

Podstawy genetyki - biologia molekularna genu

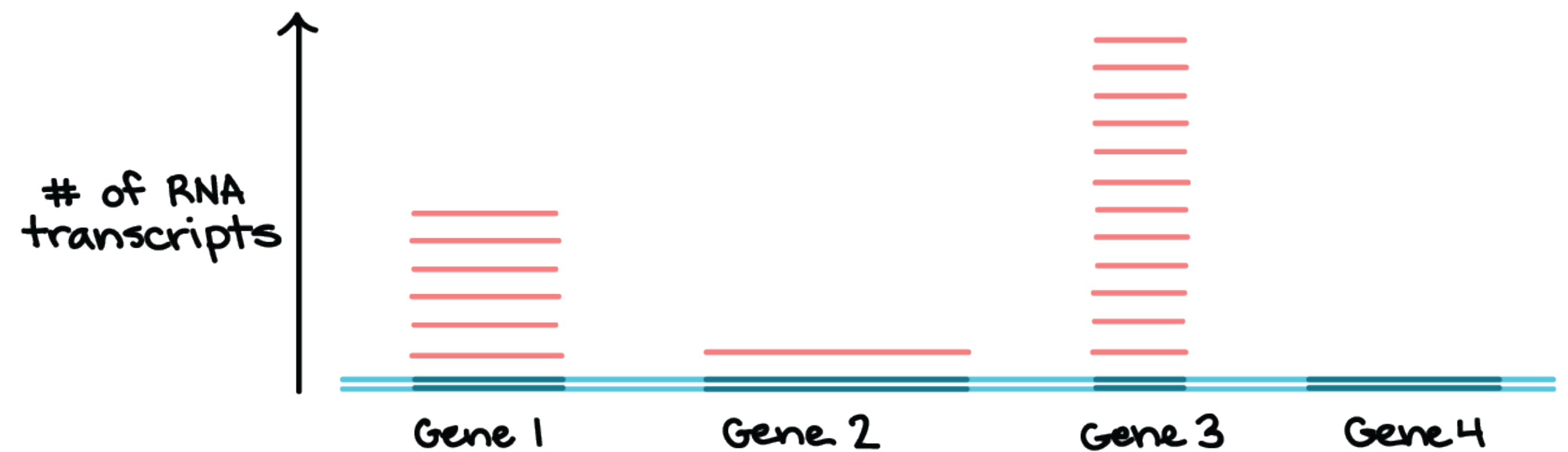
Ekspresja i regulacja. Systemy regulacyjne.

Ekspresja

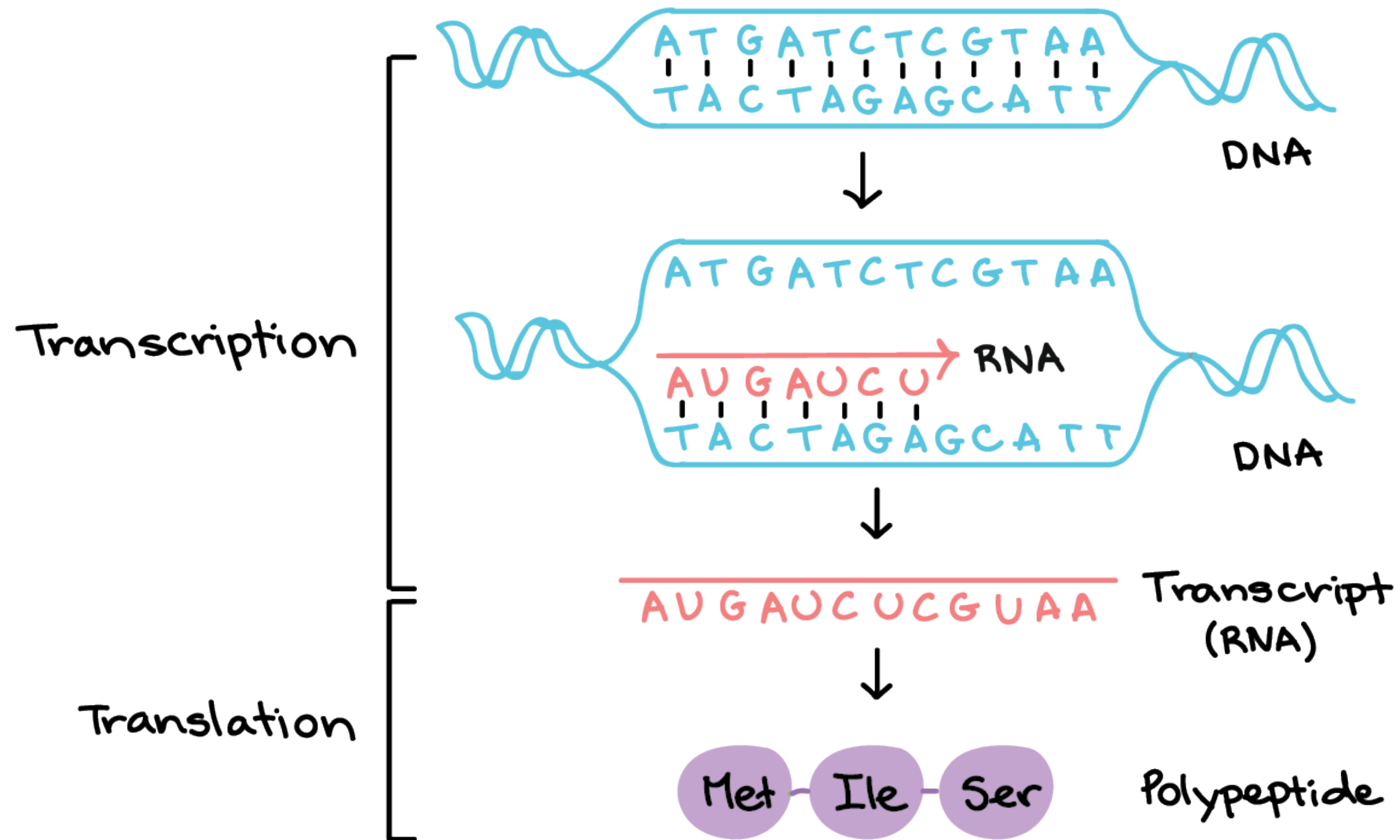
- Ekspresja (wyrażanie) genu jest regulowana na wielu etapach
- Regulacja ekspresji jest podstawowym mechanizmem dla:
 - adaptacji do zmiennych warunków
 - homeostazy
 - rozwoju i różnicowania
- Wzór regulacji ekspresji genów może być utrzymywany z kolejnymi podziałami komórki, a nawet z kolejnymi pokoleniami - epigenetyka

Regulacja działania genów

- Każdy gen ulega ekspresji na innym poziomie
- Komórki z tym samym DNA mogą wyrażać różne geny na różnym poziomie - podstawa procesów regulacyjnych



Ekspresja genu - obraz bardzo uproszczony



Centralna hipoteza ("dogmat")

Ideas on Protein Synthesis (Oct. 1956)

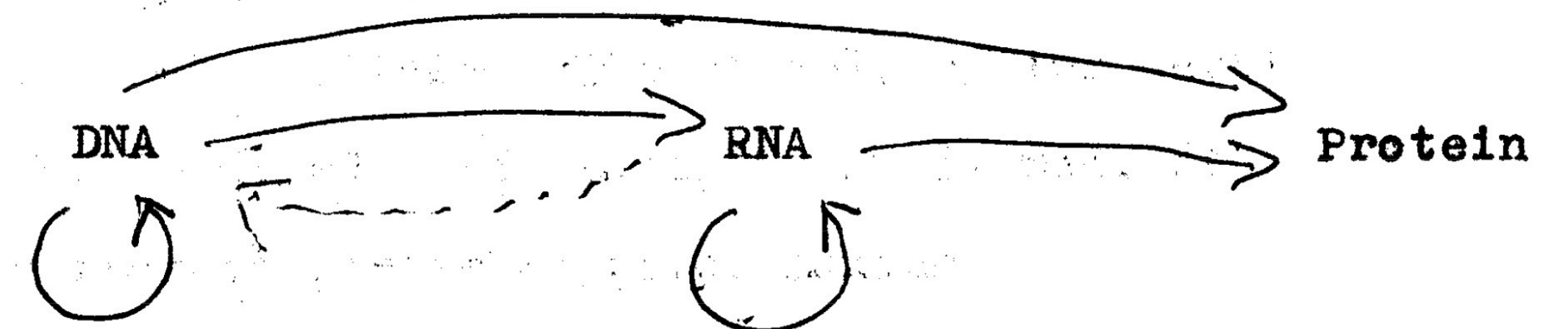
Francis Crick, 1956

The Doctrine of the Triad.

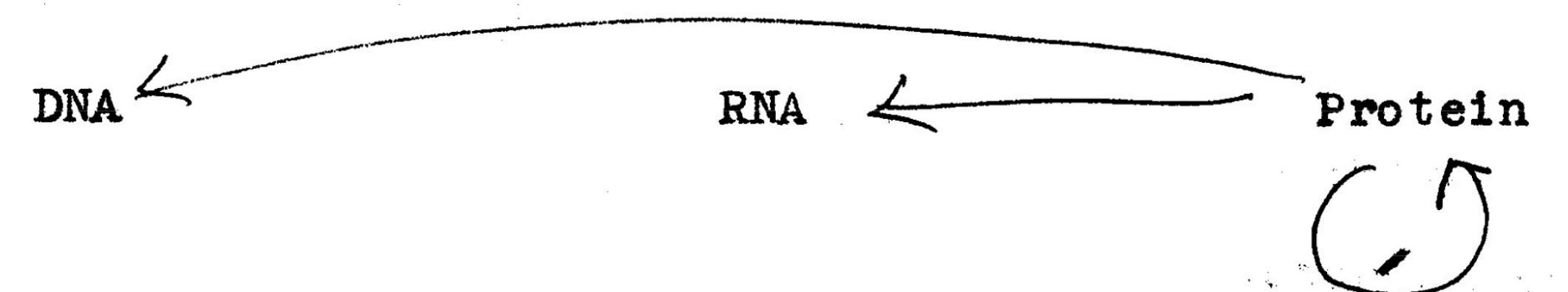
The Central Dogma: "Once information has got into a protein it can't get out again". Information here means the sequence of

the amino acid residues, or other sequences related to it.

That is, we may be able to have



but never



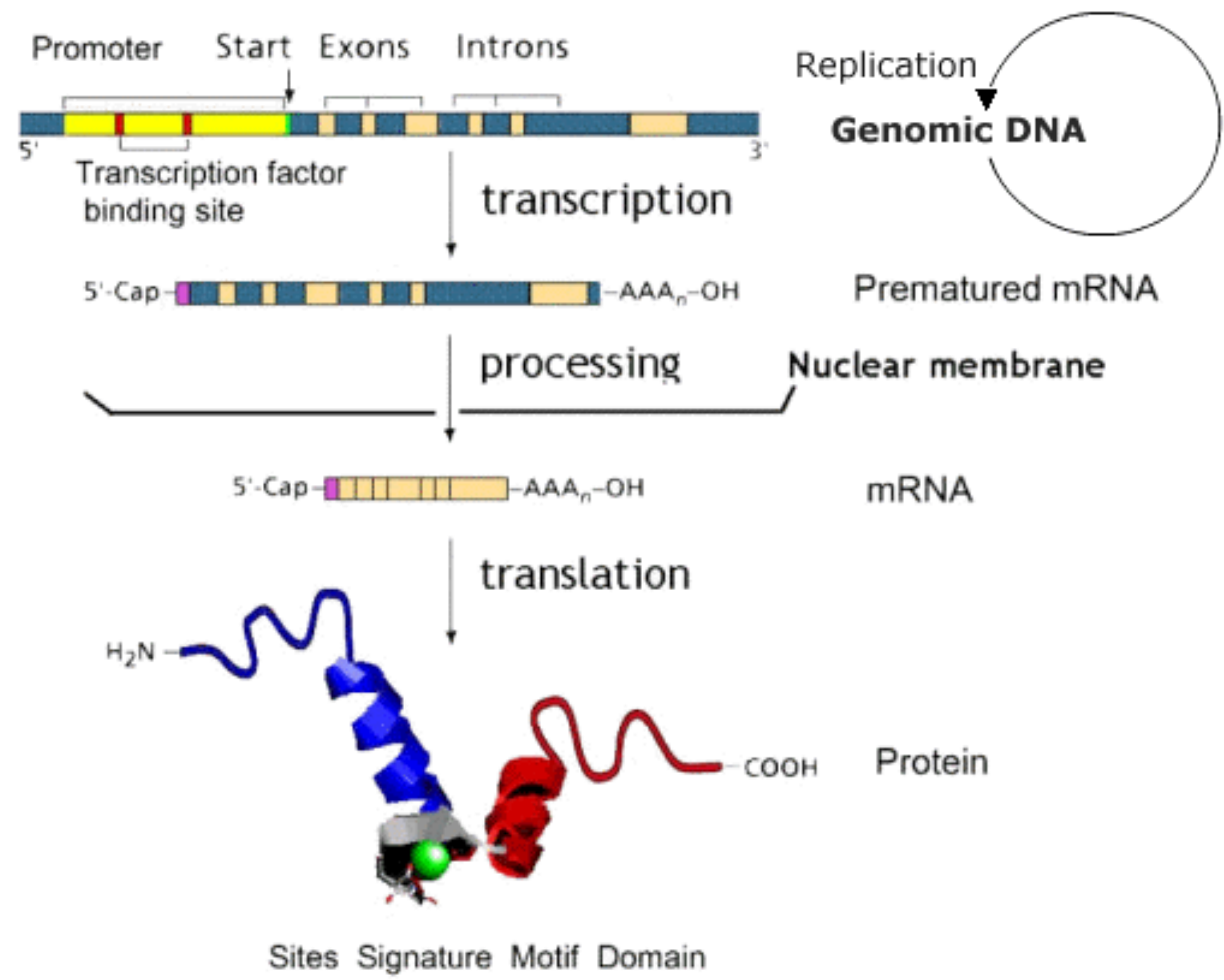
where the arrows show the transfer of information.

Centralna hipoteza („dogmat”)

DNA

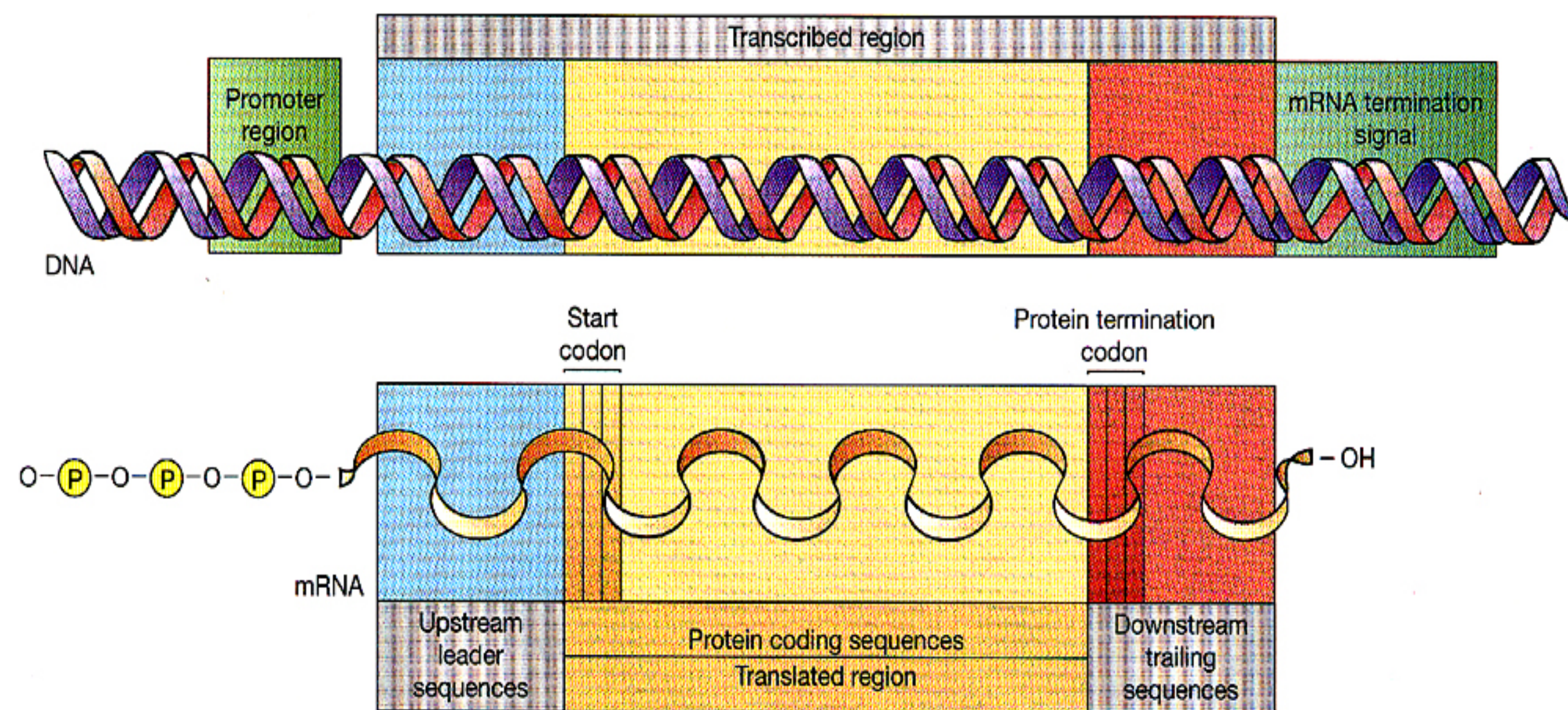
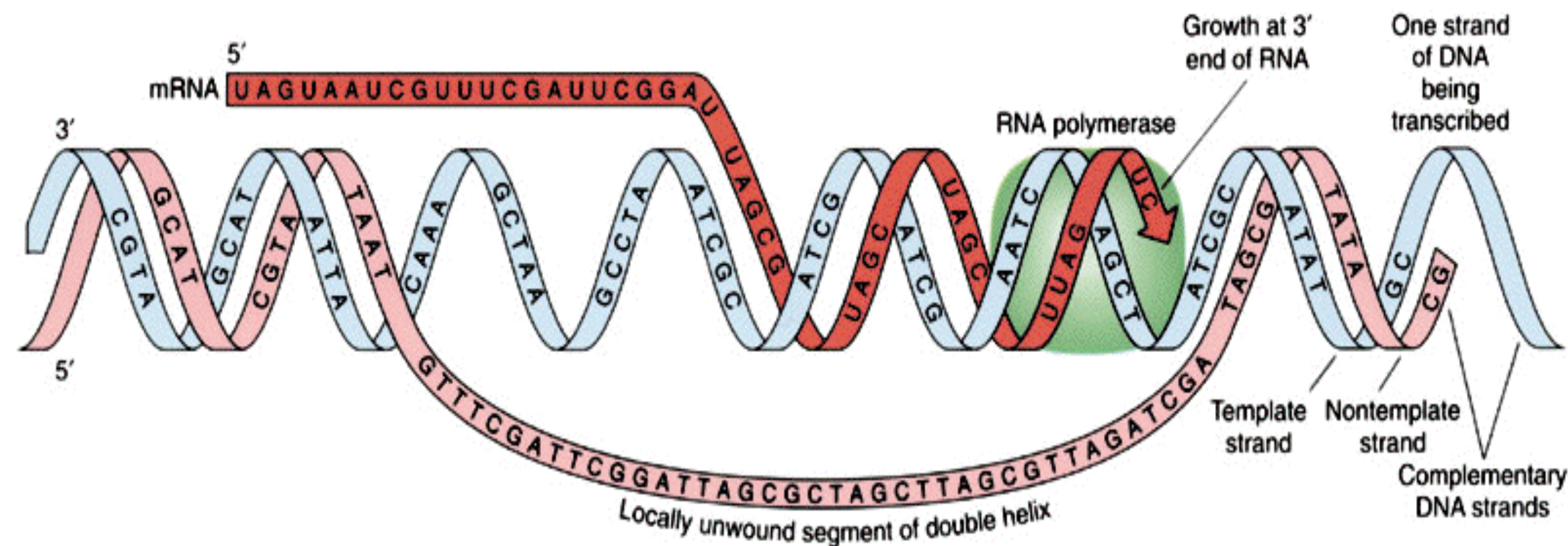
RNA

