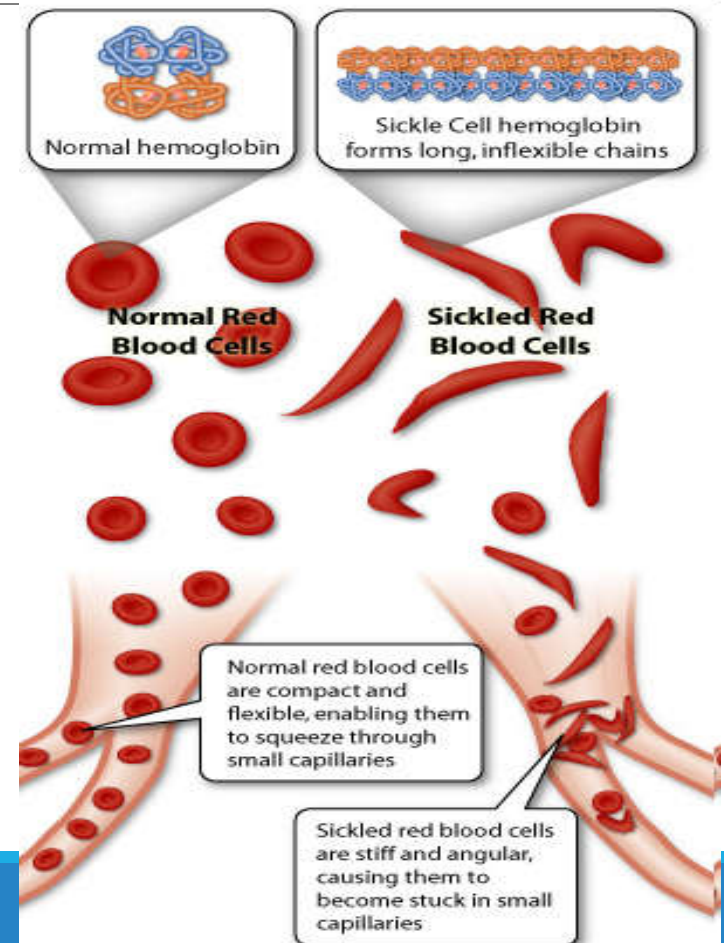
Mutácie v génoch kódujúcich globíny u človeka

HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):

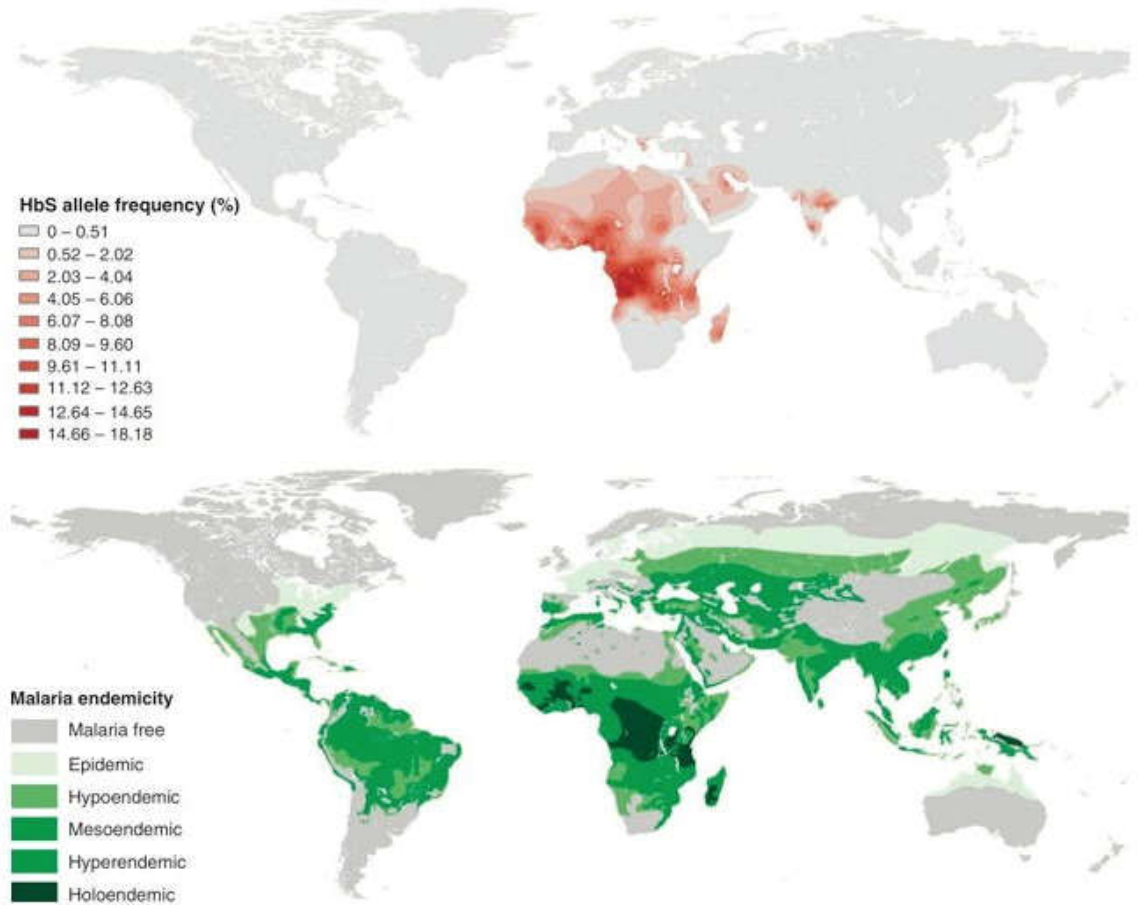
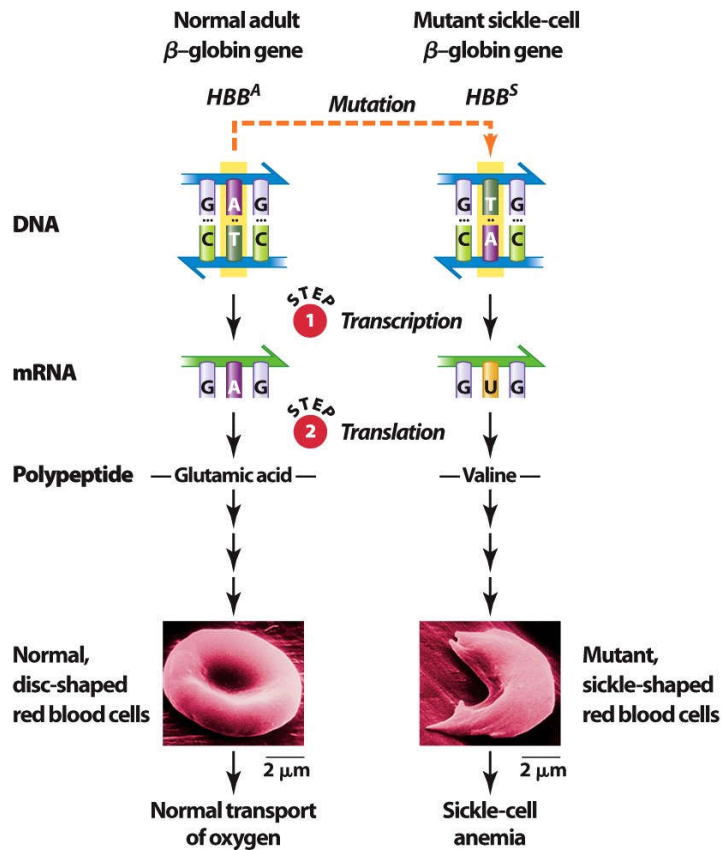
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	 3			 6			 9