BIAŁKO



Transkrypcja

- Konkretnie mechanizmy różne u Prokaryota i Eukaryota
- Inicjacja w miejscu **promotora**,
związanie białek z DNA i rozplecenie podwójnej helisy
- Dla genów kodujących białka powstający transkrypt dłuższy, niż sekwencja kodująca
 - obszary UTR (*untranslated regions*)
 - nie mylić miejsca startu transkrypcji (+1) z miejscem startu translacji ani końca transkryptu z kodonem stop



Transkrypcja

- U Prokaryota polimeraza wiąże się z DNA, u Eukaryota z DNA wiążą się ogólne czynniki transkrypcyjne, a dopiero z nimi polimeraza
- U Eukaryota kilka (4 główne) polimeraz:
 - pol I - rRNA
 - pol II - mRNA, niektóre małe funkcjonalne RNA
 - pol III - tRNA, małe funkcjonalne RNA
 - mitochondrialna

Ekspresja genów prokariotycznych

- dominuje regulacja na poziomie transkrypcji
- policistronowe jednostki transkrypcyjne o wspólnej regulacji transkrypcyjnej – operony
- mRNA szybko degradowane, translacja zachodzi zasadniczo równocześnie z transkrypcją

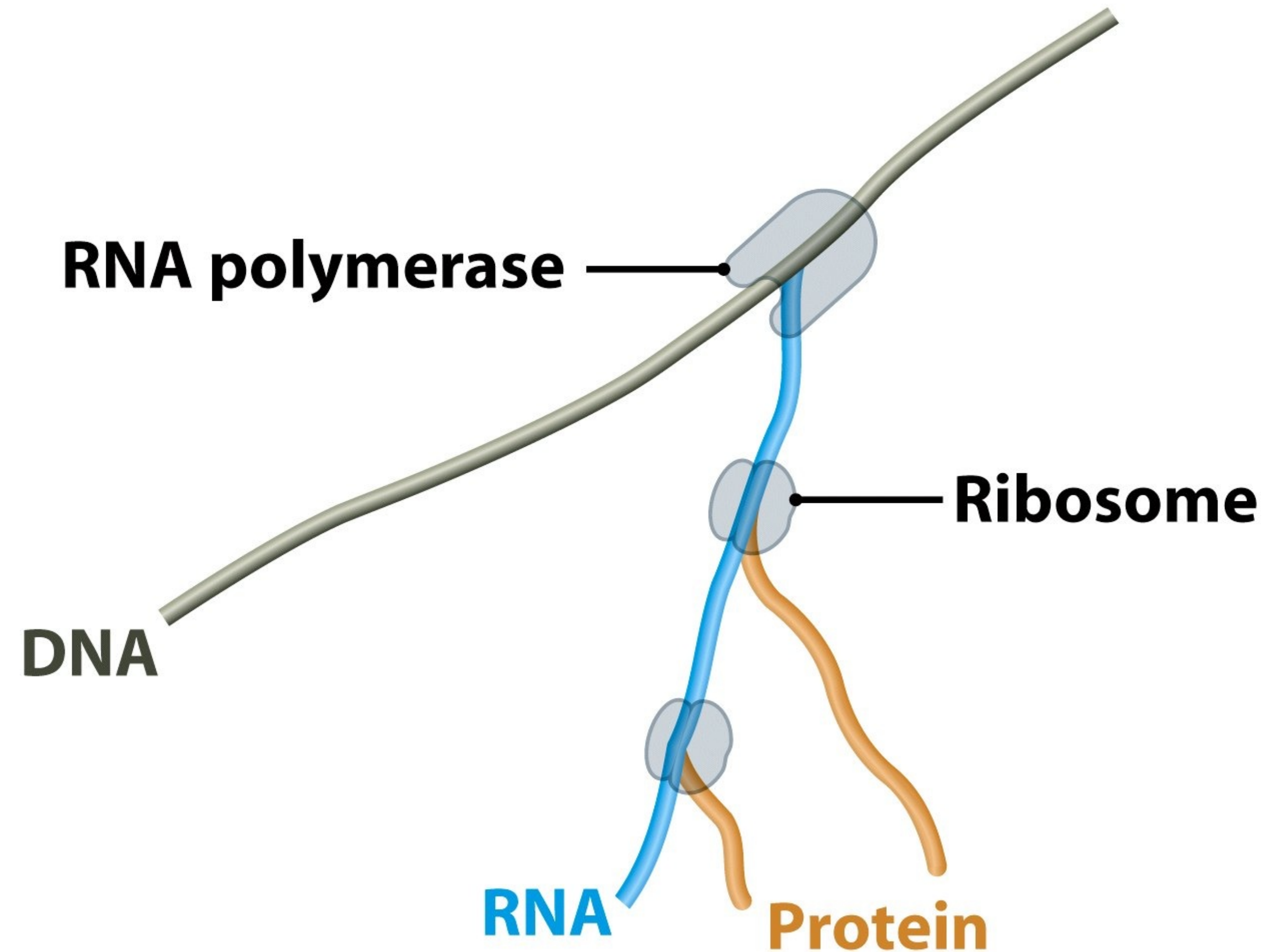


Figure 12-10 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

Ekspresja genów eukariotycznych

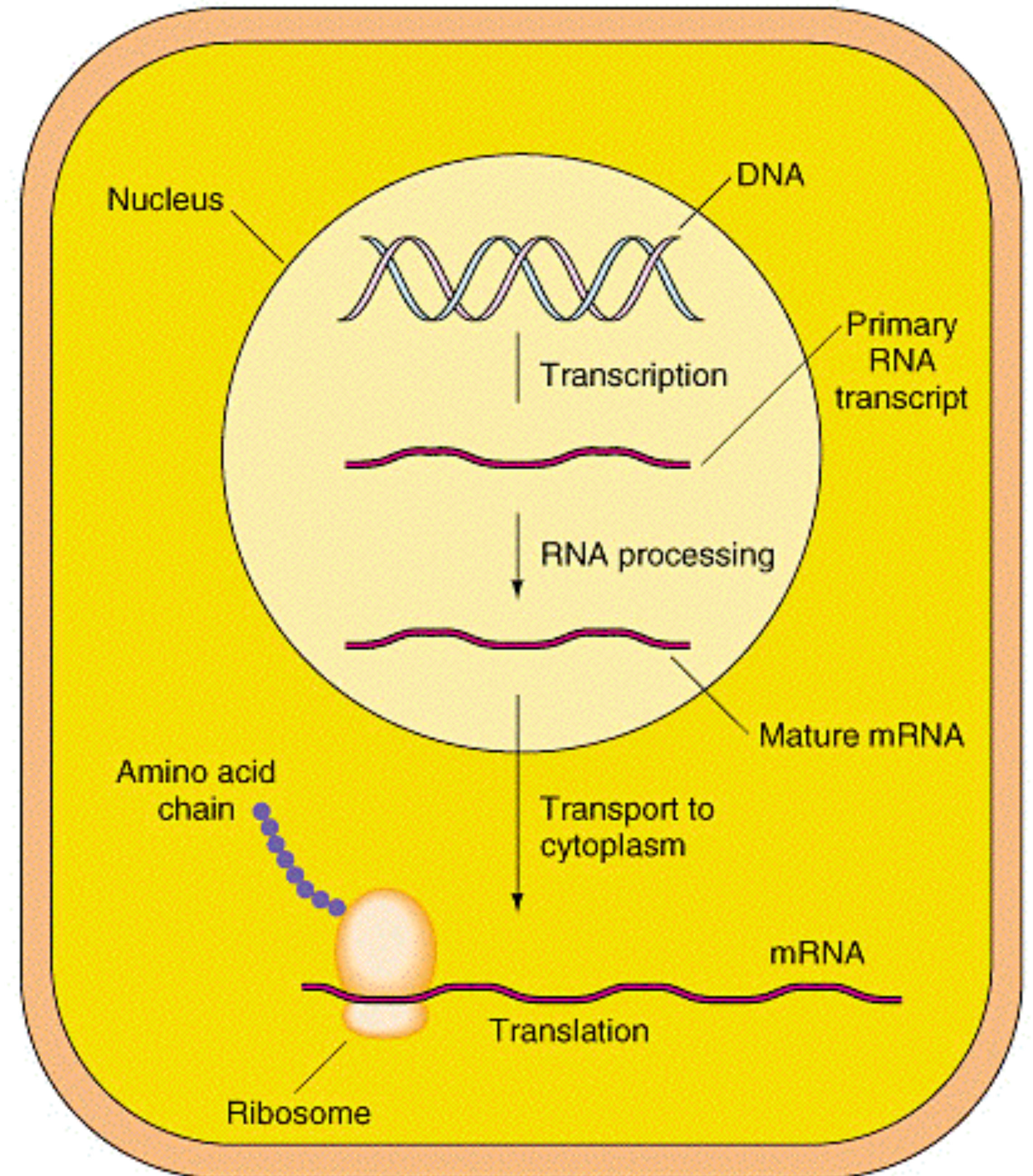
- Procesy transkrypcji i translacji są rozdzielone w przestrzeni i czasie
- Każdy gen ma własny promotor, nie występują operony
- Proces ekspresji genu składa się z wielu etapów
- Na każdym z etapów możliwe działanie regulacyjne
- Informacja kierująca syntezą białka może być modyfikowana po transkrypcji (alternatywne składanie, redagowanie) – złożoność proteomu przekracza złożoność genomu

Etapy ekspresji/poziomy regulacji u Eukaryota

- struktura chromatyny
- transkrypcja
- obróbka i kontrola jakości RNA
- transport RNA
- degradacja RNA
- translacja
- modyfikacje post-translacyjne
- degradacja białka

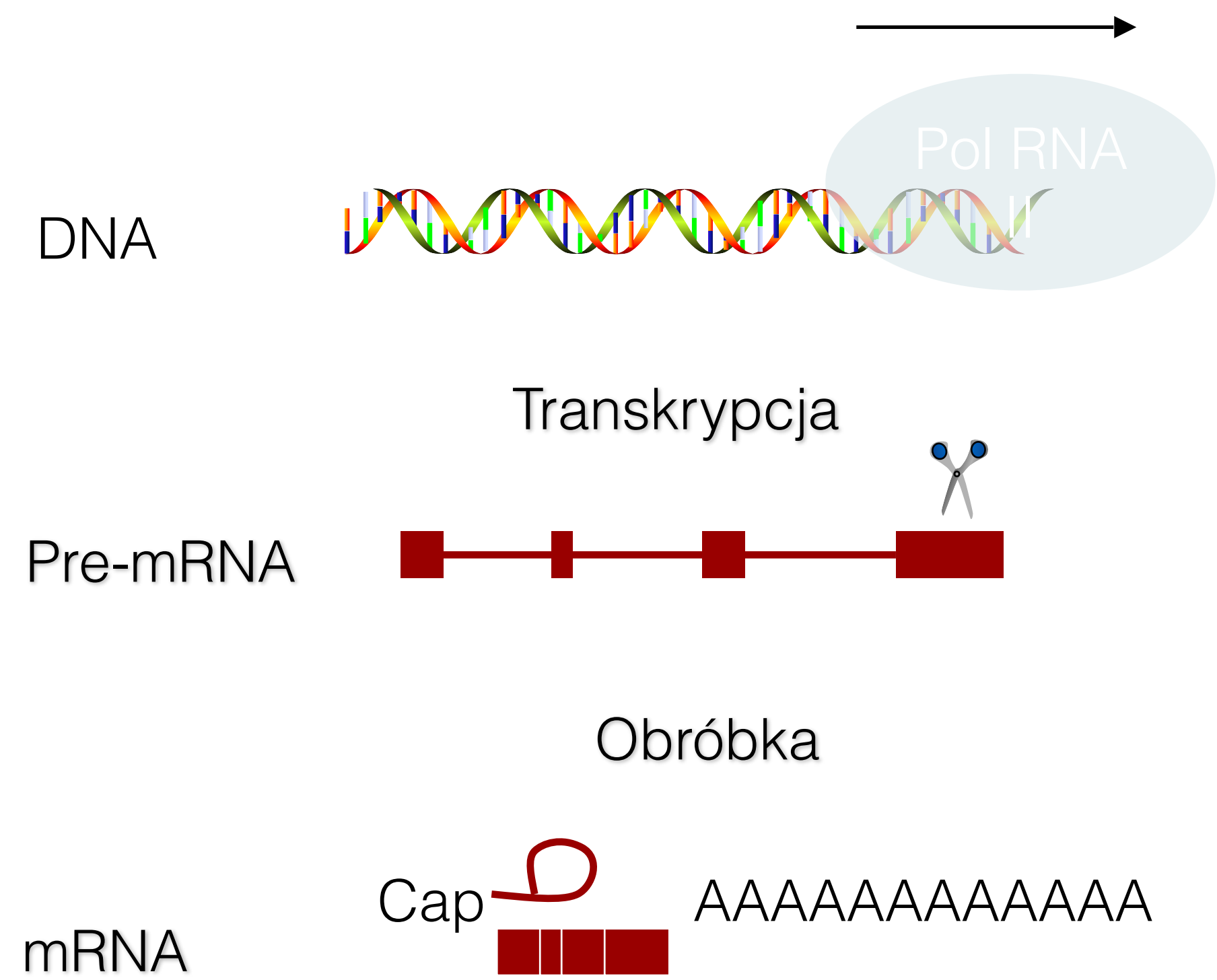
Losy mRNA w komórce eukariotycznej

- Transkrypcja
- Dodanie „czapeczki” na końcu 5’
- Składanie (splicing)
- Poliadenylacja na końcu 3’
- Transport do cytoplazmy
- Translacja
- Degradacja

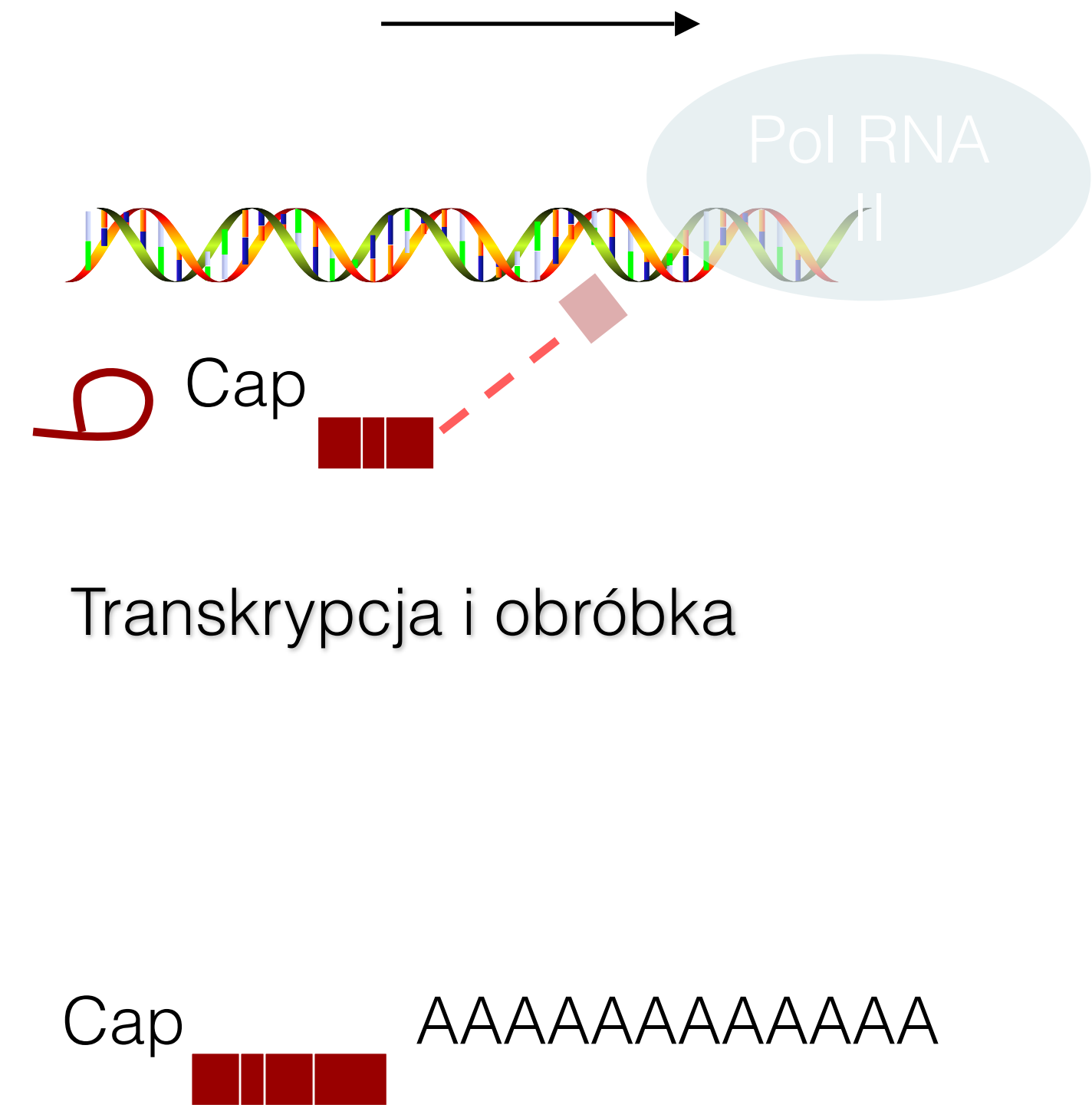


U Eukaryota transkrypcja i obróbka RNA są sprzężone

Tradycyjny obraz ekspresji genu



Współczesny obraz ekspresji genu



Bakterie i eukarionty

- Prosta w porównaniu z Eukariontami ekspresja genu bakterii może być ewolucyjnie wtórna, nie pierwotna
- przystosowanie do termofilii (termoredukcja)
 - RNA niestabilny w wysokich temperaturach
 - nie ma hipertermofilnych eukariontów
- najwcześniejsze gałęzie drzewa bakterii zawierają wiele gatunków ekstremofilnych

Podstawowe elementy systemów regulacji

- **Elementy *cis***
 - Znajdują się w obrębie tej samej cząsteczki, co element podlegający regulacji
 - Elementy *cis* w obrębie DNA
 - np. promotory, operatory, enhancery
 - Elementy *cis* w obrębie RNA
 - sekwencje wiążące białka regulujące translację, splicing, degradację itp.

Podstawowe elementy systemów regulacji

- **Elementy *trans***
 - Odrębne cząsteczki oddziałujące z elementami *cis*
 - Białka regulujące transkrypcję (czynniki transkrypcyjne) - aktywatory, represory itp.
 - Białka regulujące inne etapy ekspresji (aktywatory/represory translacji, splicingu itp.)
 - RNA regulatorowe (siRNA, miRNA itp.)

Podstawy regulacji genu

- **Regulacja pozytywna**

- czynnik *trans* jest **aktywatorem** – zwiększa ekspresję

- **Regulacja negatywna**

- czynnik *trans* jest **represorem** – osłabia ekspresję

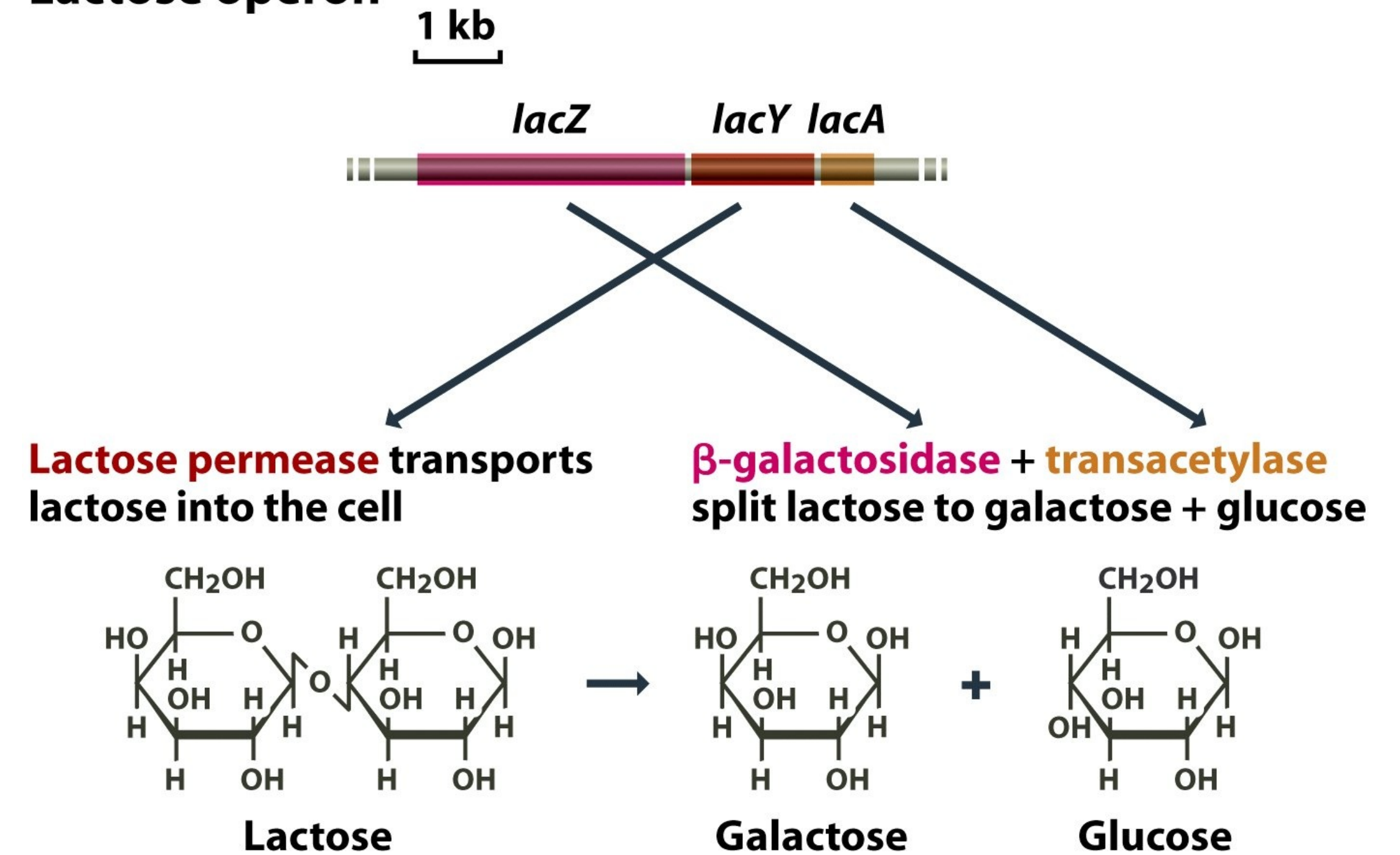
Podstawy regulacji genu

- Regulacja indukowalna
 - Sygnał zwiększa (indukuje) ekspresję
- Regulacja reprimowalna
 - Sygnał zmniejsza (reprimuje) ekspresję
- Możliwe są różne układy, np. regulacja negatywna indukowalna
 - Nie należy mylić pojęć: pozytywna/negatywna dotyczy aktywności czynnika *trans* a indukowalna/reprimowalna – odpowiedzi na sygnał

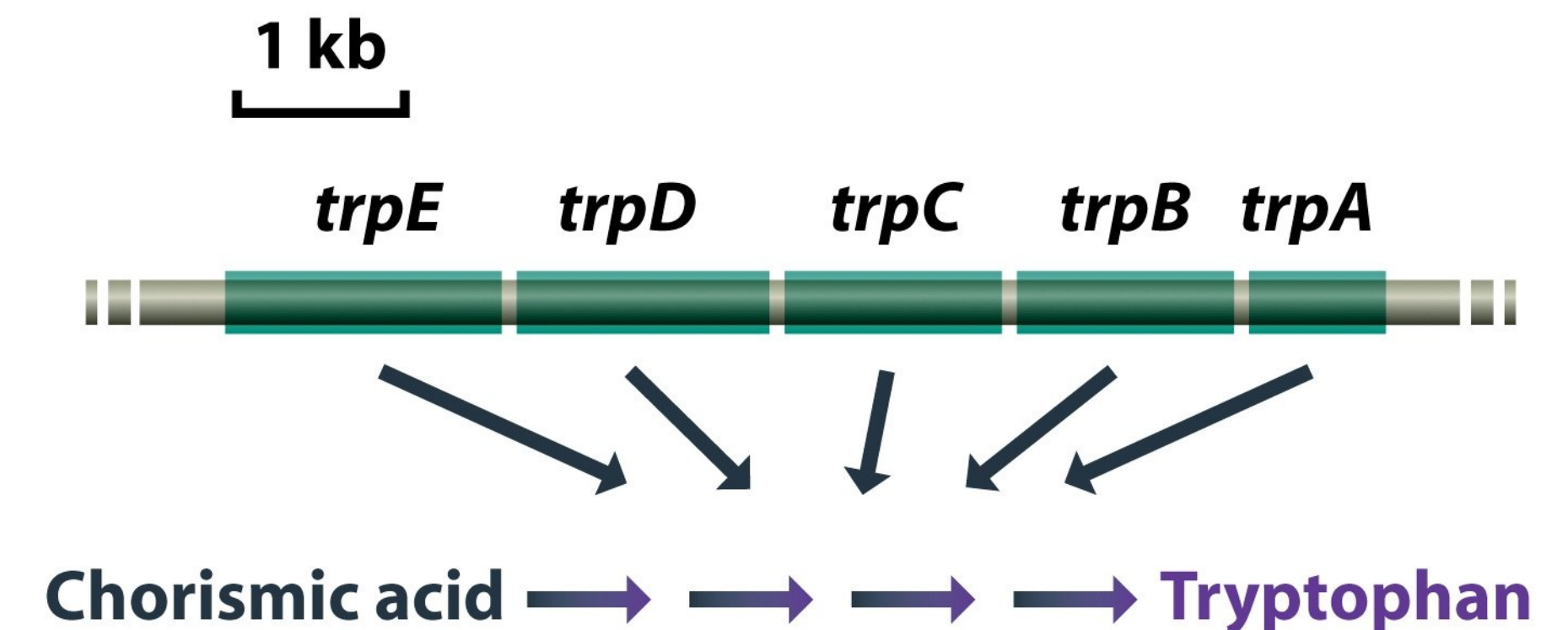
Operony

- Typowy dla bakterii i archeonów system ekspresji
- Policistronowy transkrypt – wspólna ekspresja wielu genów z jednego promotora
- Przeważnie geny związane funkcją, ale są wyjątki

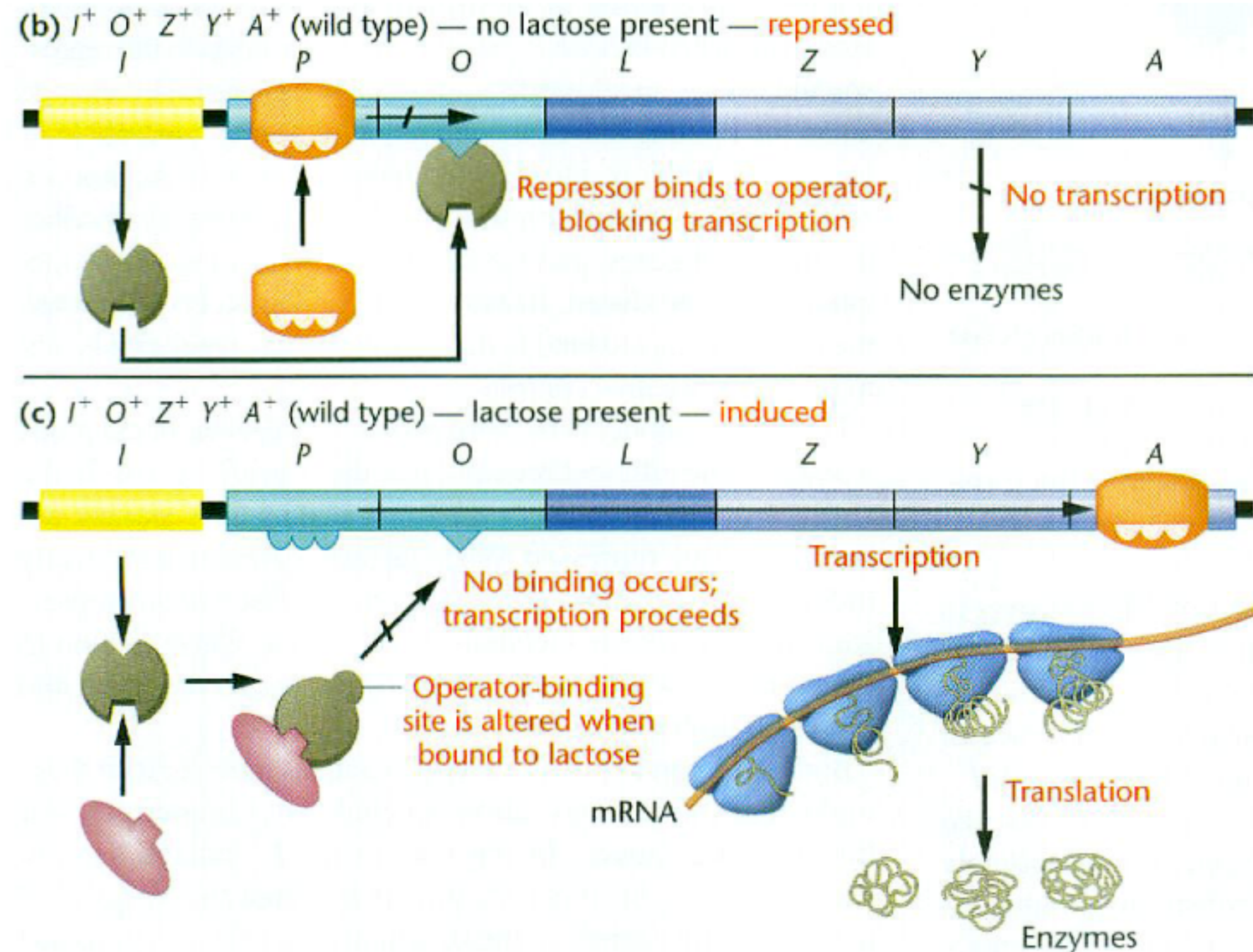
Lactose operon



Tryptophan operon



Przykład – operon lac



Operon *lac*

- Regulacja na poziomie inicjacji transkrypcji
- Negatywna indukowalna – przez laktozę/represor *lacI*
- Pozytywna – przez glukozę i cAMP/białko CAP
 - Białko to reguluje szereg operonów związanych z wykorzystywaniem źródeł węgla - regulon

Kod genetyczny

- Trójkowy
 - 20 aminokwasów
 - kodony po 3 nukleotydy: $4^3=64$ możliwości
 - Dowody: badanie mutantów insercyjnych i delecyjnych (3 kolejne insercje lub delecje przywracały funkcje)

Kod genetyczny

- Nienakładający się
 - Dowody:
 - założmy sekwencję GTACA: jeden kodon: TAC, pozostałe: GTA i ACA (nakładanie 2 nukleotydów). Przy danym kodonie “centralnym”, możliwe tylko $4^2 = 16$ różnych kombinacji trzyaminokwasowych. W naturze natomiast występują wszystkie możliwe kombinacje (20^3).
 - Pojedyncza zmiana nukleotydowa w sekwencji kodującej zmienia tylko jeden aminokwas, a nie dwa sąsiednie

Kod genetyczny

- Bezprzecinkowy
- Zdegenerowany
 - 3 kodony STOP, pozostałe 61 kodonów koduje 20 aminokwasów, większość aminokwasów kodowana przez więcej niż jeden kodon

Kod genetyczny

- Kod jest **jednoznaczny**
- Dany kodon zawsze koduje jeden i tylko jeden aminokwas
 - Degeneracja oznacza, że jeden aminokwas może być kodowany przez więcej kodonów

Kod genetyczny

		Second base of codon					
		U	C	A	G		
First base of codon	U	UUU Phenylalanine phe UUA Leucine leu	UCU Serine ser UCG	UAU Tyrosine tyr UAA STOP codon UAG	UGU Cysteine cys UGA STOP codon UGG Tryptophan trp	U	Third base of codon
	C	CUU Leucine leu CUC CUA CUG	CCU Proline pro CCC CCA CCG	CAU Histidine his CAA Glutamine gin CAG	CGU Arginine arg CGC CGA CGG	C	
	A	AUU Isoleucine ile AUC AUA AUG Methionine met (start codon)	ACU Threonine thr ACC ACA ACG	AAU Asparagine asn AAC AAA Lysine lys AAG	AGU Serine ser AGC AGA Arginine arg AGG	A	
	G	GUU Valine val GUC GUA GUG	GCU Alanine ala GCC GCA GCG	GAU Aspartic acid asp GAC GAA Glutamic acid glu GAG	GGU Glycine gly GGC GGA GGG	G	

Uniwersalność kodu

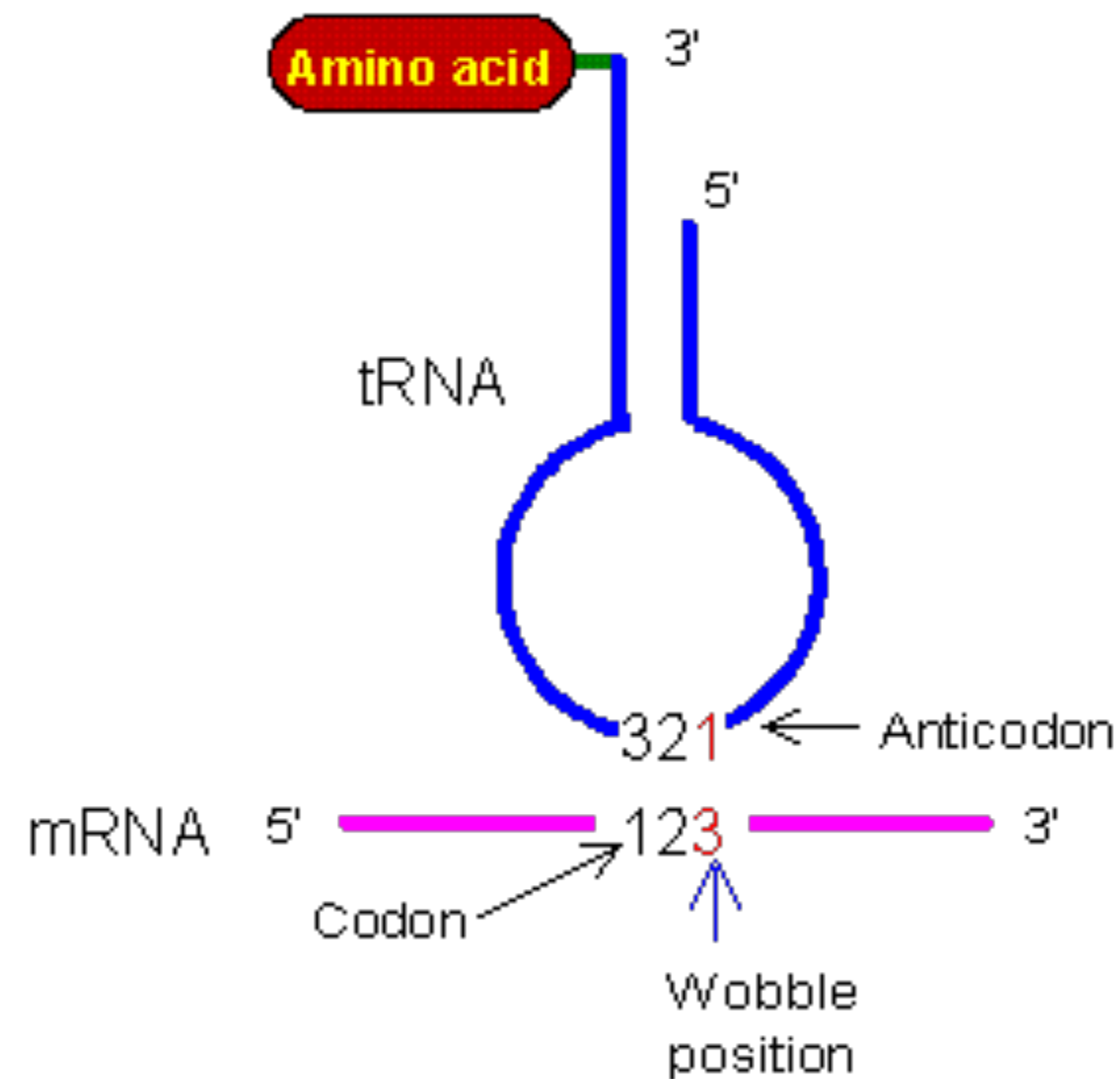
- Kod genetyczny jest zasadniczo **taki sam u wszystkich organizmów na Ziemi**
- Nieznaczne odstępstwa przez ewolucję pojedynczych tRNA
 - kody organellarne (np. UGA - Trp a nie stop w mitochondriach)
 - niektóre orzęski
 - nieliczne grzyby (CUG Ser a nie Leu u *Candida*)

Regularności w kodzie

- Trzecia pozycja kodonu najmniej znacząca
 - (np. UCx – Ser)
- Aminokwasy o podobnych właściwościach często z podobnymi kodonami
 - Np.
 - AAA, AAG: lizyna; AGA, AGG: arginina
 - UCx: seryna; ACx: treonina

Parowanie *wobble*

- W 3 pozycji kodonu (1 antykodonu) dozwolone parowanie:
- G-U
- I-U/A/C (I – inozyna)
- Tzw. zasada tolerancji Cricka