HBB Sequence in Mutant Adult Hemoglobin (Hb S):

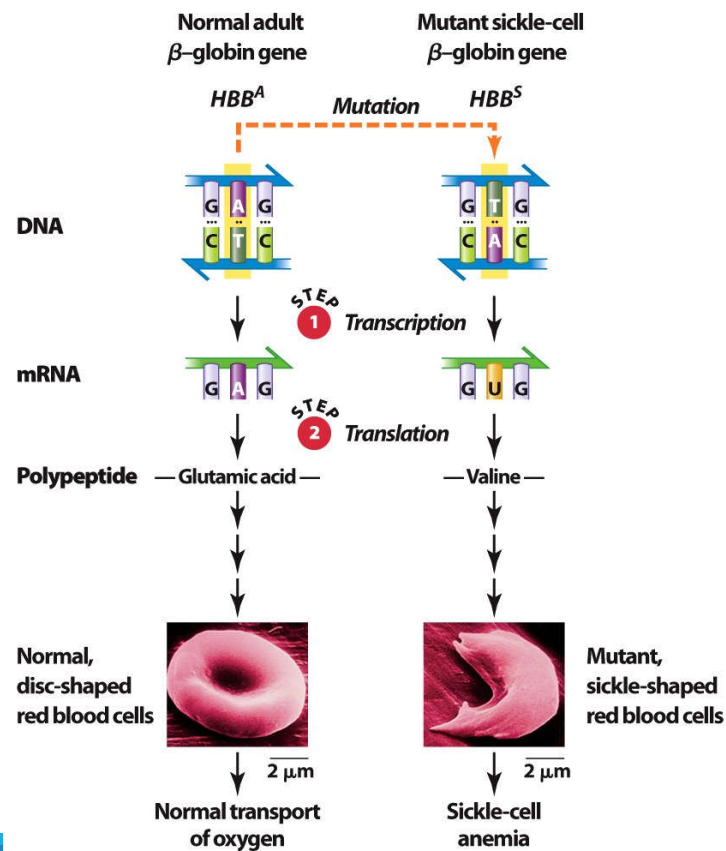
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	Ser
	 3			 6			 9



Niektoré mutácie môžu poskytovať selekčnú výhodu



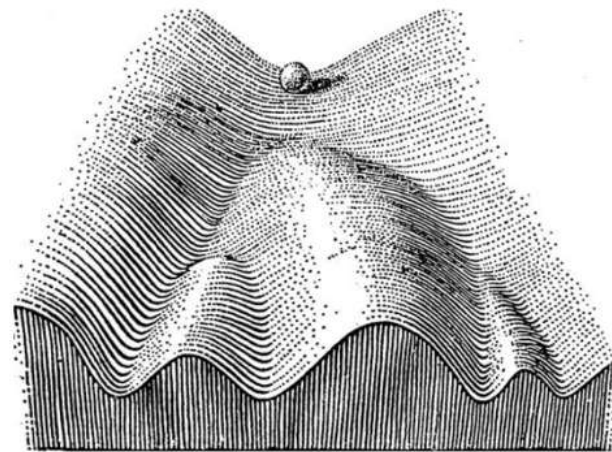
Niektoré mutácie môžu poskytovať selekčnú výhodu



Ako inak môže prostredie ovplyvňovať naše gény?



C.H. Waddington



Waddington's Epigenetic Landscape

Vývinový biológ C.H.Waddington použil pojem epigenéza – výsledná forma organizmu vzniká postupnými kreatívnymi procesmi (symbióza genetiky a vývinovej biológie).