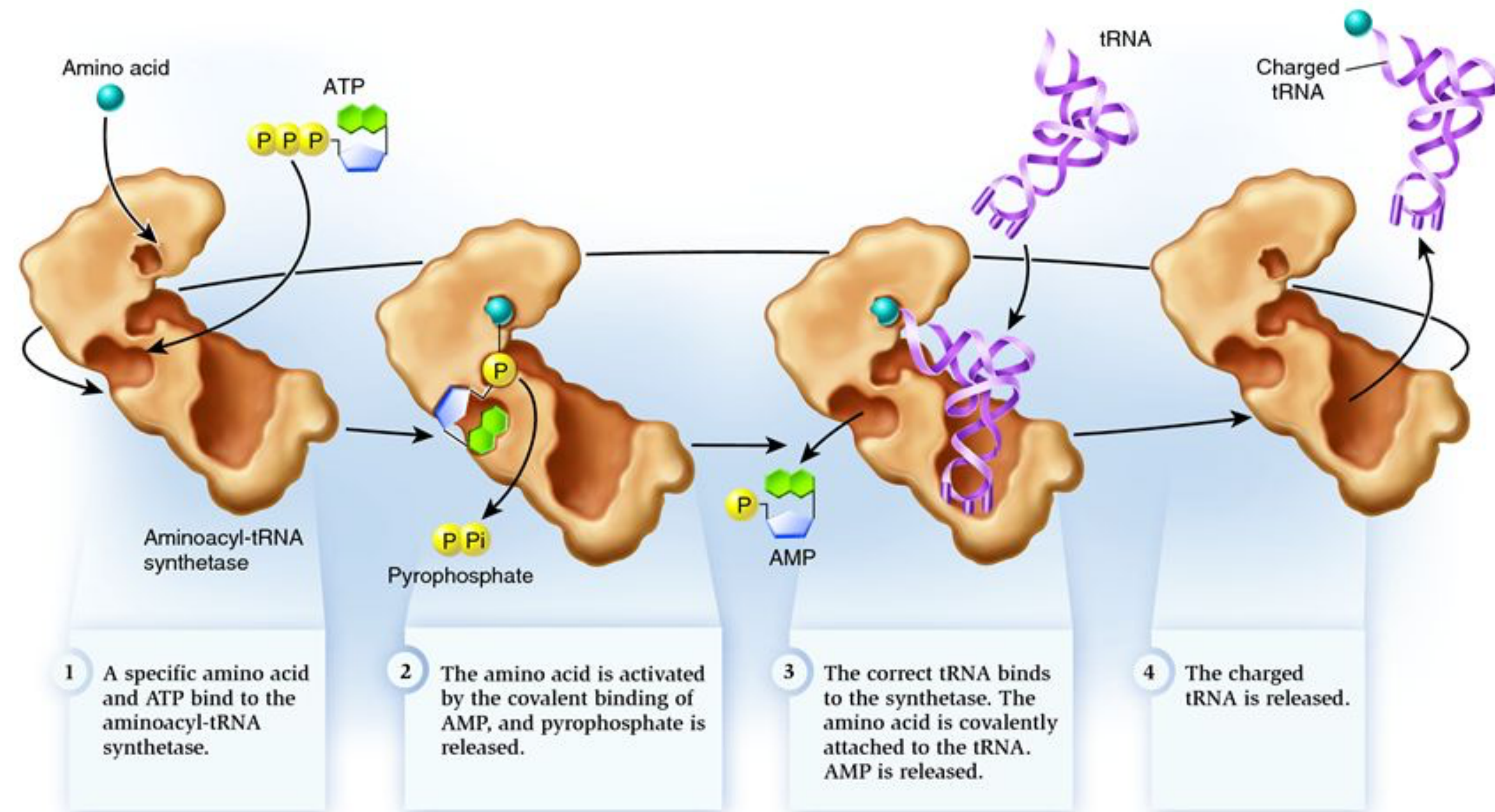


Wobble bases					
tRNA	C	A	G	U	I
mRNA	G	U	C	A	C
			U	G	A
					U

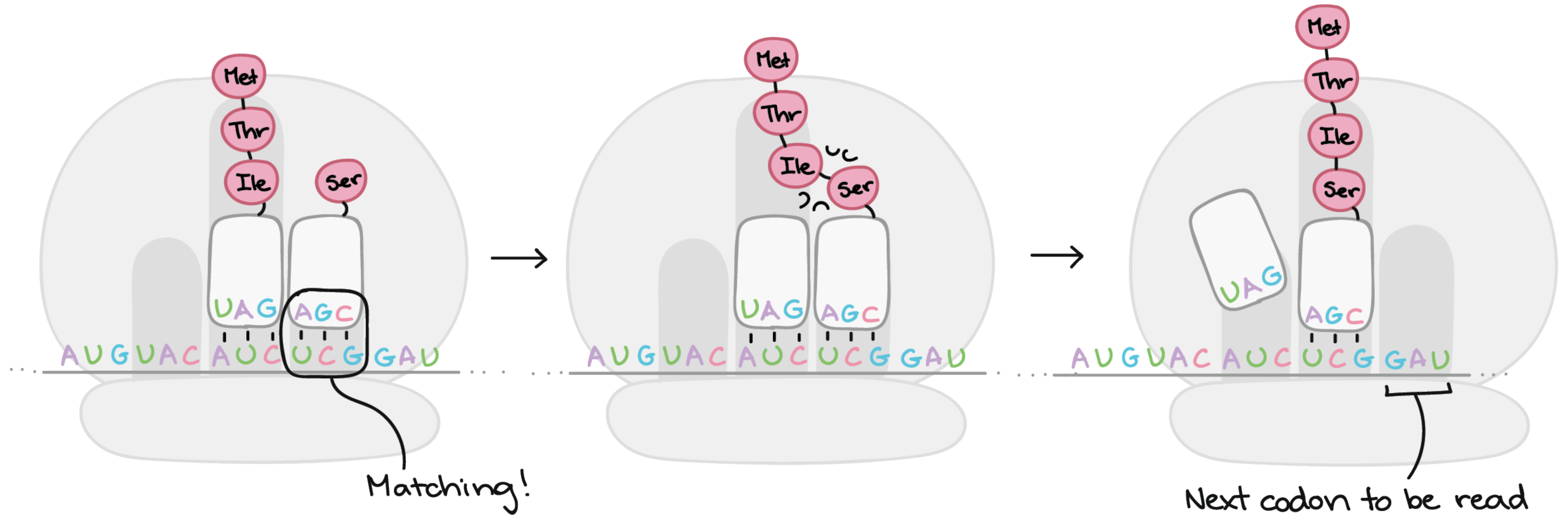
Wobble bases				
mRNA	C	A	G	U
tRNA	G	U	C	A
	I	I	U	G
				I

Aminoacylacja tRNA

- Przyłączanie aminokwasu do tRNA - aminoacylo-tRNA transferazy (syntetazy)
- specyficzne dla aminokwasu
- zwykle rozpoznawany nie jest antykodon, tylko elementy struktury tRNA
- istnieje aktywność korekcyjna (usunięcie niewłaściwie przyłączonego aminokwasu przez transferazę) - wierność rzędu 10^{-4}



Translacja



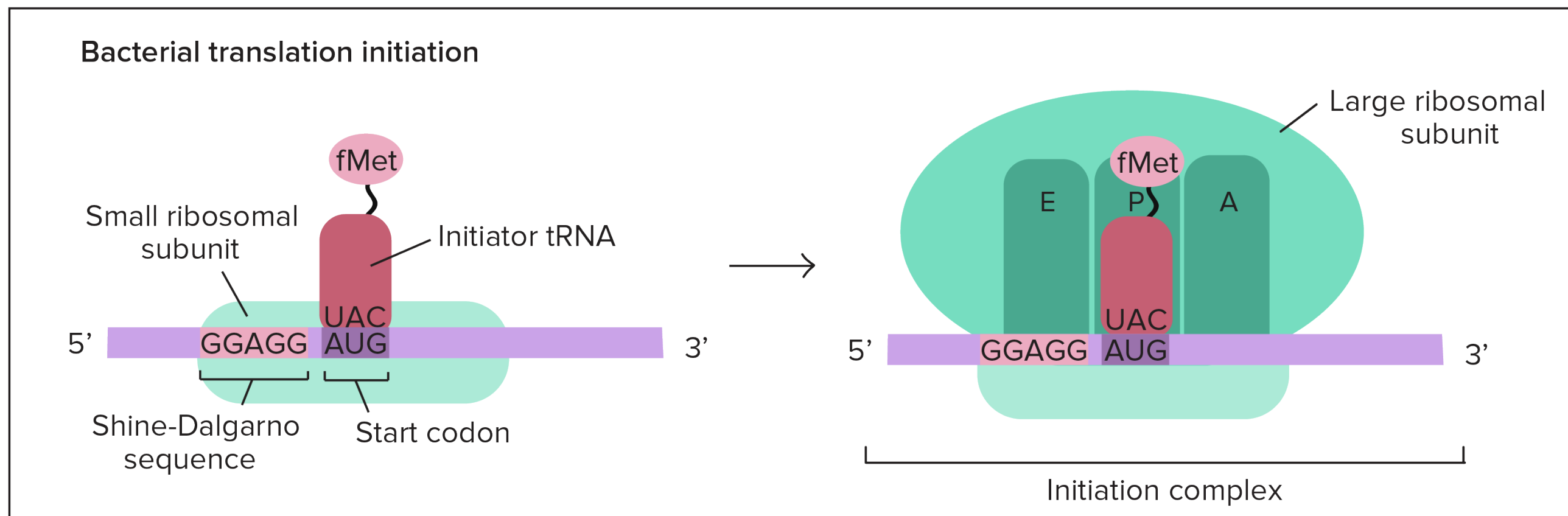
tRNA binds to exposed codon.

New amino acid attaches to polypeptide chain.

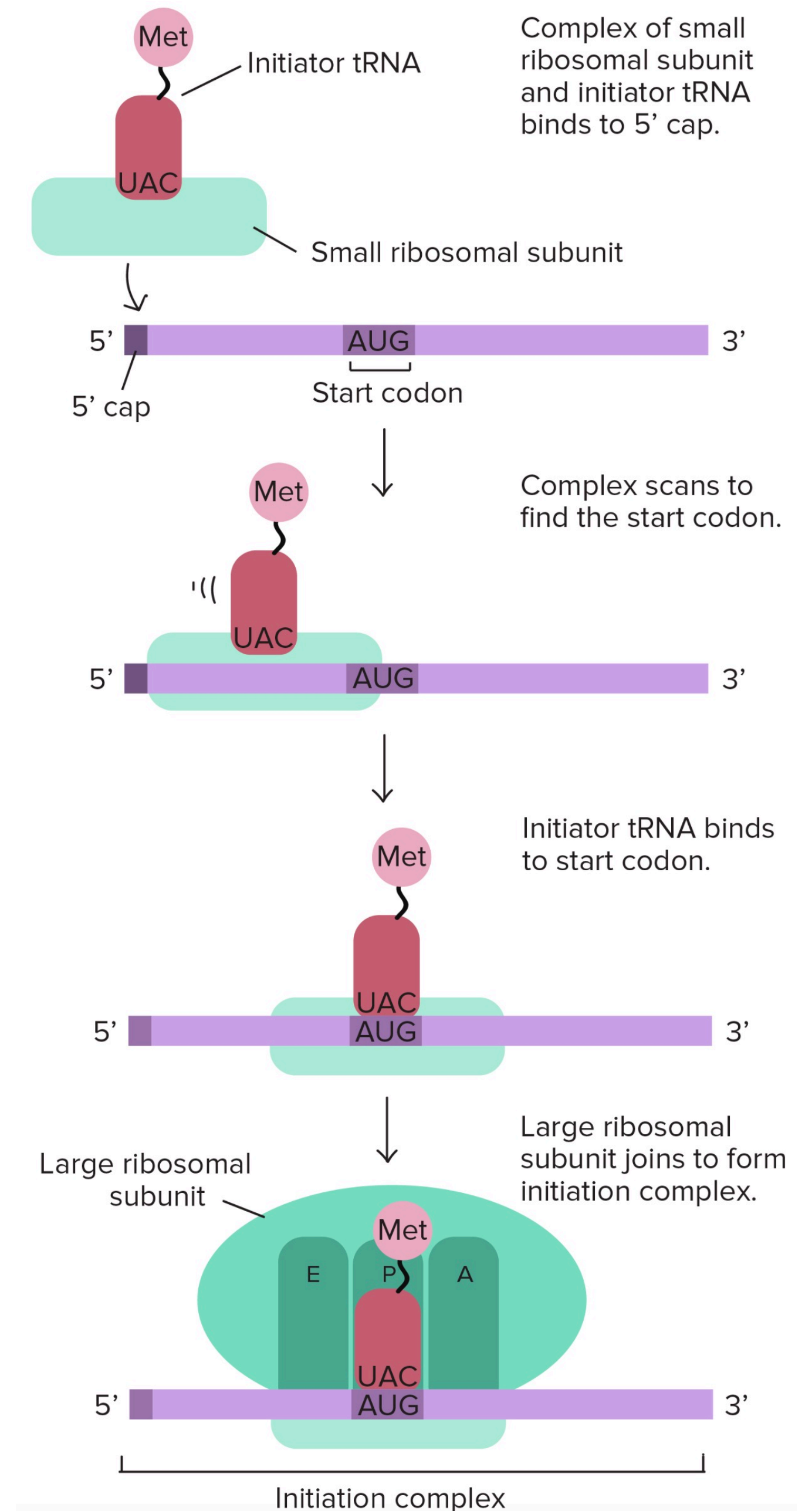
Ribosome shifts one codon over on the mRNA.

Inicjacja translacji

- Mała podjednostka rybosomu wiąże się z mRNA, następnie przyłącza się duża podjednostka
- u bakterii decyduje interakcja rRNA z sekwencją Shine-Dalgarno w mRNA
- u Eukaryota - czapeczka (kap) mRNA
- Kodon start - zwykle AUG (Met, u bakterii fMet)

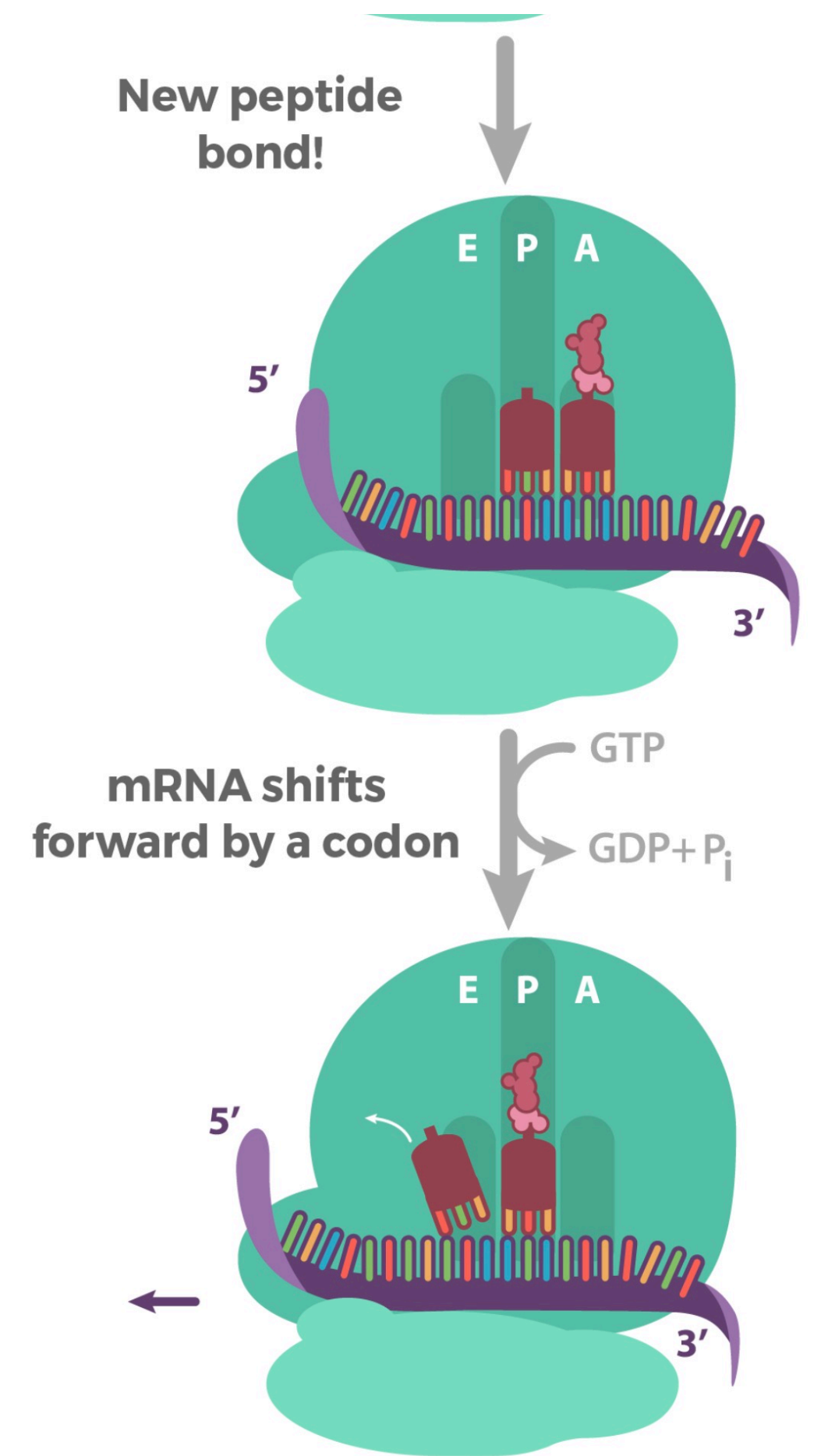
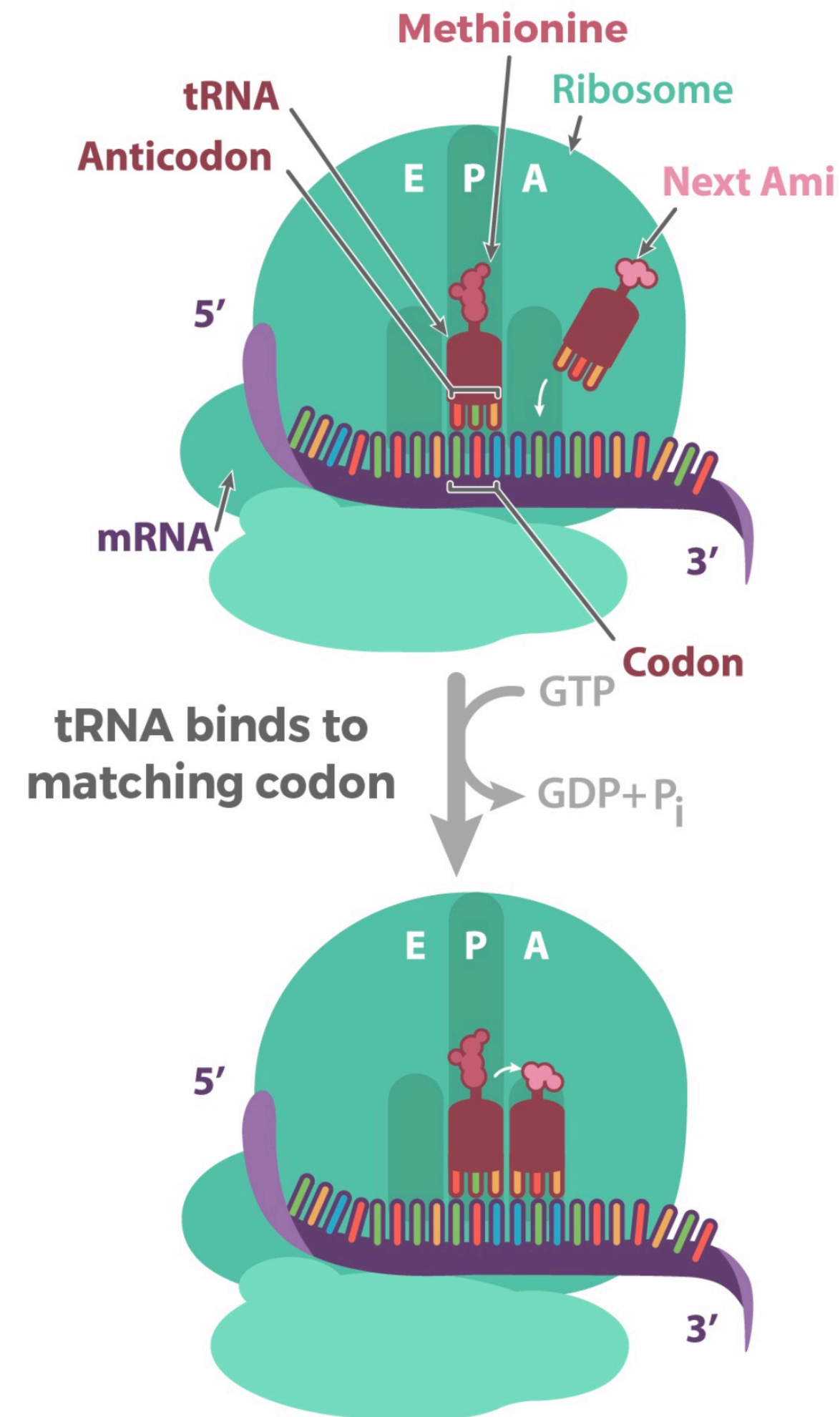


Eukaryotic translation initiation



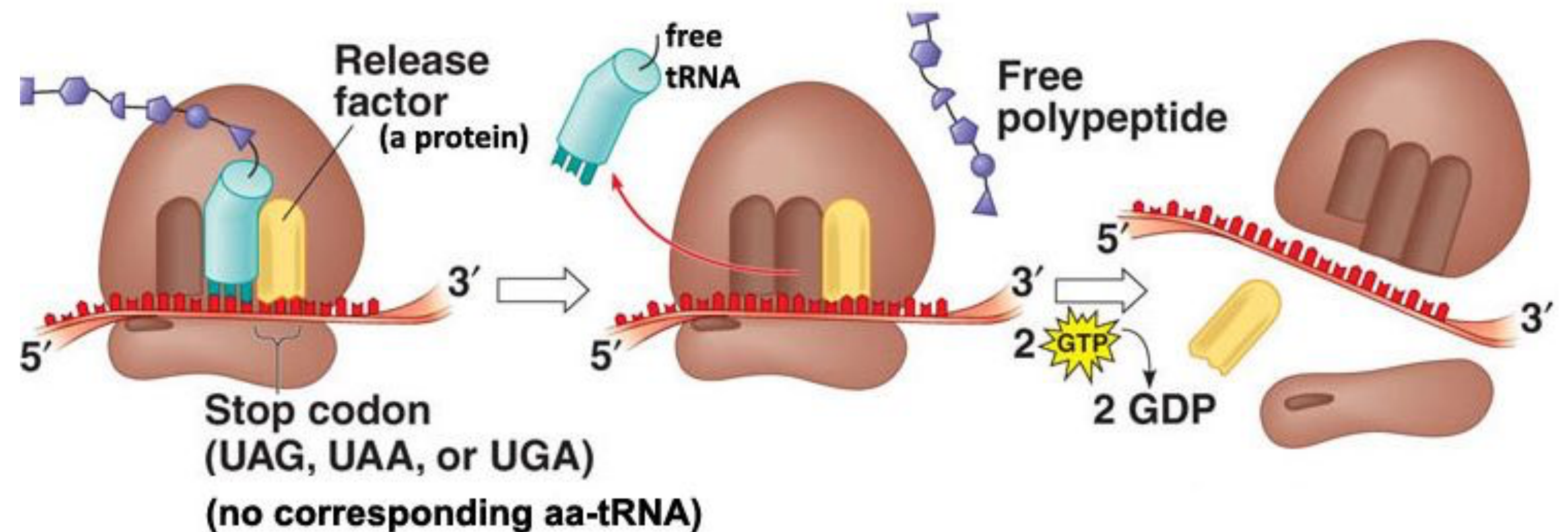
Elongacja

- Energię zapewnia hydroliza GTP przez czynnik elongacyjny
- u bakterii EF-G
- u Eukariontów eEF-2
- Tworzenie wiązania peptydowego - aktywność peptydylotransferazy (rybosom)
- przykład rybozymu - centrum katalitycznym jest cząsteczka rRNA