Epigenetická krajina – Conrad H. Waddington

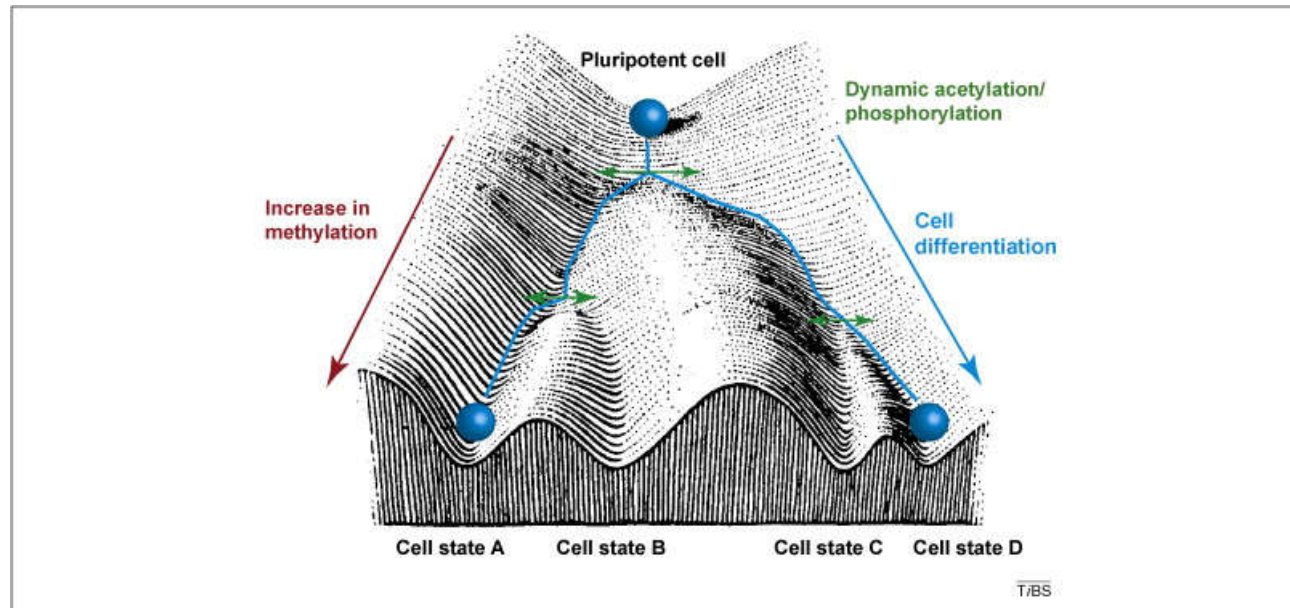
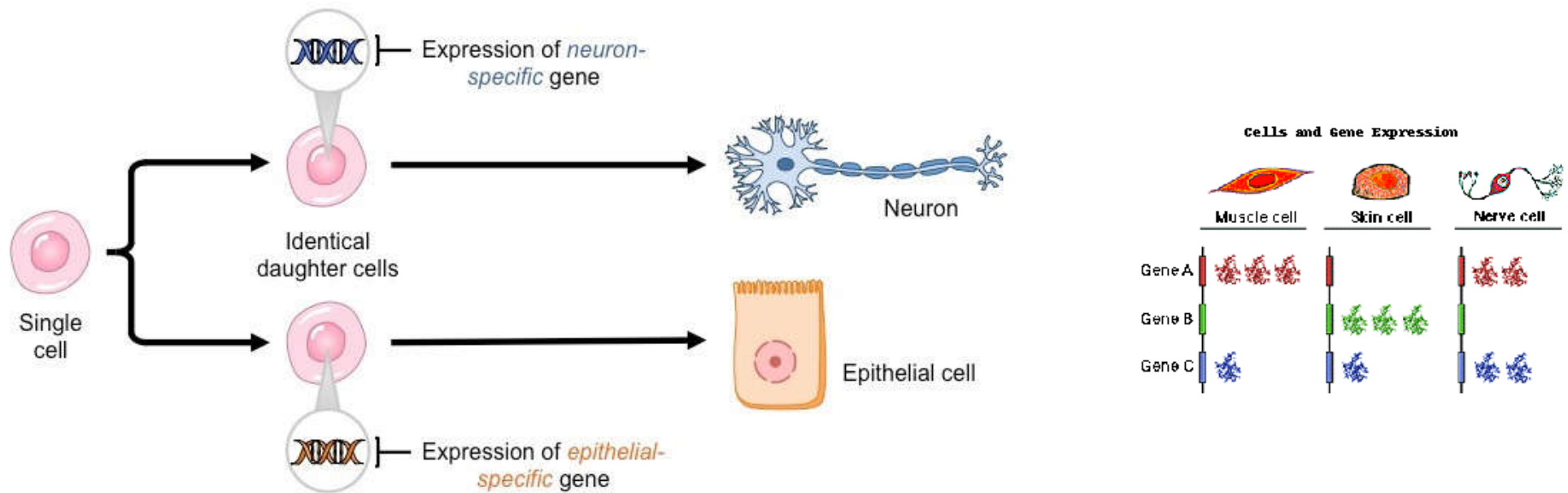


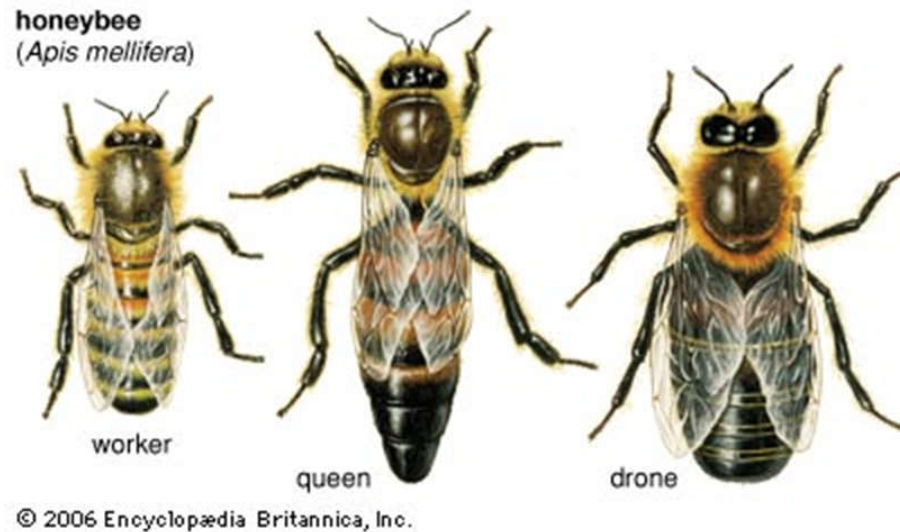
Figure : Integrating different histone modification types in Waddington's Epigenetic Landscape. The model presented by Conrad Waddington shows how a cell becomes more and more determined during development and that the possibility for differentiation decrease...

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2010.05.006>

Waddingtonov model vysvetľuje diferenciáciu buniek u mnohobunkových organizmov



Môže aj vonkajšie prostredie ovplyvňovať naše gény?



Nie je včela ako včela...

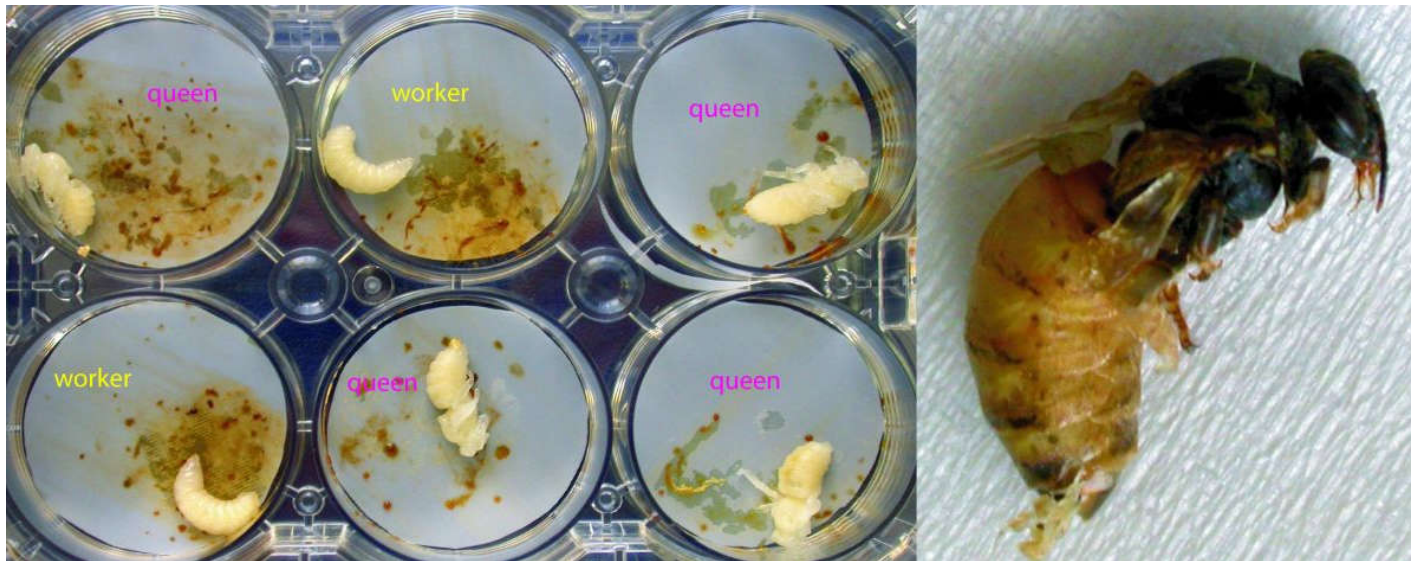
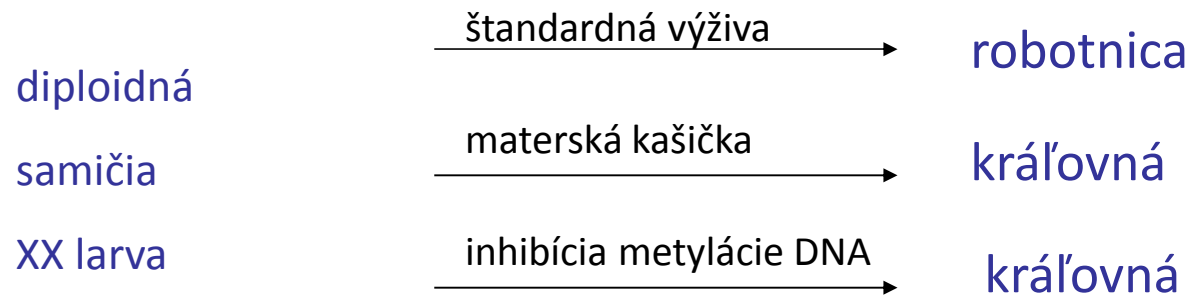
Nie je včela ako včela...