Terminacja

- Kodon stop - nie ma odpowiedniego tRNA
- Konkurencja o wiązanie między tRNA a czynnikiem uwalniającym RF
- RRF - *ribosome recycling factor* - rozdziela podjednostki



Nobel 2009 - chemia



The Nobel Prize in Chemistry 2009

"for studies of the structure and function of the ribosome"



Photo: MRC Laboratory of Molecular Biology

Venkatraman Ramakrishnan

🏆 1/3 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular Biology
Cambridge, United Kingdom



Credits: Michael Marsland/Yale University

Thomas A. Steitz

🏆 1/3 of the prize

USA

Yale University
New Haven, CT, USA;
Howard Hughes Medical Institute



Credits: Micheline Pelletier/Corbis

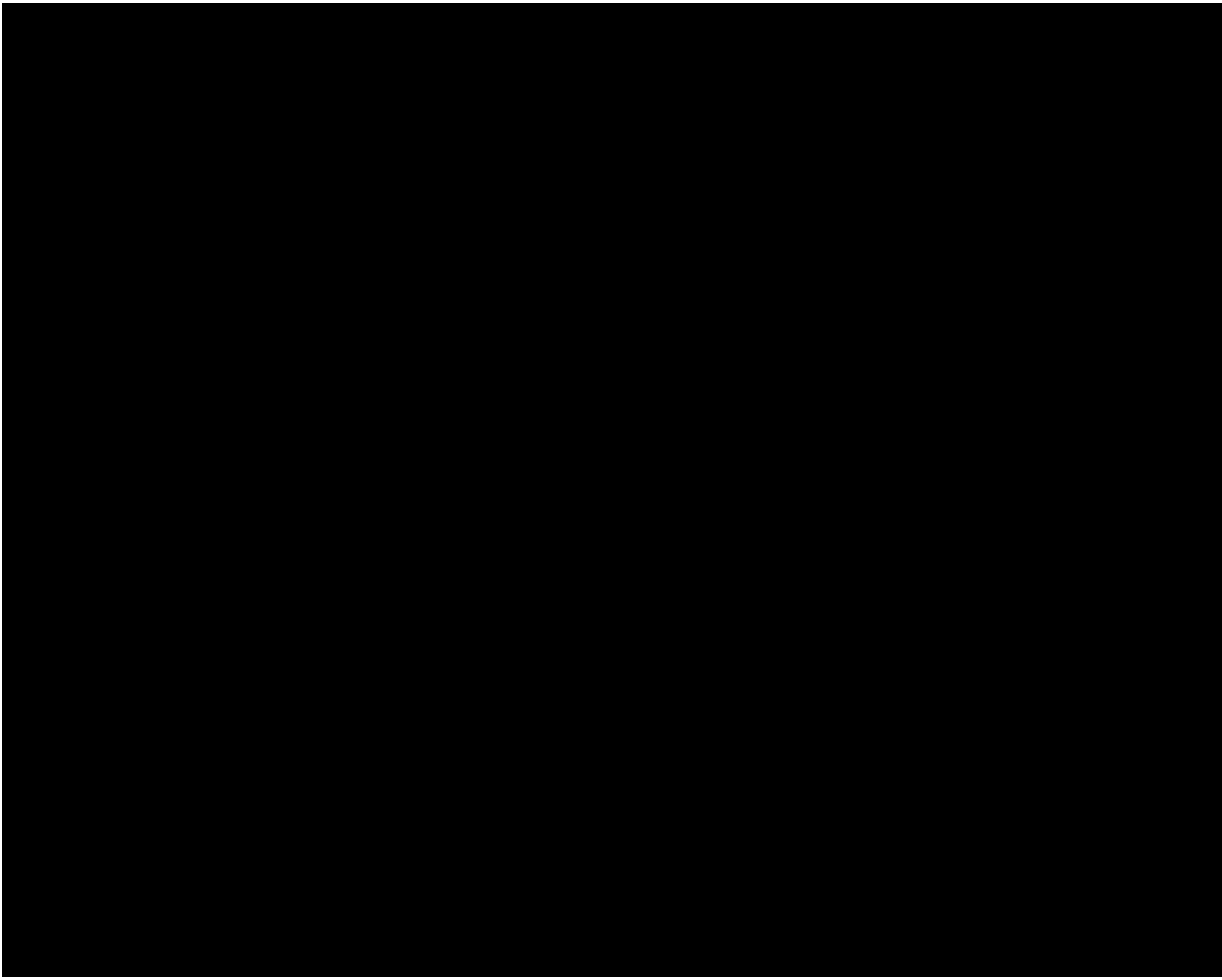
Ada E. Yonath

🏆 1/3 of the prize

Israel

Weizmann Institute of Science
Rehovot, Israel

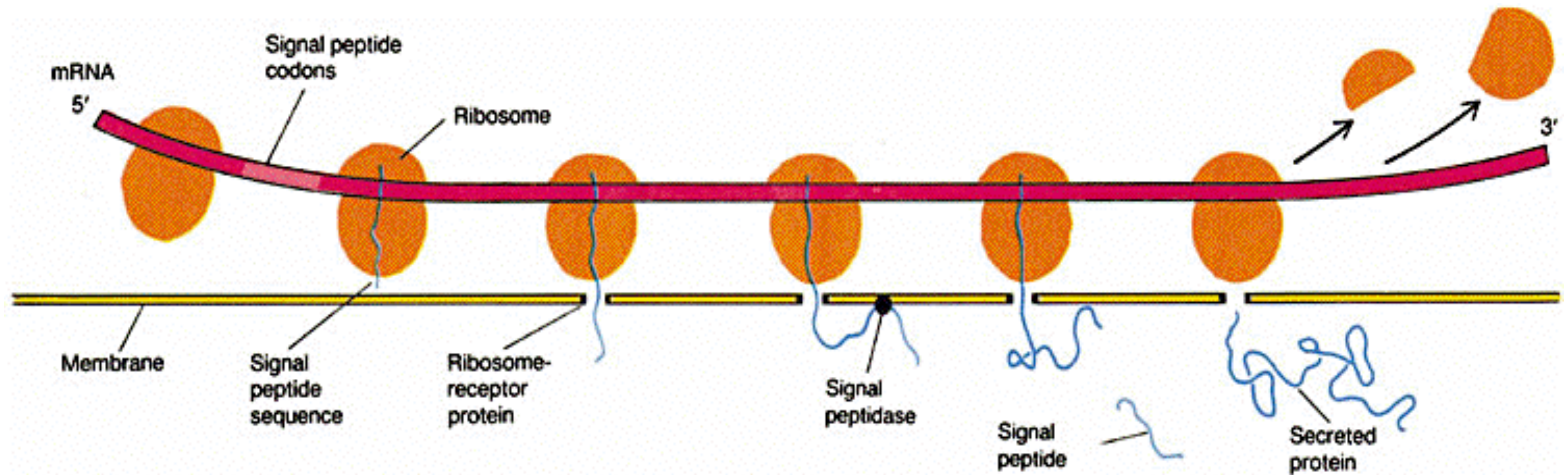




Animacje i struktury

http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/ribo/homepage/mov_and_overview.html

Sekwencja białka zawiera sygnały sortowania do przedziałów komórki



Kierowanie do ER i szlaku wydzielniczego zachodzi
równocześnie z translacją
Kierowanie do mitochondrium zachodzi po translacji

Białka podlegają złożonym modyfikacjom

- Fałdowanie – wspomagane przez białka opiekuńcze
 - Białka opiekuńcze odgrywają ważną rolę w patogenezie wielu chorób (nowotwory, choroba Huntingtona i inne choroby agregacyjne, choroba Parkinsona i Alzheimerera, mukowiscydoza)
- Modyfikacje chemiczne (fosforylacja, glikozylacja itp.)
- Ubikwitynacja i degradacja
 - Zaburzenia w ubikwitynacji i degradacji białek stwierdzono w rodzinnej postaci choroby Parkinsona, zespole Angelmana, anemiach Fanconiego, zespole von Hippel-Landau i innych

Przełączniki genetyczne

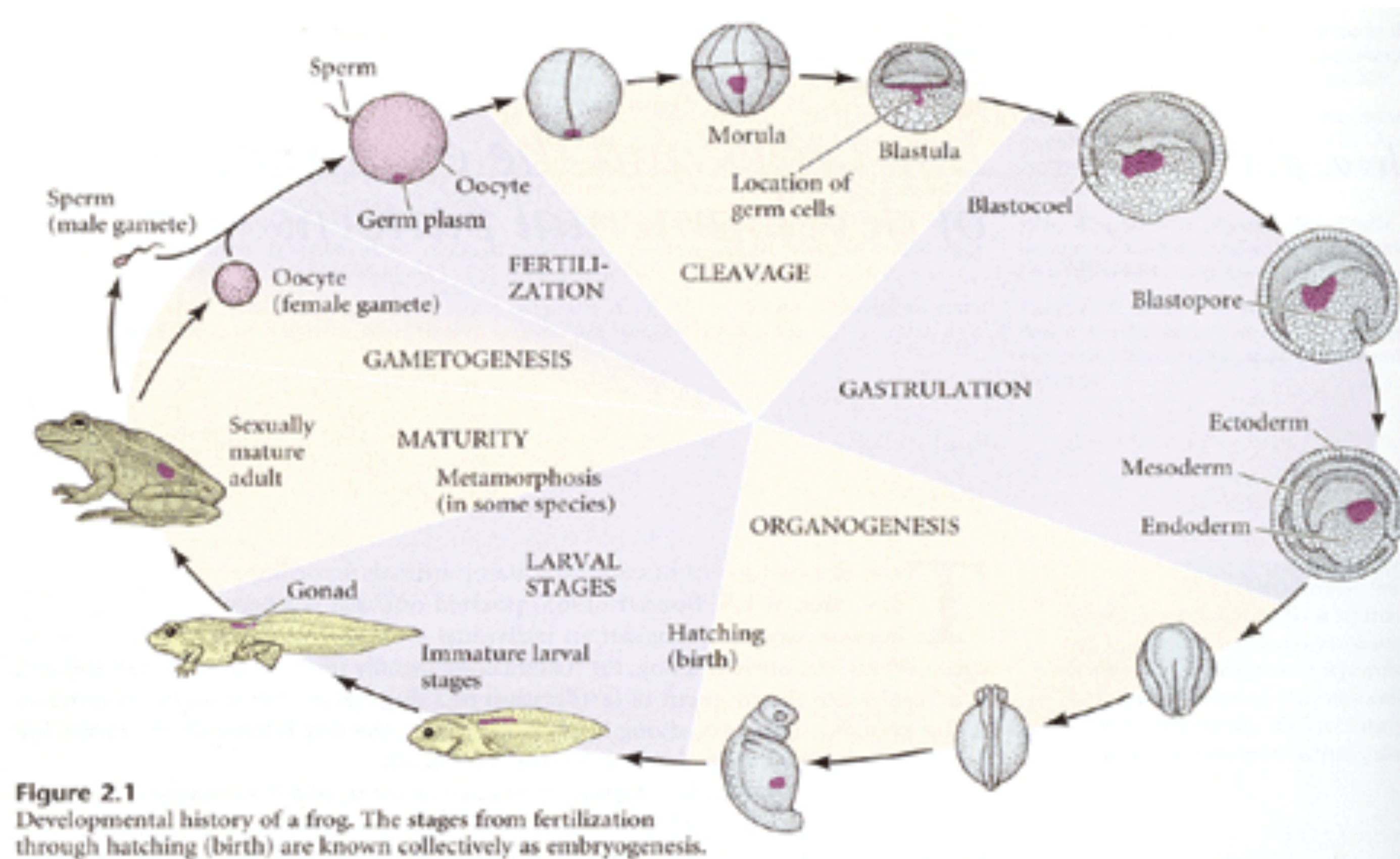
Genetyczne podstawy rozwoju i różnicowania

Literatura

- Brown, r. 14 (wyd. 3)

Ekspresja genów a rozwój

- Zmiany ekspresji genu odpowiadają na czynniki środowiskowe i wewnętrzne
- Utrzymanie homeostazy
- Adaptacja do środowiska
- Rozwój i różnicowanie – tworzenie złożonych struktur przez lokalne interakcje

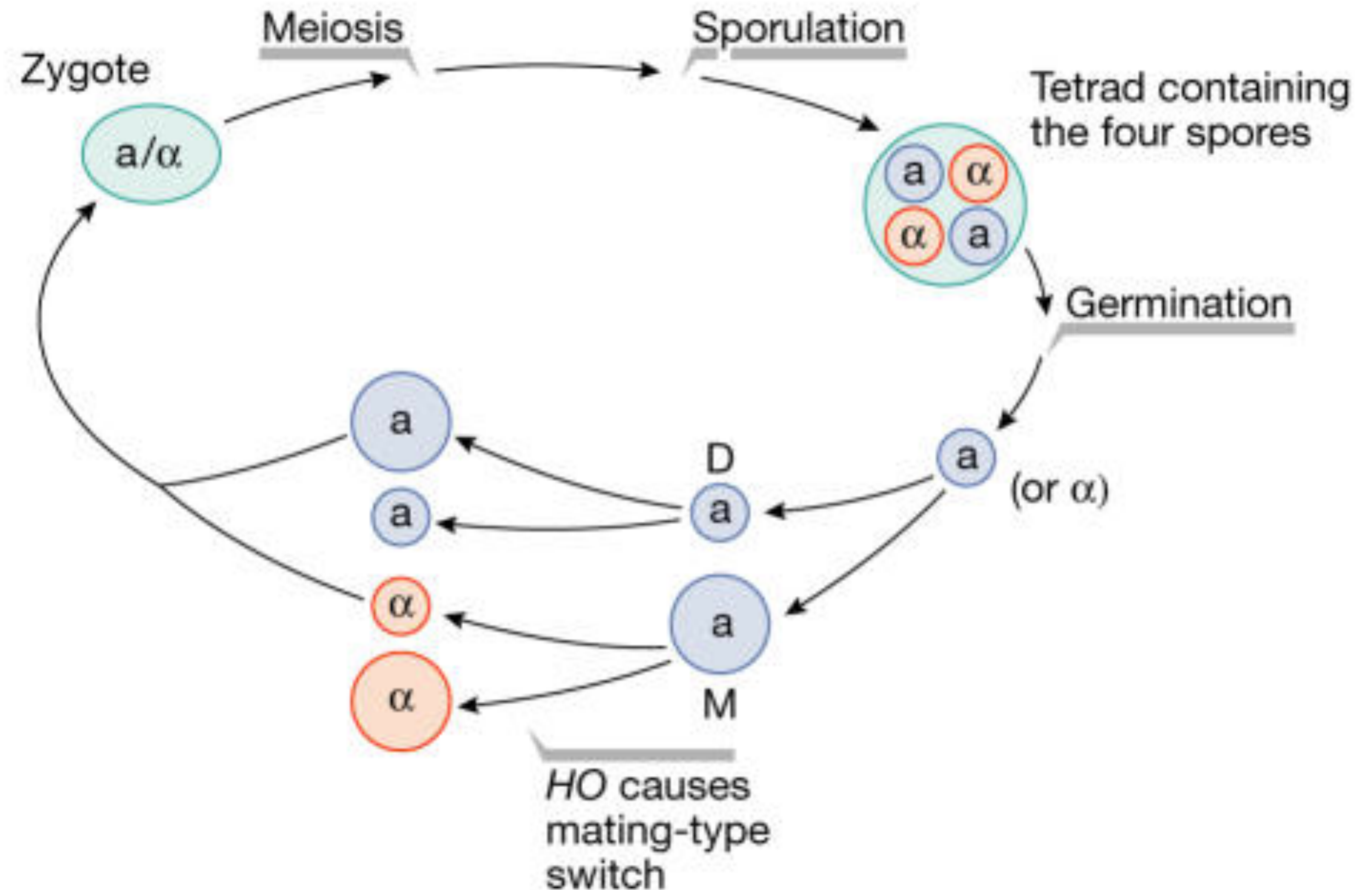


Przełączniki genetyczne - dwa rodzaje

- Zmiana informacji genetycznej w rozwoju
 - Rearanżacje DNA: nieodwracalne lub odwracalne
- Regulacja ekspresji genu
 - Kaskady i sieci regulacyjne oparte na kontroli ekspresji
 - Transdukcja sygnału – integracja informacji ze środowiska
 - Mechanizmy epigenetyczne
 - chromatyna, miRNA

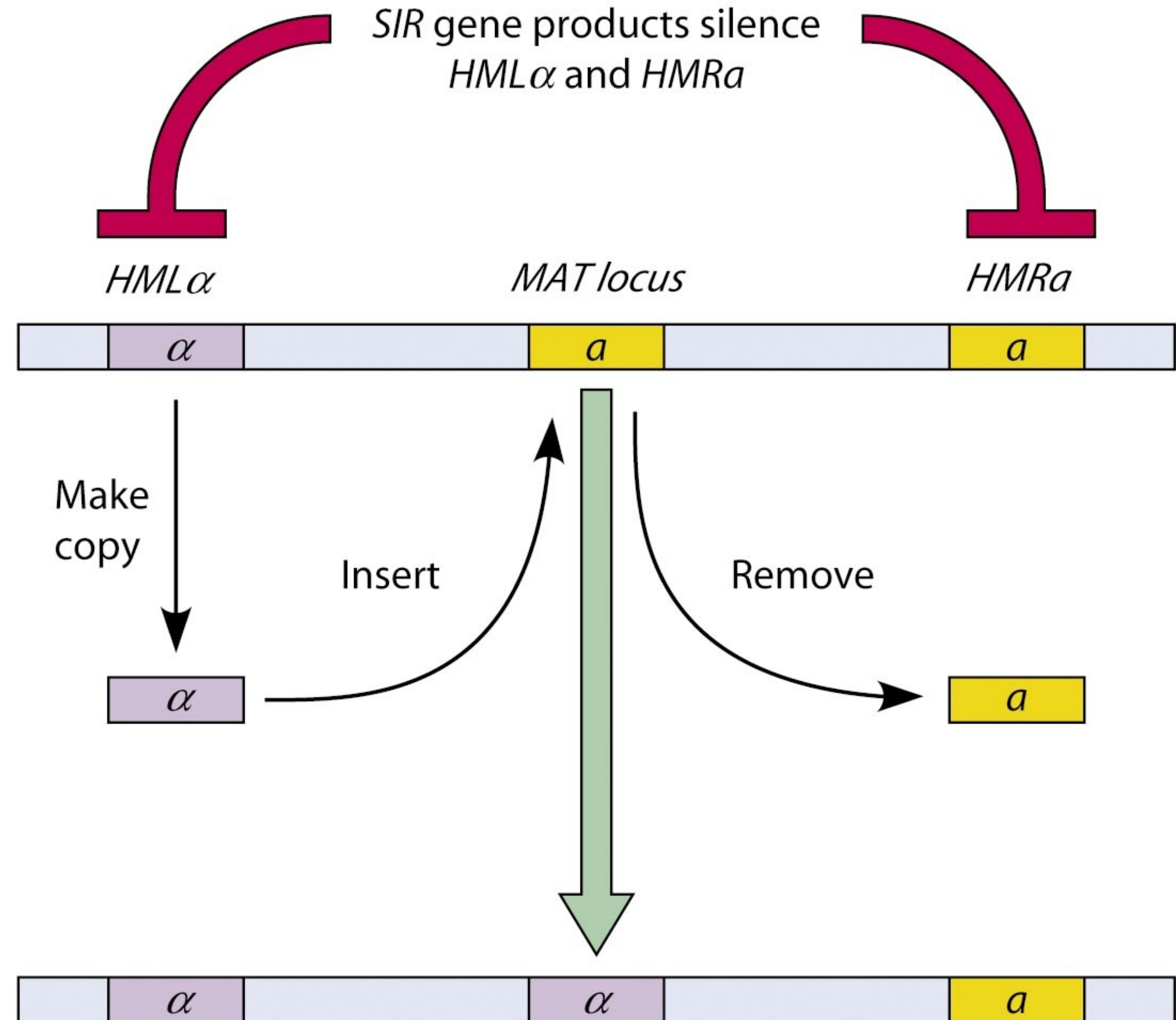
Odwracalna rearanżacja DNA

- System *MAT* u *S. cerevisiae*
- Dwa typy płciowe: a i α
- Po podziale (pączkowaniu) komórka może zmienić typ płciowy (tylko komórka-matka)