Kráľovná a robotnice – rovnaký genotyp, odlišný fenotyp



	robotnica	kráľovná
Hmotnosť tela	100 mg	250 mg
Dosiahnutý vek	38-140 dní	1-3 roky
Peľový vačok	Áno	Nie
Voskové žľazy	Áno	Nie
Počet vaječníkov	2-12	150-180

Nie je včela ako včela...

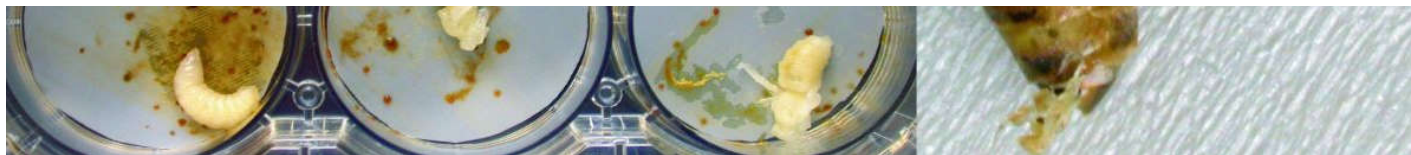


Nie je včela ako včela...

diploidná	štandardná výživa	robotnica
samičia	materská kašička	kráľovná
XX larva	inhibícia metylácie DNA	kráľovná



**Materská kašička spôsobuje
preprogramovanie génov !**



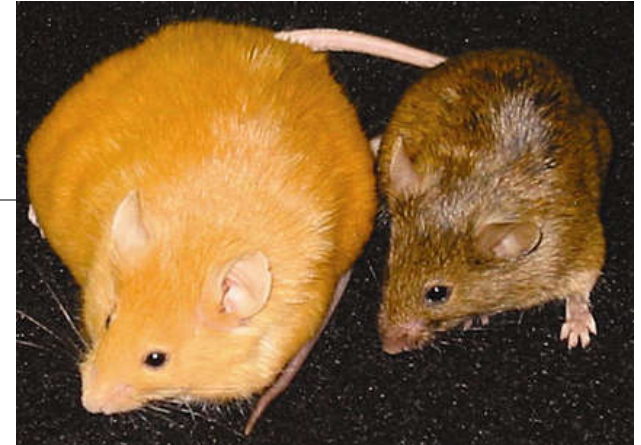
Nie je myš ako myš...



Agouti “Twin” Sisters



Nie je myš ako myš...



- ▶ Tieto myši sú geneticky identické, ale fenotypom sa výrazne líšia.
- ▶ *Agouti* proteín sa za normálnych okolností exprimuje iba v určitom štádiu vývinu myši.
- ▶ Ak sa gén *Agouti* prepisuje neustále a vo všetkých bunkách, vzniká žlté sfarbenie a myši majú sklon k obezite (nositelia tejto alely majú aj väčšiu predispozíciu na rakovinu a cukrovku).

Nie je myš ako myš...

Kríženie:

žltá, tučná myš (*agouti*) x žltá tučná myš (*agouti*)

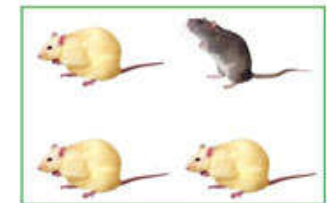
+ normálna, bežná strava

Potomstvo: žlté tučné myši (*agouti*)

female yellow mouse (agouti gene unmethylated and active)



no dietary supplementation



Offspring mostly yellow and unhealthy;
agouti gene unmethylated and active

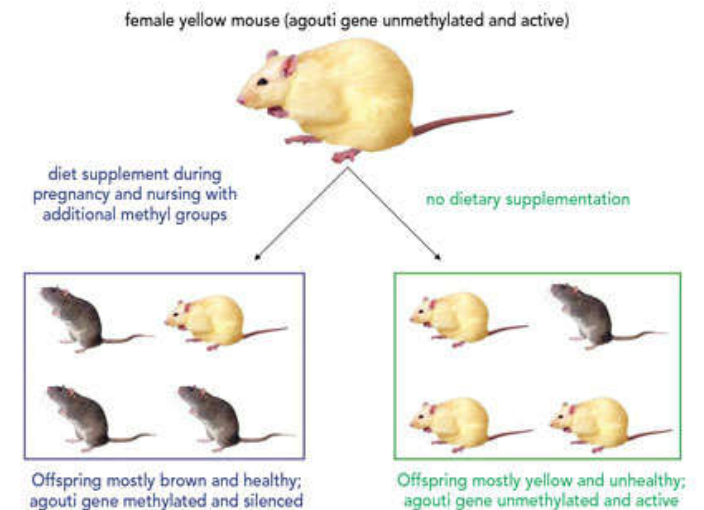
Nie je myš ako myš...

Ale! Kríženie:

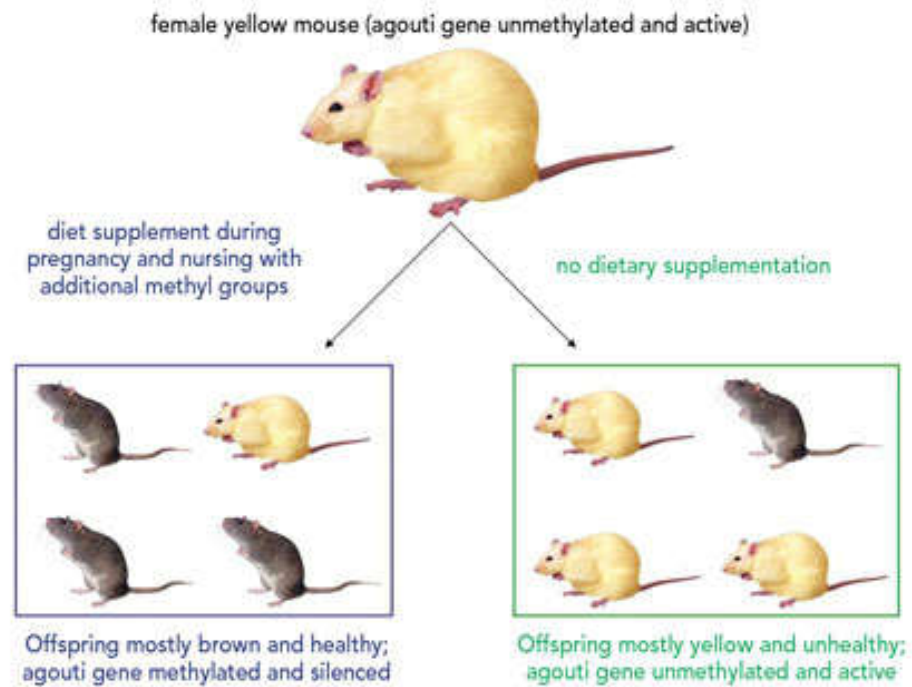
žltá, tučná myš (*agouti*) x žltá tučná myš (*agouti*)

+ okrem bežnej stravy vitamínové doplnky (B12, kyselina listová, betaín, cholín)

Potomstvo: chudé hnedé myši



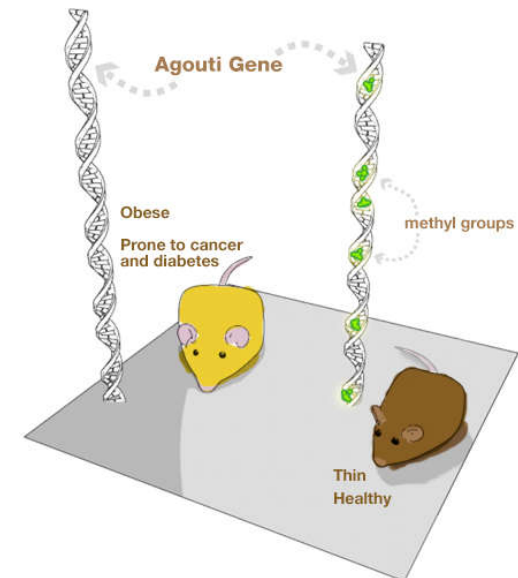
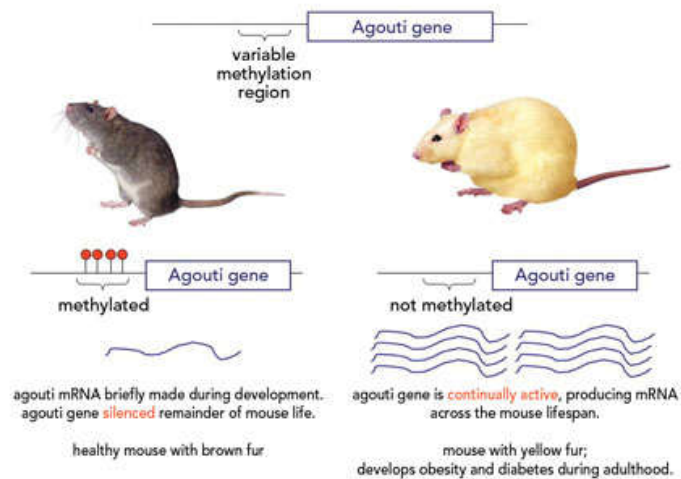
Ako je to možné?



Ako je to možné?

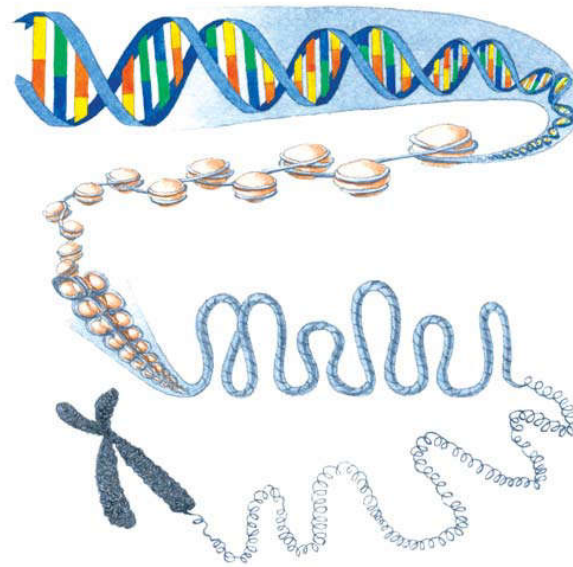
U oboch myší je alela *agouti* prítomná v genóme

Zmena v potrave však spôsobila jeho vypnutie

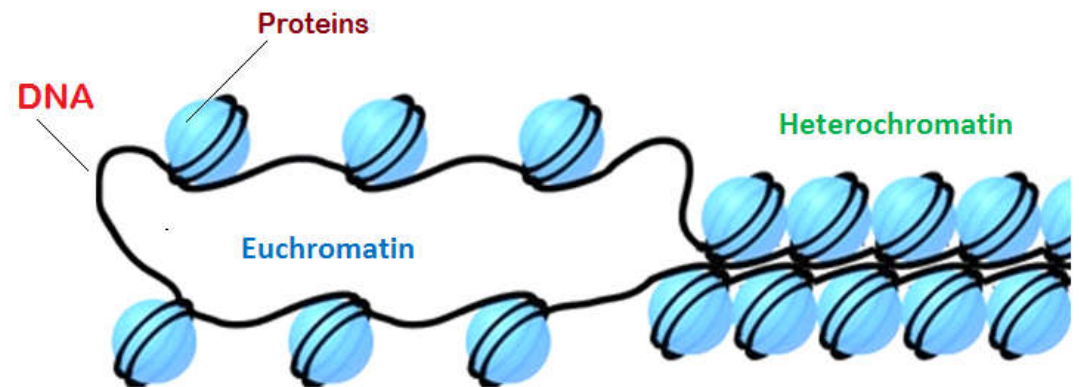


Akú úlohu hrá metylácia DNA v regulácii génovej expresie?