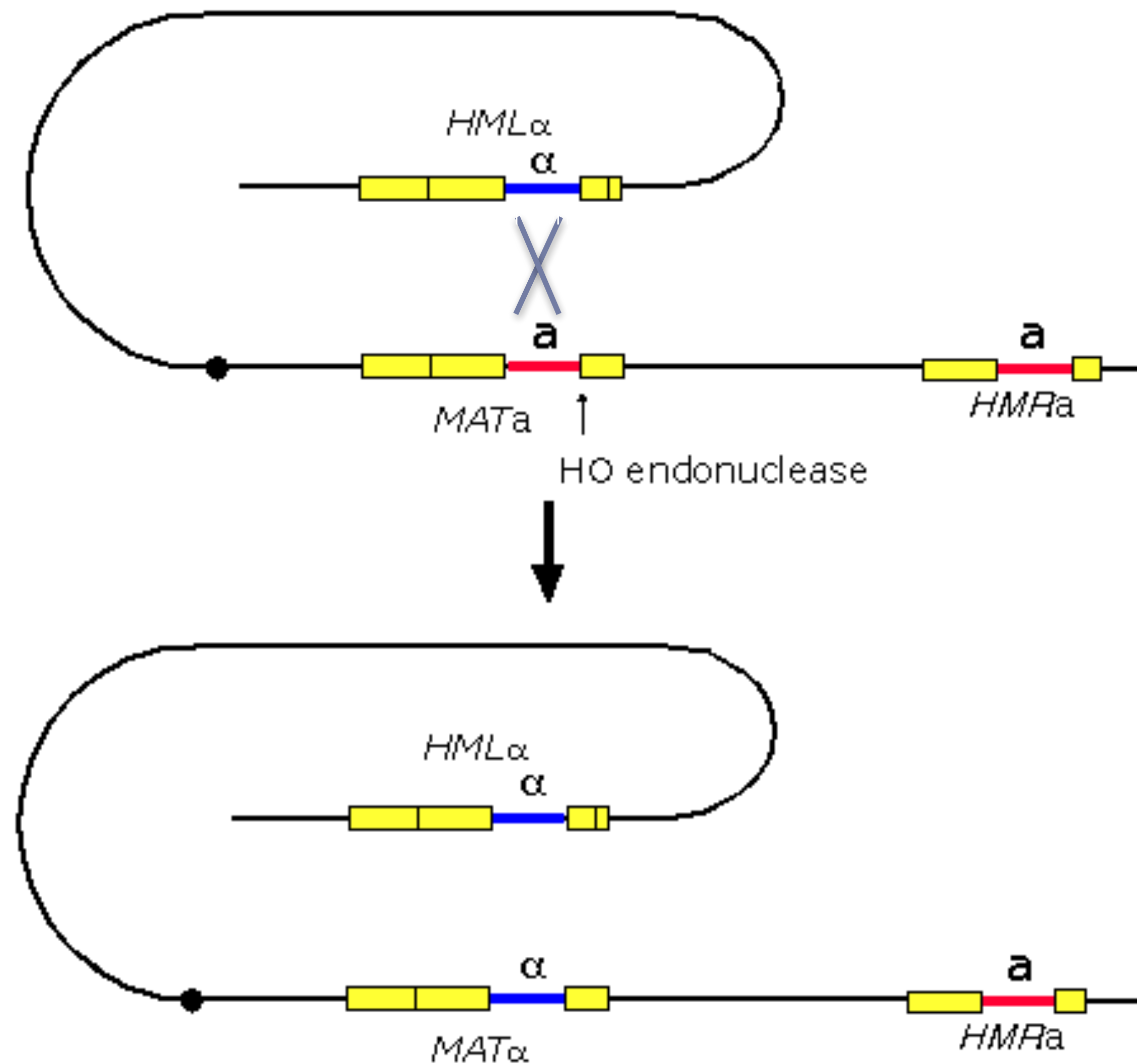


Przełączanie typu płciowego drożdży

- Na chr. III oprócz aktywnego locus *MAT* dwie wyciszone kasety *HML α* i *HMR a*
- Przełączenie typu: mechanizm konwersji genu przez rekombinację
- Inicjowany przez nacięcie DNA endonukleazą HO

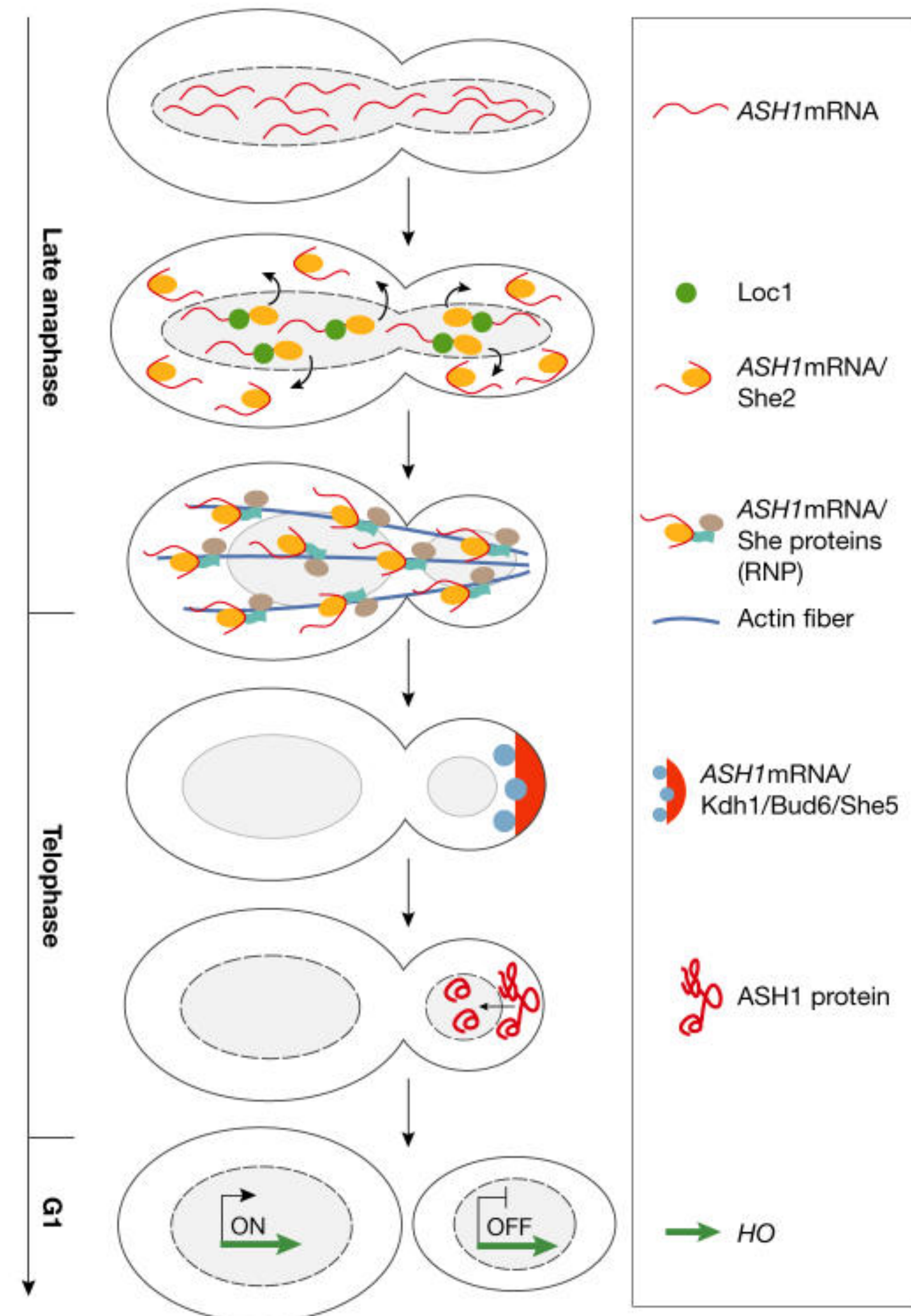


Konwersja kasety MAT - rekombinacja



Dlaczego przełączenie zachodzi tylko w komórce-matce?

- Endonukleaza HO aktywna tylko w komórce-matce
- W pączku wyciszona przez białko Ash1
- mRNA *ASH1* transportowany do pączka podczas podziału



Nieodwracalna rerańżacja DNA

- Generowanie różnorodności przeciwciał i receptorów limfocytowych
- Obszary zmienne łańcuchów przeciwciał determinują swoistość wobec antygeny
- Różne limfocyty wyrażają różne przeciwciała/receptory
- Populacje swoiste wobec odpowiednich antygenów podlegają selekcji

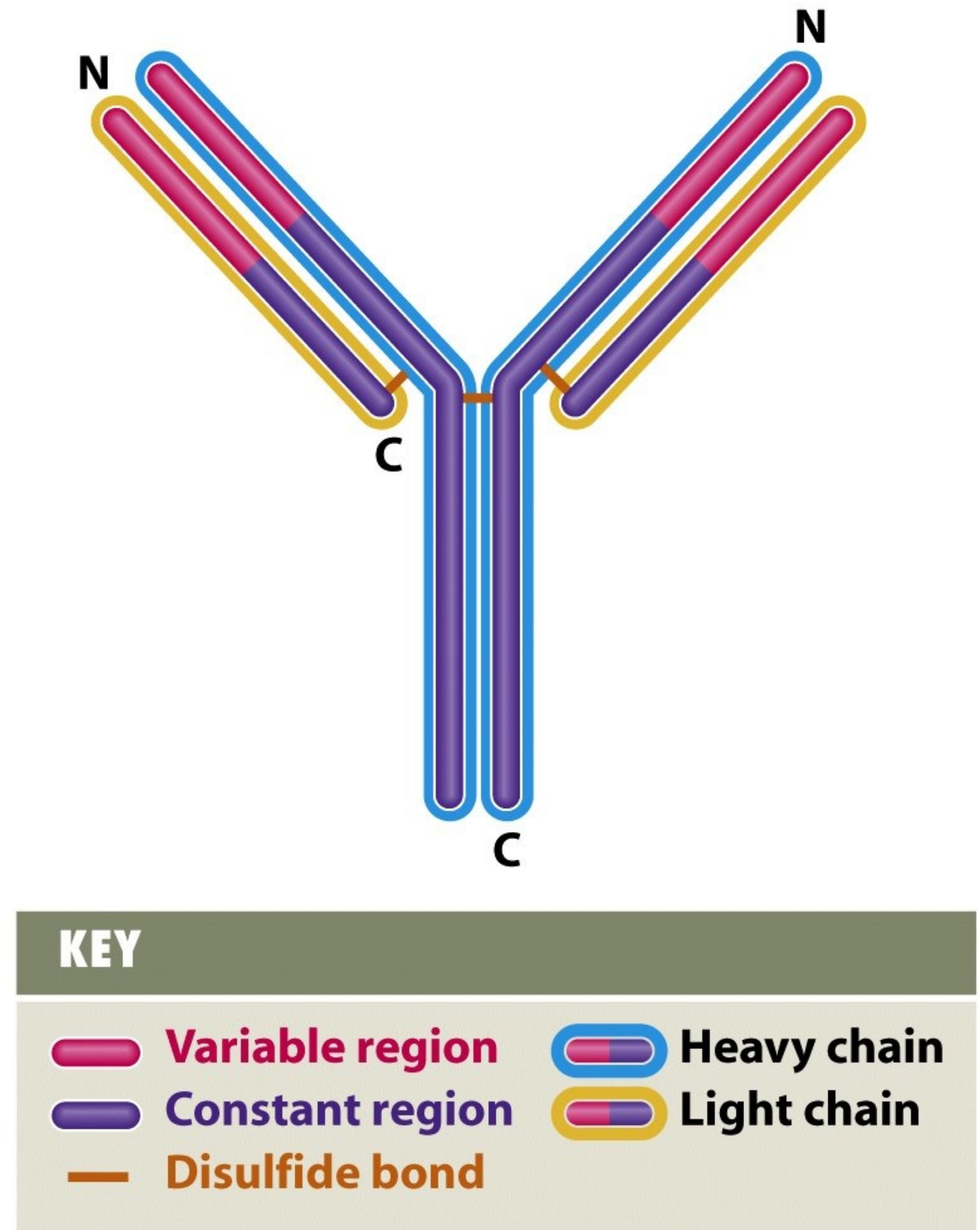


Figure 14-17 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

Generowanie różnorodności przeciwciał i receptorów limfocytowych

- Geny przeciwciał występują w postaci segmentów:
- Obszar zmienny: segmenty V, D (tylko w łańcuchu H) i J
 - determinuje swoistość wobec antygeny
- Obszar stały: segmenty C
 - determinuje klasę immunoglobuliny
- Podczas rozwoju prekursorów limfocytów dochodzi do rearanżacji segmentów w różnych kombinacjach

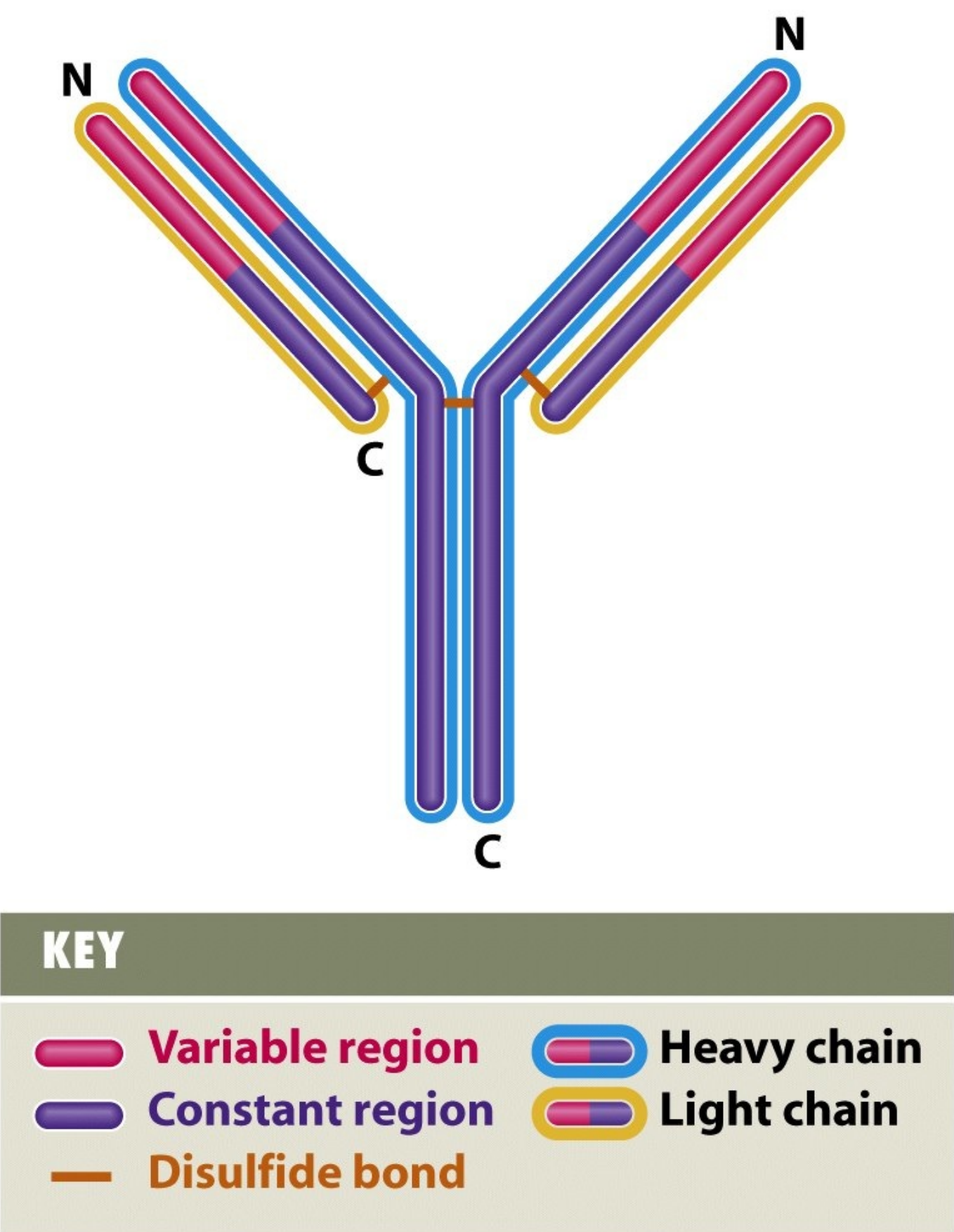
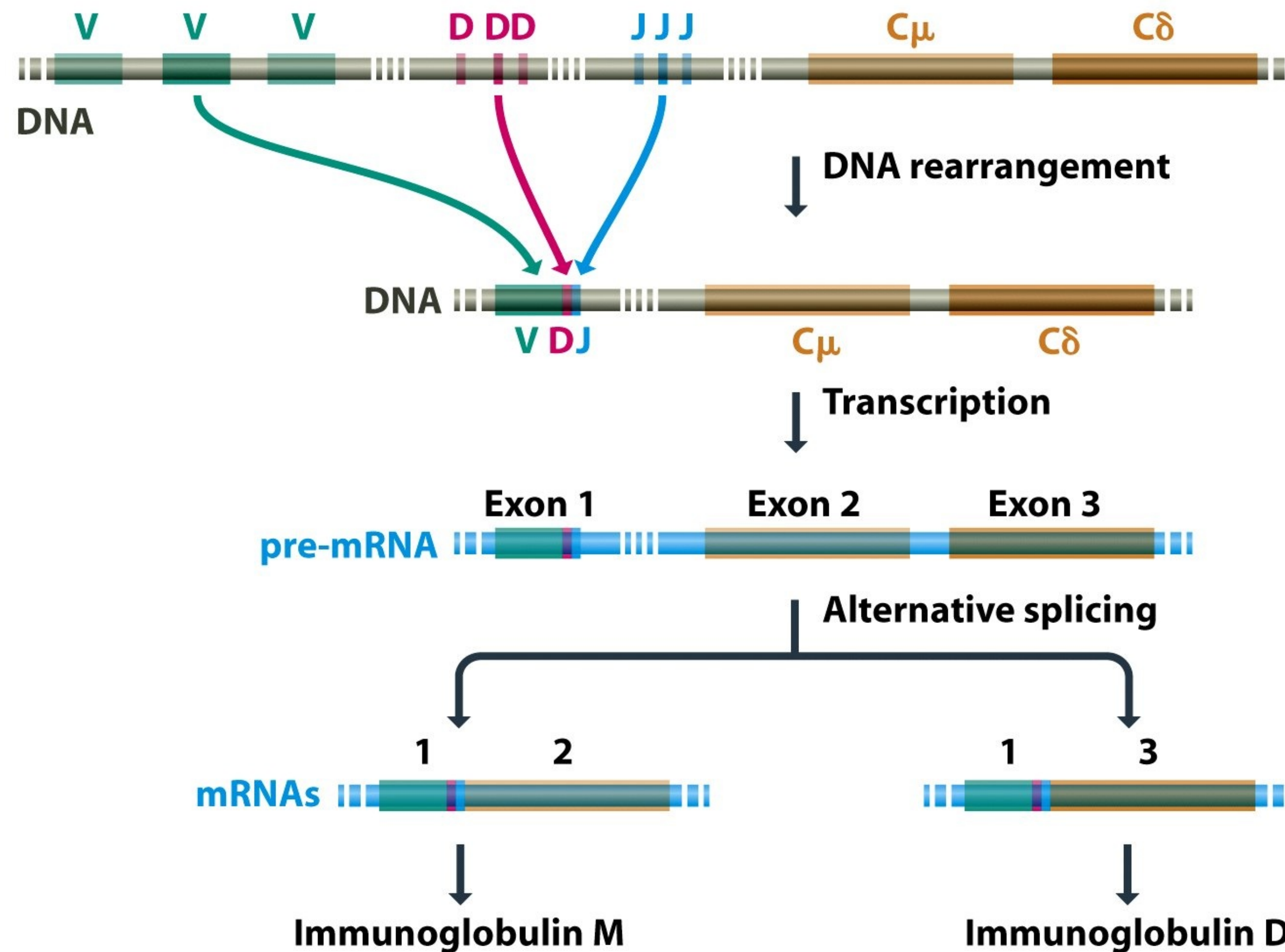