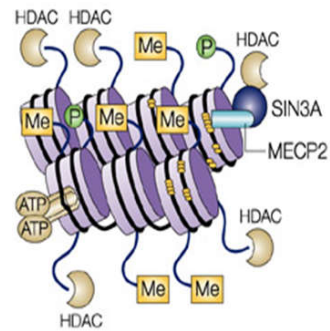
1 chromozóm obsahuje 1 až 20 cm DNA (10^4 až $2 \times 10^5 \mu\text{m}$) (1 chromozóm = 1 molekula DNA)



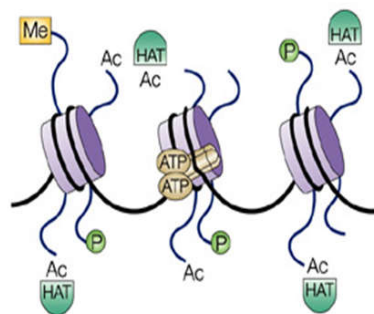
Akú úlohu hrá metylácia DNA v regulácii génovej expresie?



a Closed chromatin: transcriptional repression

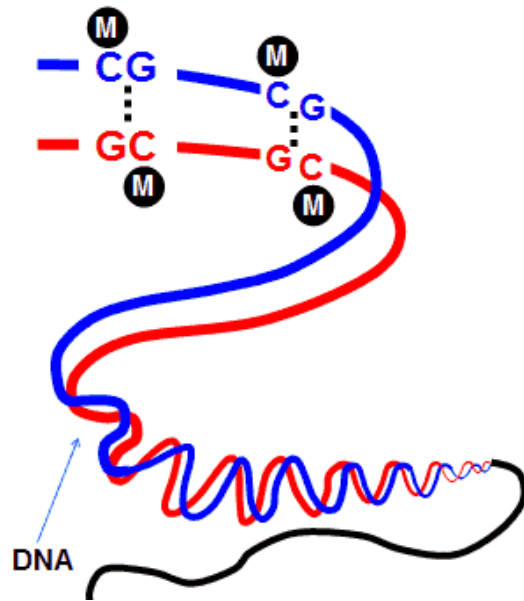


b Open chromatin: transcriptional activation

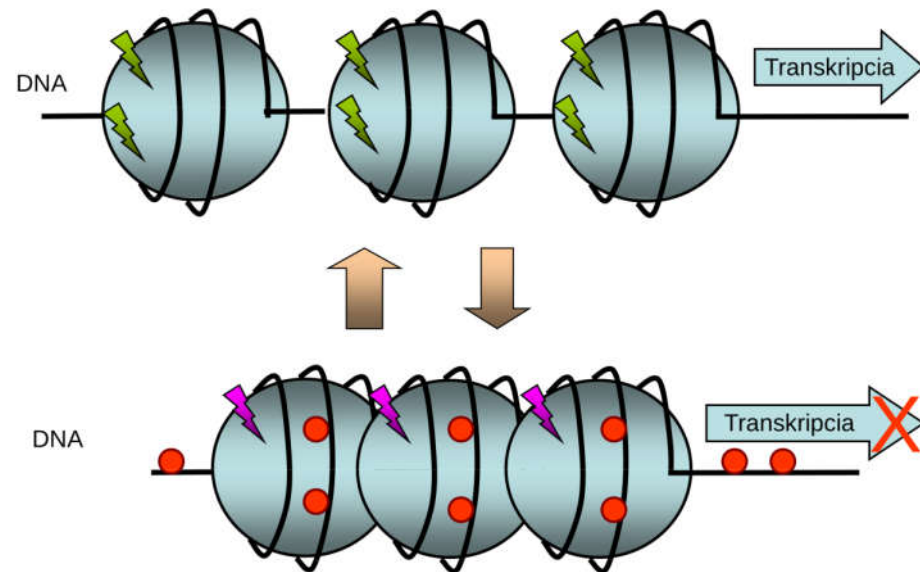


Nature Reviews | Drug Discovery

Akú úlohu hrá metylácia DNA v regulácii génovej expresie?



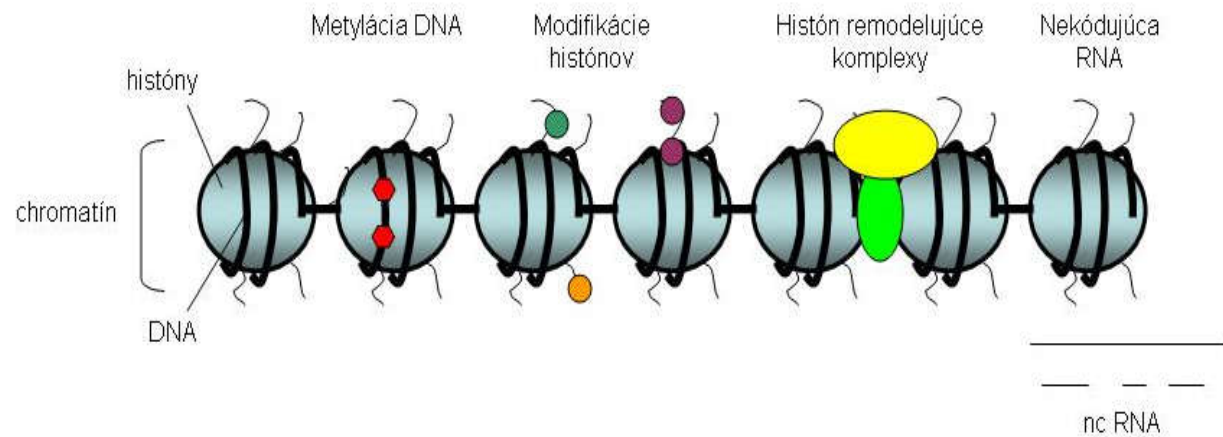
Zabránenie expresii génov v metylovaných oblastiach



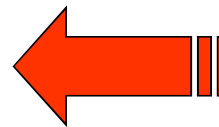
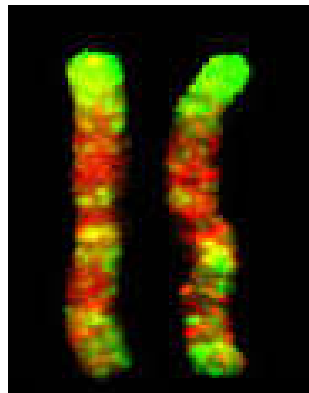
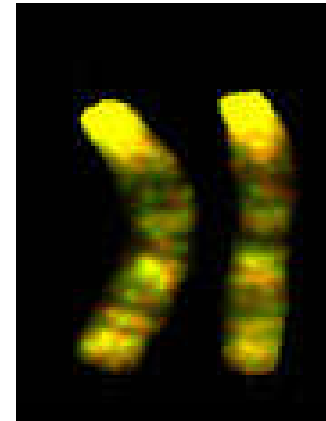
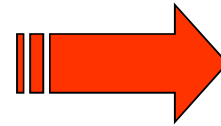
Od genetiky k epigenetike...

- ▶ Rovnaký genotyp \neq rovnaký fenotyp
- ▶ Nejde o zmeny v sekvencii DNA (mutácie)
- ▶ Grécka predpona epi- znamená nad, cez

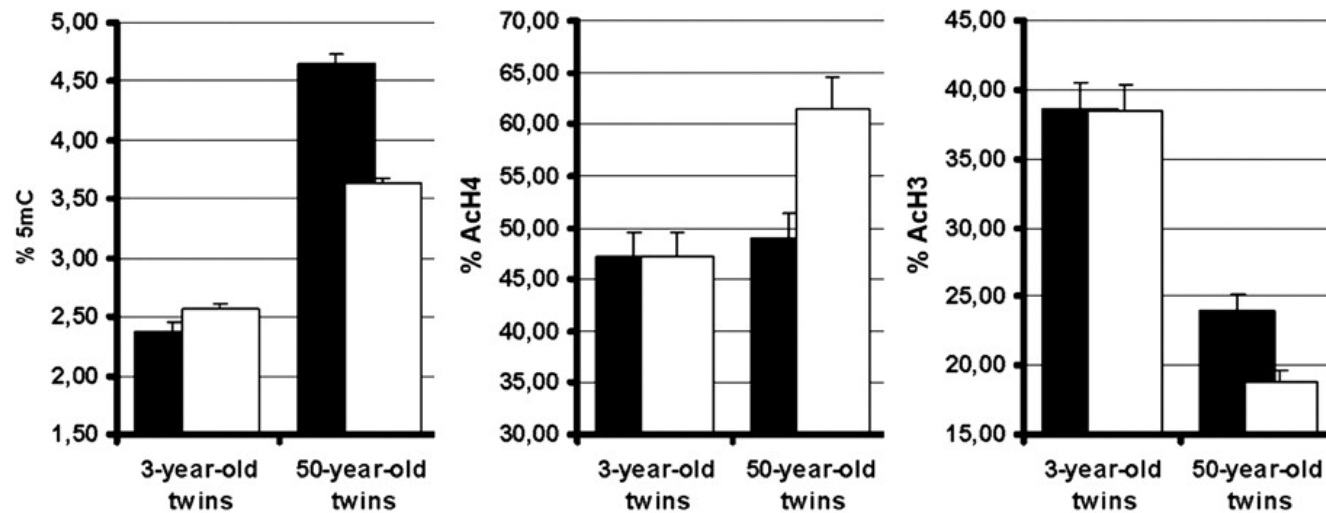
Mechanizmy epigenetických procesov



Monozygotné dvojčatá sú geneticky identické, ale...



Na veku závislé epigenetické zmeny u monozygotných dvojčiat



- ▶ Počas prvých rokov života sa MZ dvojčatá epigeneticky nelíšia
- ▶ Staršie MZ dvojčatá vykazujú významné rozdiely v epigenóme:
 - Zmenený celkový obsah a distribúcia 5-metylcytozínu v DNA
 - Zmeny v acetylácii histónov ovplyvňujúce génovú expresiu.

Zima hladu v Holandsku 1944

Spotreba kalórií klesla z 2,000 na 500 za deň

Ovplyvnených 4.5 miliónov ľudí

Deti narodené v tom čase boli malé, nízke a mali mnoho ochorení vrátane edémov, anémie, diabetu a depresie

U detí žien, ktoré žili v tom období, ale rodili o 20-30 rokov, sa vyvinuli rovnaké problémy hoci už vyrastali v normálnych podmienkach

SCIENCE

The Famine Ended 70 Years Ago, but Dutch Genes Still Bear Scars

Babies born during the Dutch Hunger Winter became adults with higher rates of health problems. Now researchers may have found the genetic switches that made it happen.

 **Carl Zimmer**
MATTER Jan 21, 2018



A victim of starvation during the Dutch famine of 1944-45. Women pregnant during the period gave birth to babies who were affected by health problems throughout their lives. Hulton Archive/Getty Images

Epigenetické ochorenia

Disease	Symptom	Aetiology
ATR-X syndrome	Intellectual disabilities, α -thalassaemia	Mutations in <i>ATRX</i> gene, hypomethylation of certain repeat and satellite sequences
Fragile X syndrome	Chromosome instability, intellectual disabilities	Expansion and methylation of CGG repeat in <i>FMR1</i> 5' UTR, promoter methylation
ICF syndrome	Chromosome instability, immunodeficiency	<i>DNMT3b</i> mutations, DNA hypomethylation
Angelman's syndrome	Intellectual disabilities	Deregulation of one or more imprinted genes at 15q11–13 (maternal)
Prader–Willi syndrome	Obesity, intellectual disabilities	Deregulation of one or more imprinted genes at 15q11–13 (paternal)
BWS	Organ overgrowth	Deregulation of one or more imprinted genes at 11p15.5 (e.g. <i>IGF2</i>)
Rett syndrome	Intellectual disabilities	<i>MeCP2</i> mutations
α -Thalassaemia (one case)	Anaemia	Methylation of $\alpha 2$ -globin CpG island, deletion of <i>HBA1</i> and <i>HBO1</i>
Various cancers	Microsatellite instability	<i>De novo</i> methylation of <i>MLH1</i>
	Disruption of Rb, p53 pathway, uncontrolled proliferation	<i>De novo</i> methylation of various gene promoters
	Disruption of SWI–SNF chromatin remodelling complex	Mutations in <i>SNF5</i> , <i>BRG1</i> , <i>BRM</i>
	Overexpression of IGF2, silencing of <i>CDKN1C</i>	Loss of imprinting
Leukaemia	Disturbed haematopoiesis	Chromosomal translocations involving HATs and HMTs
Rubinstein–Taybi syndrome	Intellectual disabilities	Mutation in CREB-binding protein (histone acetylation)
Coffin–Lowry syndrome	Intellectual disabilities	Mutation in <i>Rsk-2</i> (histone phosphorylation)

Všetko je však omnoho komplikovanejšie...

- ▶ v ľudskom tele je asi 100 miliárd buniek, t.j. približne 200 epigenómov
- ▶ HUGO – Human genome project – sekvencia ľudského genómu je známa
- ▶ „máme mapu, ale potrebujeme zistiť, ktoré cesty sú otvorené a ktoré zatvorené“
- ▶ Projekt ľudského epigenómu

Projekt ľudského epigenómu



► *Cieľom HEP je identifikovať všetky chemické zmeny a vzťahy... ktoré sprostredkovávajú realizáciu DNA kódu. Vďaka týmto informáciám bude možno lepšie porozumieť procesom, akými sú prirodzený vývin, starnutie, karcinogenéza a rozvoj iných ochorení, ako aj vplyvu environmentálnych faktorov na ľudské zdravie.*

Čo všetko môže vplývať na epigenóm?