Figure 14-17 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

	V	D	J	C
Łańcuch H	120-13	27	9	11
Łańcuch L	70	-	7-11	7-11

Rearanżacja V-D-J i synteza IgM i IgD



Dalsze przełączanie klas

- Zmiana z IgM/IgD na inne klasy – delecja segmentów C i wykorzystanie kolejnych
- Indukowane przez aktywność transkrypcyjną
- np. dla IgG:

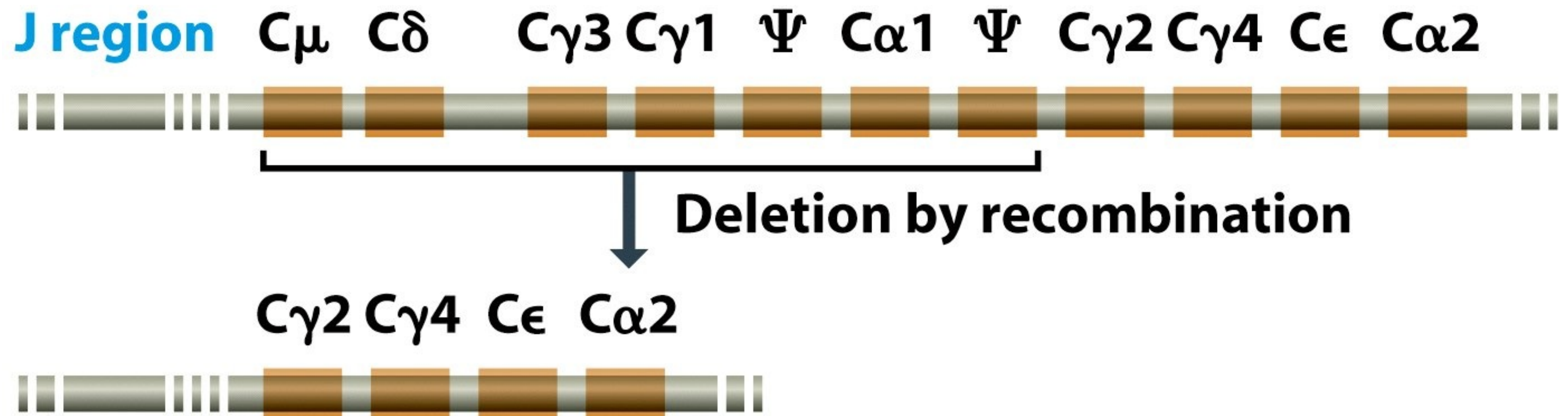


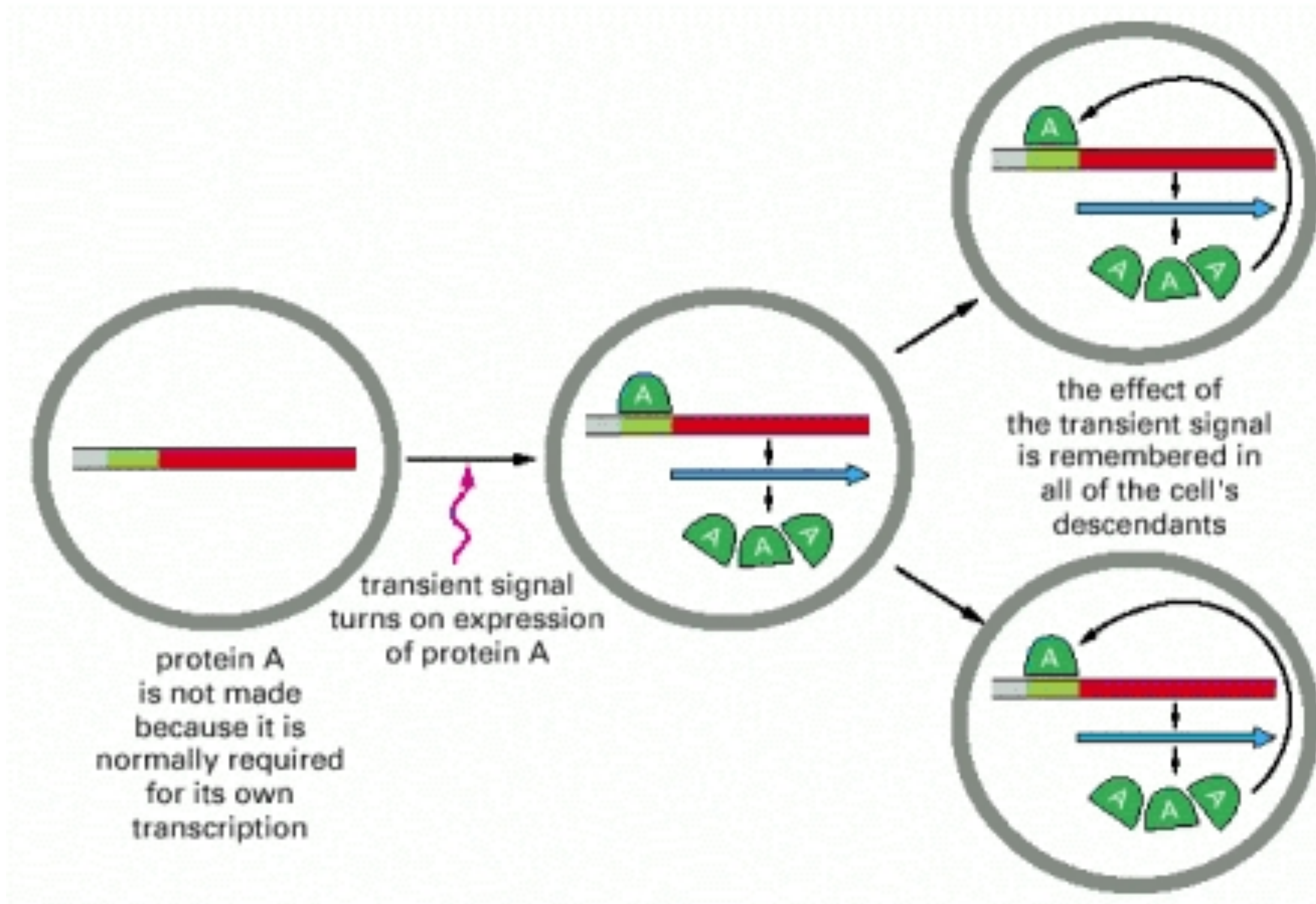
Figure 14-20 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

Przełączniki oparte na regulacji ekspresji

- Nie dochodzi do zmiany sekwencji DNA
 - Teoretycznie odwracalne, ale mogą być bardzo stabilne
 - Mechanizmy transkrypcyjne lub inne (np. alternatywne składanie)
 - Mechanizmy epigenetyczne (metylacja DNA, chromatyna, miRNA, itp.)
- Proste układy:
 - Pętle sprzężenia zwrotnego
 - Przełączniki dwustanowe
- Bardziej złożone układy
 - Oscylatory i zegary
 - Integracja sygnałów z otoczenia: gradienty morfogenów i efekty lokalne
 - Sieci i systemy

Dodatnie sprzężenie zwrotne

Może dawać efekt pamięci –
stabilnego utrzymywania zmienionego stanu



XII



La planète suivante était habitée par un buveur. Cette visite fut très courte, mais elle plongea le petit prince dans une grande mélancolie :

« Que fais-tu là ? dit-il au buveur, qu'il trouva installé en silence devant une collection de bouteilles vides et une collection de bouteilles pleines.

- Je bois, répondit le buveur, d'un air lugubre.
- Pourquoi bois-tu ? lui demanda le petit prince.
- Pour oublier, répondit le buveur.
- Pour oublier quoi ? s'enquit le petit prince qui déjà le plaignait.
- Pour oublier que j'ai honte, avoua le buveur en baissant la tête.
- Honte de quoi ? s'informa le petit prince qui désirait le secourir.
- Honte de boire ! » acheva le buveur qui s'enferma définitivement dans le silence.

Prosty przełącznik dwustanowy: fag λ

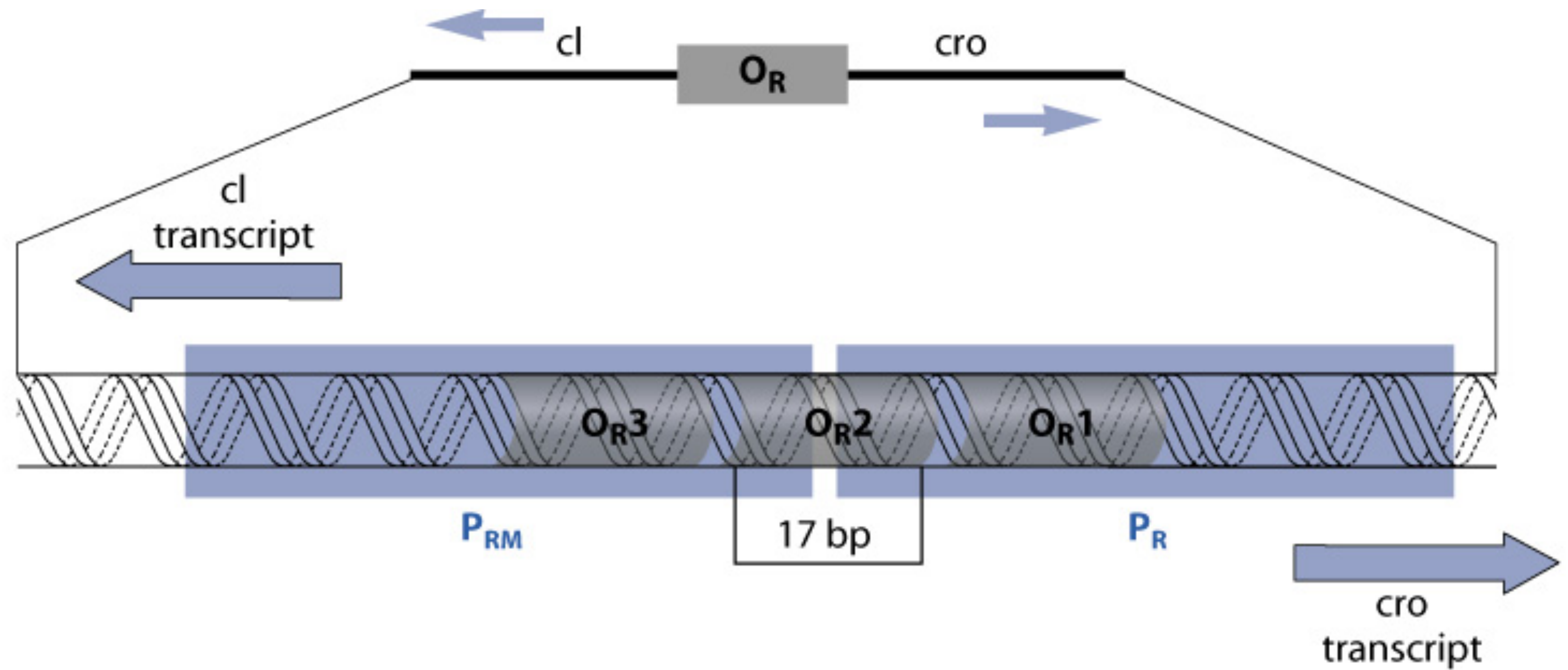
- Cykl lizogeny
 - Integracja do genomu
 - Wyciszenie ekspresji genów faga
- Cykl lityczny
 - Wycięcie z genomu
 - Ekspresja genów faga
 - Replikacja



A Genetic Switch, 3rd edition, 2004
© Cold Spring Harbor Laboratory Press
Introduction, Figure 1b

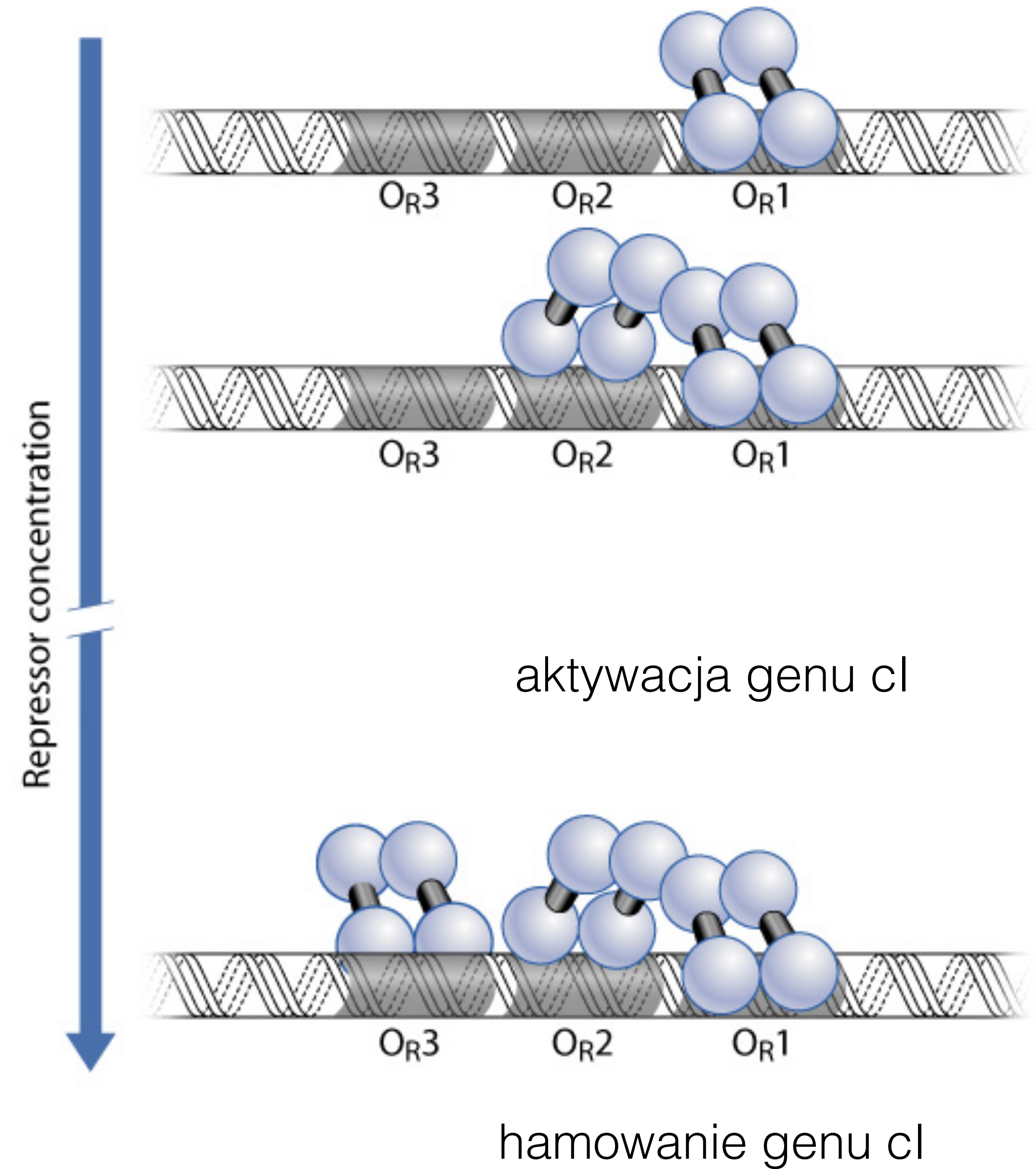
Kontrola przełącznika faga λ

- *cl* – represor: cykl lizogenny
- *cro* – cykl lityczny
- wspólne sekwencje *cis*



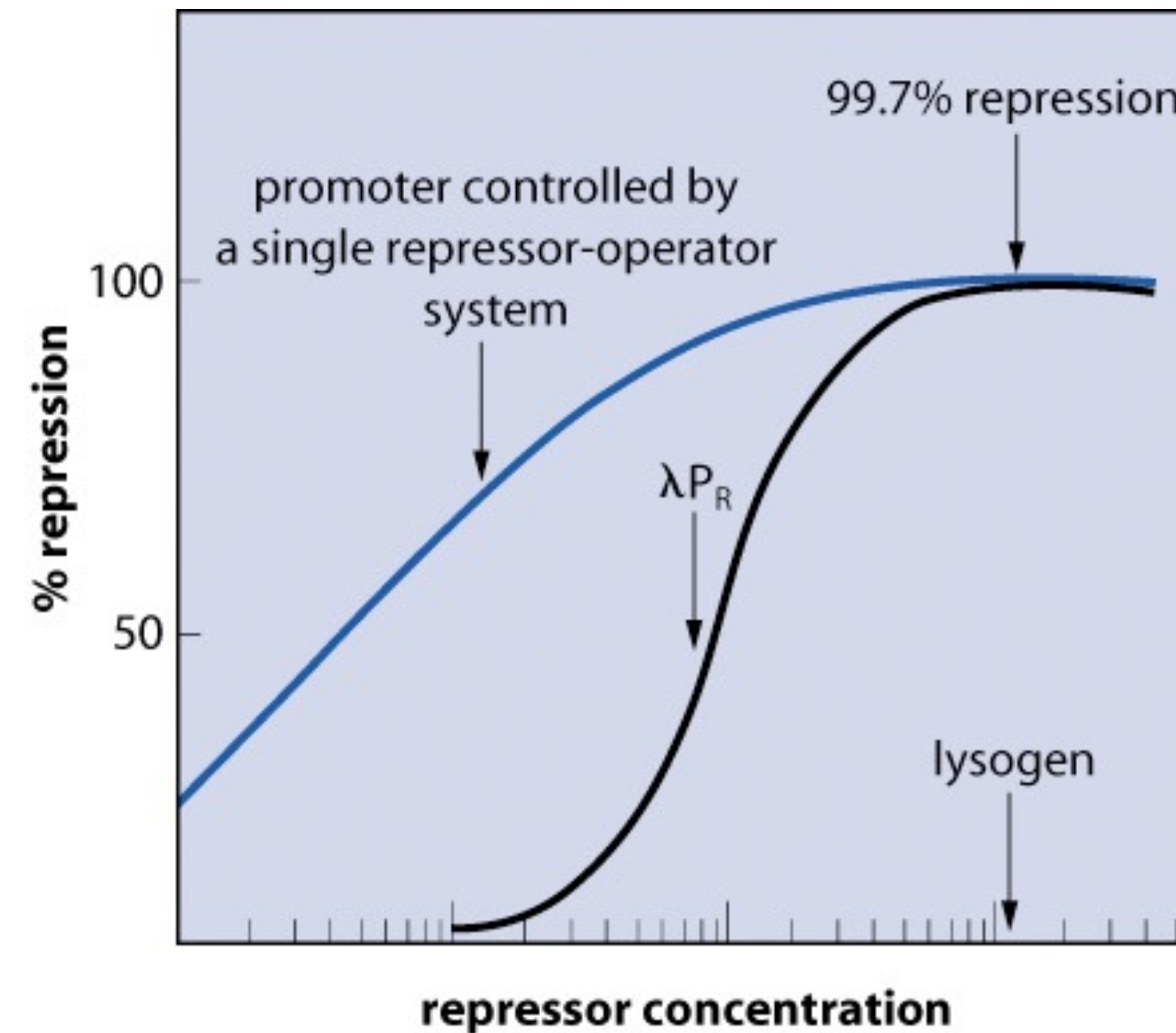
Działanie represora

- Hamuje ekspresję genów wczesnych, w tym *cro*
- Aktywuje własną ekspresję
 - Zależnie od poziomu białka
 - Przy niskim i średnim stężeniu białka represora wiązanie z O_R1 i O_R2
 - Przy dużym stężeniu białka represora wiązanie też z O_R3 – hamowanie ekspresji *cl*
- Dodatnie sprzężenie zwrotne utrzymuje wysoki stały poziom represora *cl*