Strava

Liečivá

Environmentálne polutanty

Fajčenie

Alkohol

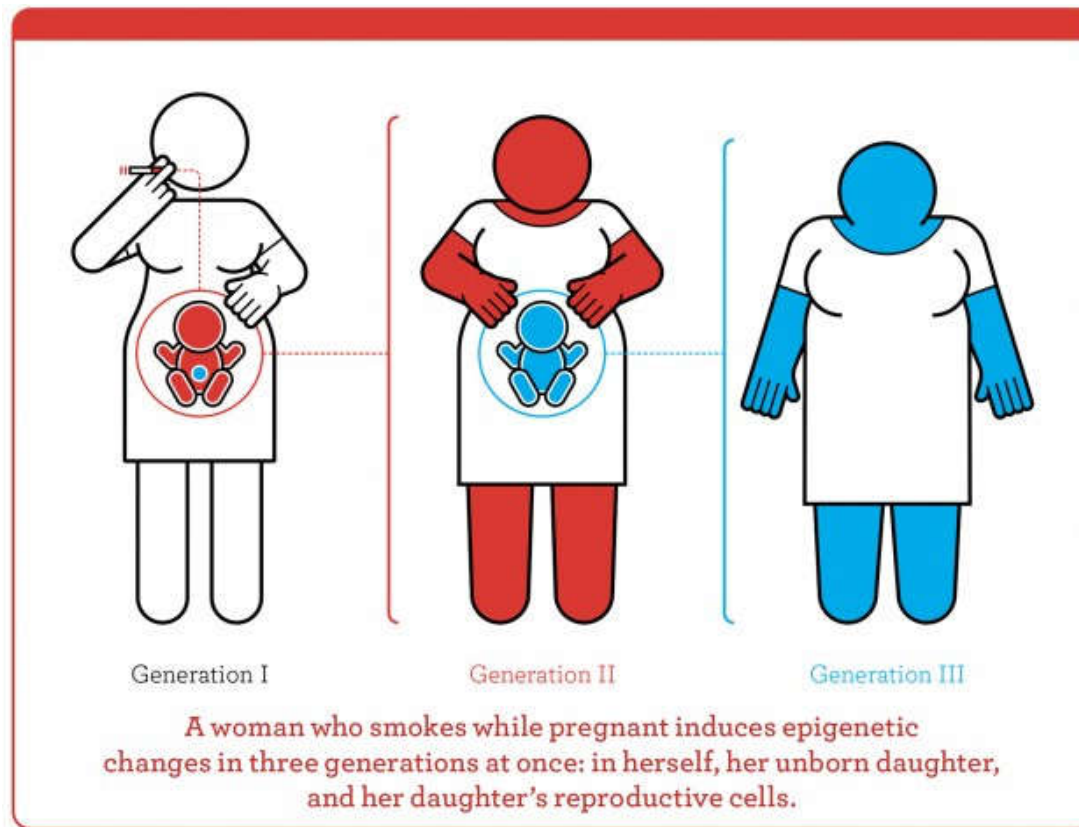
STRES

...zmenená metylácia tumor supresorových génov a onkogénov môže viesť k vzniku rakoviny

Bisfenol A

- ▶ Chemická látka, ktorá sa nachádza v plastových fľašiach
- ▶ Zmenená metylácia DNA u myši (znížená o 31%), vývin obéznych, žltých myši
- ▶ Nie všetky myši boli obézne, t.j. vystavenie myši bisfenolu A negarantuje vznik tučnej, žltej myši, ale zvyšuje pravdepodobnosť vzniku takejto myši!!!
- ▶ Doplnenie stravy o látky prinášajúce metylové skupiny (kyselina listová, vitamín B12) pôsobilo proti redukcii DNA metylácie.

Transgeneračný prenos



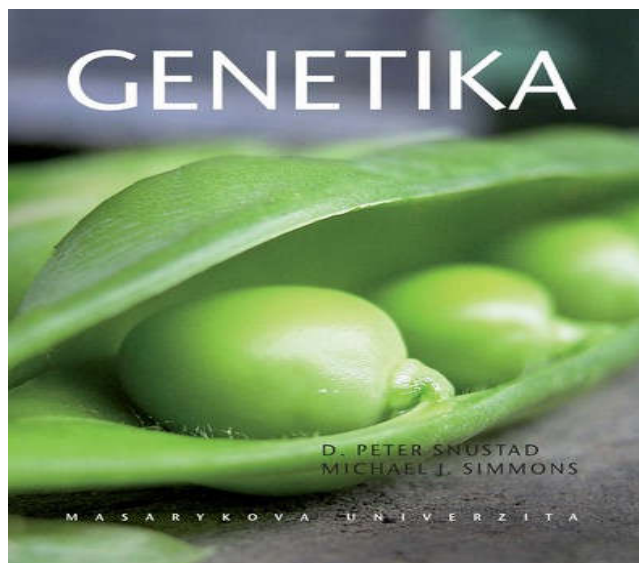
Genóm máme vo vlastných rukách

Sloboda (nie sme „otrokmi“ vlastných génov), ale hlavne zodpovednosť

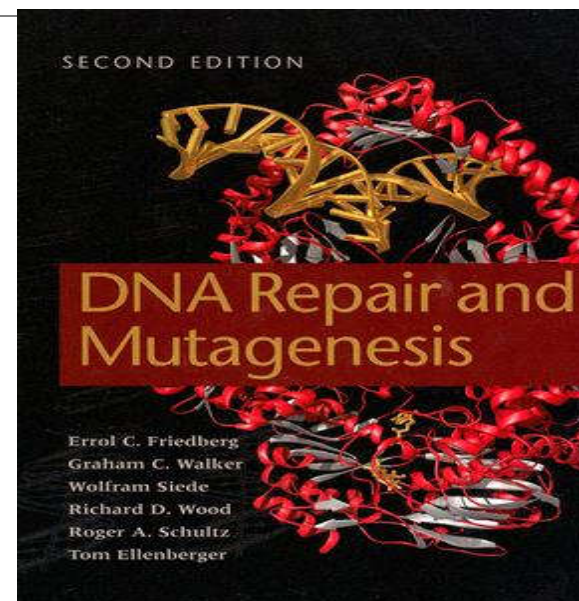
Cca 20% génov podlieha epigenetickému riadeniu, t.j. takmer každý piaty gén sa dá ovplyvniť prostredím

Porozumenie procesu opravy DNA poškodení a tiež mechanizmu epigenetických zmien môže pomôcť pochopiť mechanizmy spojené so starnutím, a tiež liečiť niektoré závažné ochorenia (rakovina, dedičné ochorenia....)

Odporúčaná literatúra



Snustad, D.P., Simmons, M.J.: Genetika. Vyd. Masarykova univerzita. Brno. 2009. ISBN: 978-80-210-4852-2



Friedberg, E.C., Walker, G.C., Siede, W.: DNA repair and Mutagenesis. Vyd. ASM Press, Washington, D.C. 1995. ISBN: 1-55581-088-8