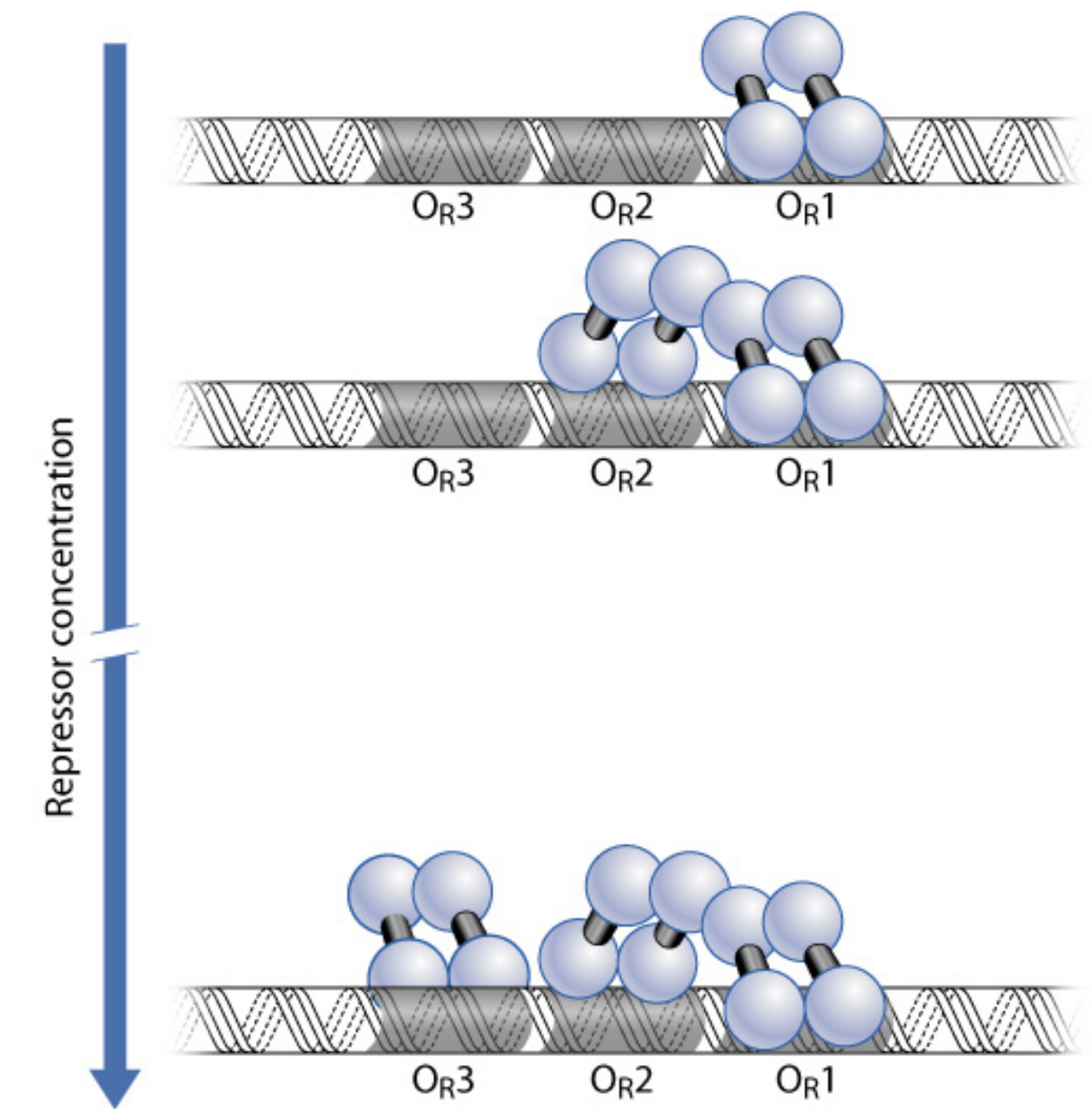


Efekt kooperatywny

- Powinowactwo do OR2 dużo niższe, niż do OR1
- Związanie *cI* z OR1 zwiększa powinowactwo do OR2 – wiązanie kooperatywne
- Taki rodzaj wiązania daje szybką i jednoznaczną odpowiedź układu na stężenie *cI*



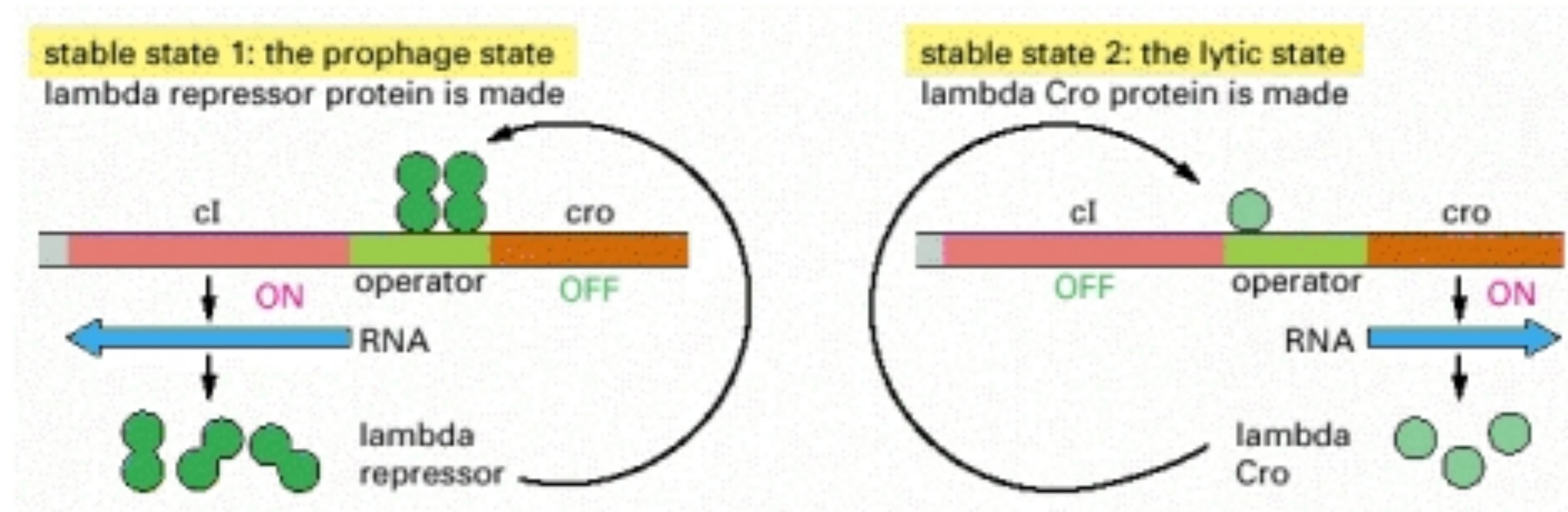
A Genetic Switch, 3rd edition, 2004
© Cold Spring Harbor Laboratory Press
Chapter 1, Figure 25



A Genetic Switch, 3rd edition, 2004
© Cold Spring Harbor Laboratory Press
Chapter 1, Figure 16

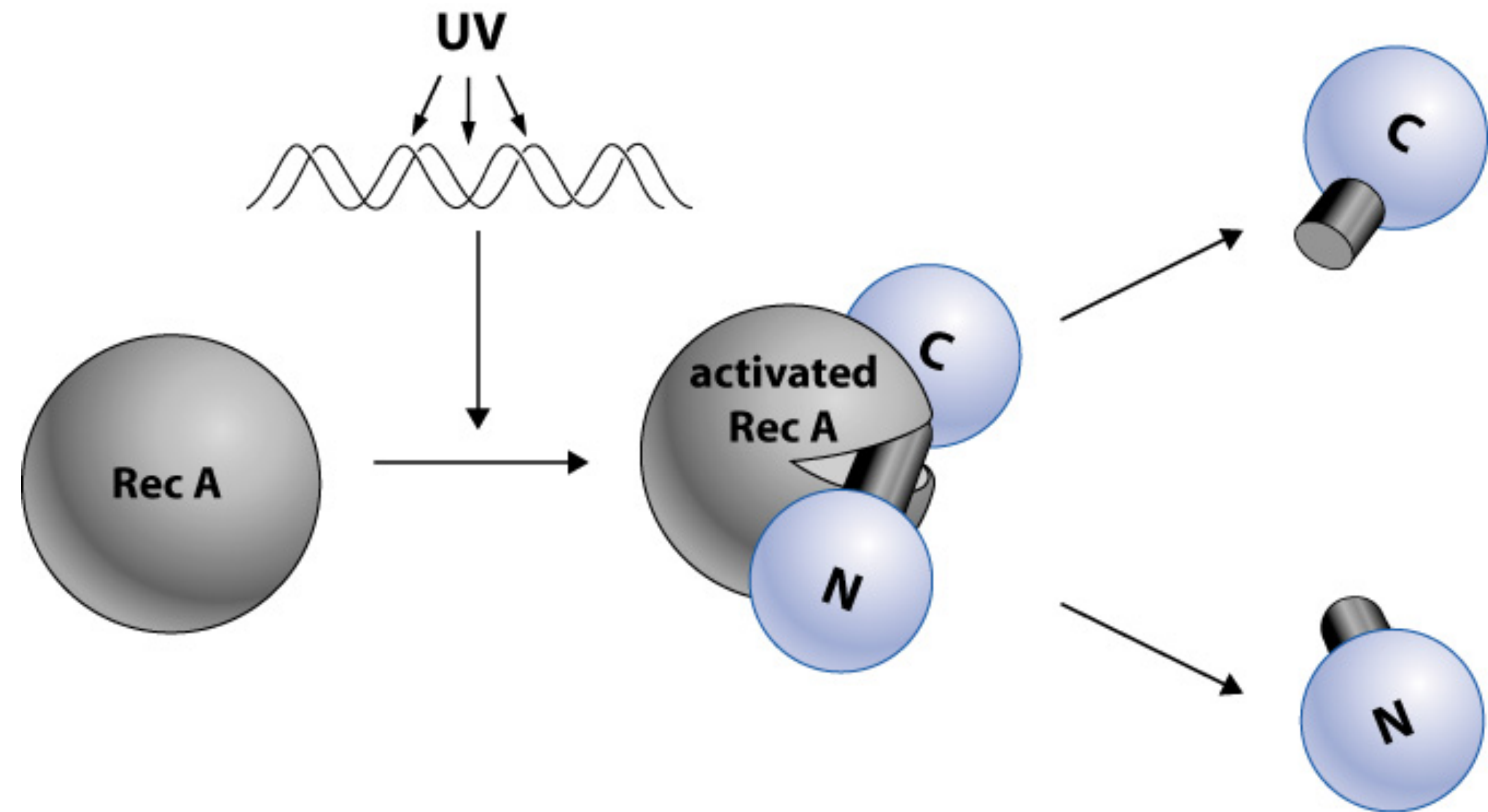
Działanie *cro*

- Blokuje ekspresję represora *cI*
- Brak *cI* – ekspresja genów wczesnych, kaskada lityczna
- Dalsze etapy przez antyterminację zależną od produktu genu N
- Efekt: przełącznik dwustanowy (bistabilny)
 - ***cI* aktywny -> nieaktywny *cro***
 - ***cro* aktywny -> nieaktywny *cI***



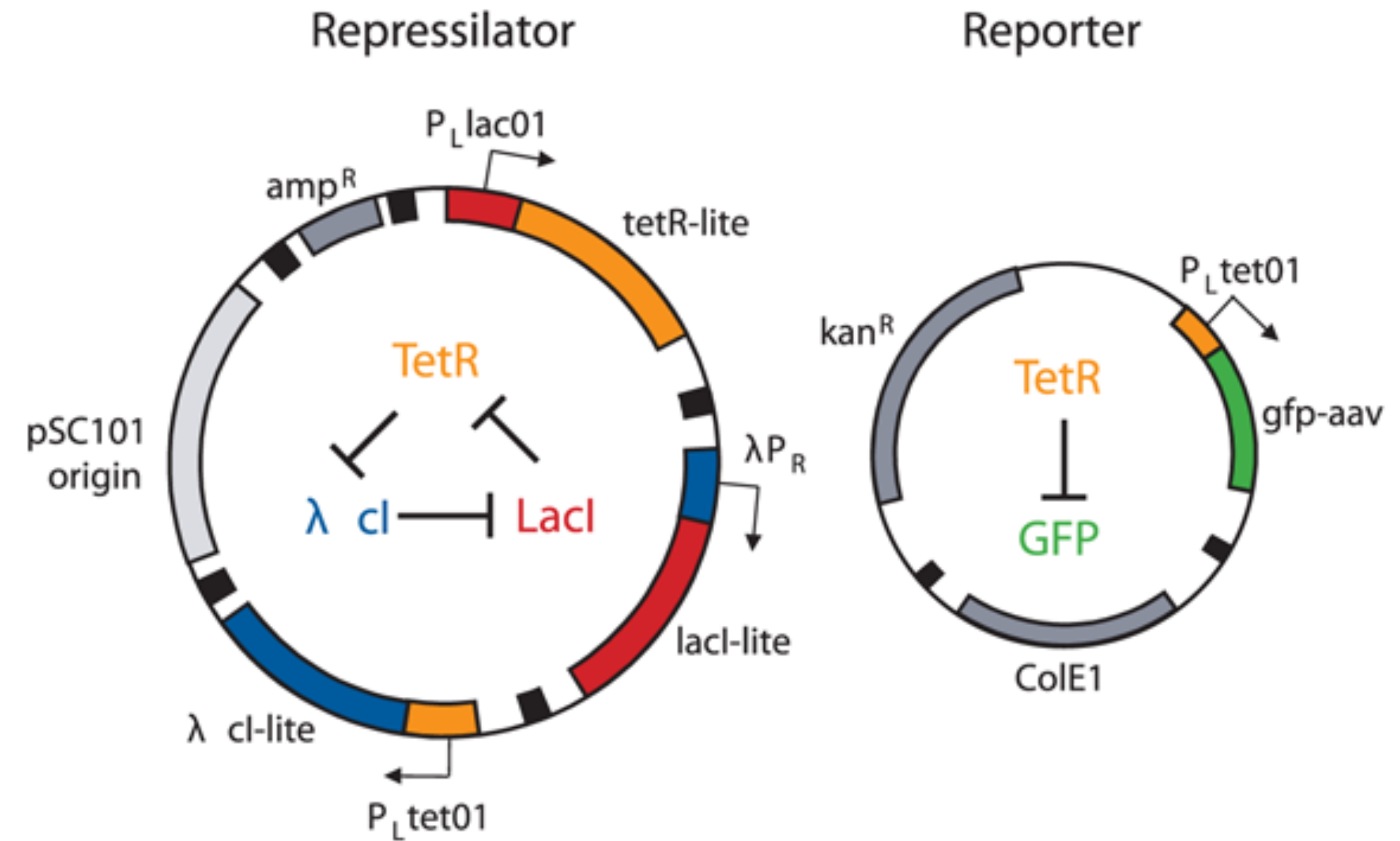
Wyjście z blokady lizogennej

- Przełączenie z lizogenii w cykl lityczny: proteoliza białka represora przez RecA (sygnał uszkodzeń genomu)

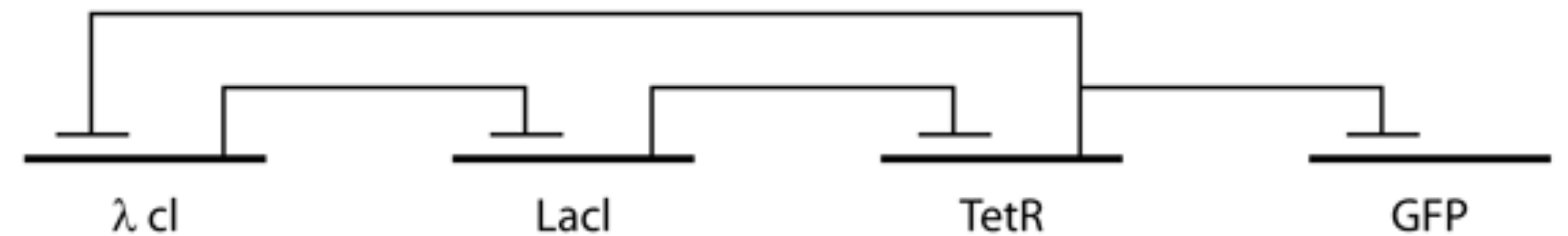


Oscylatory

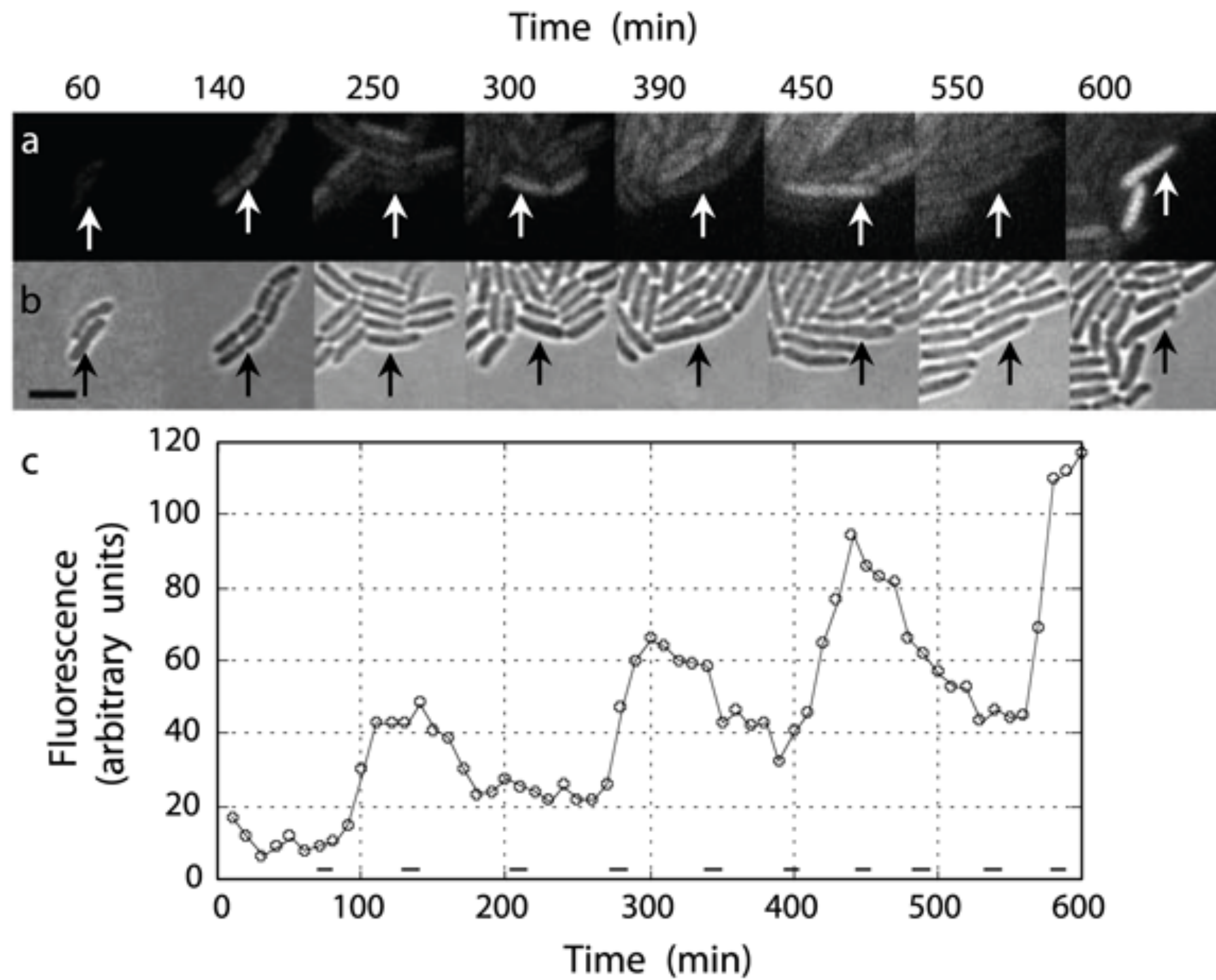
- Kombinacja kilku prostych opartych na represji przełączników może dać układ periodycznie oscylujący – konieczne ujemne sprzężenie zwrotne
- Przykład (skonstruowany sztucznie) – tzw. repressilator (Elowitz & Leibler, 2000)
- Przykład emergencji



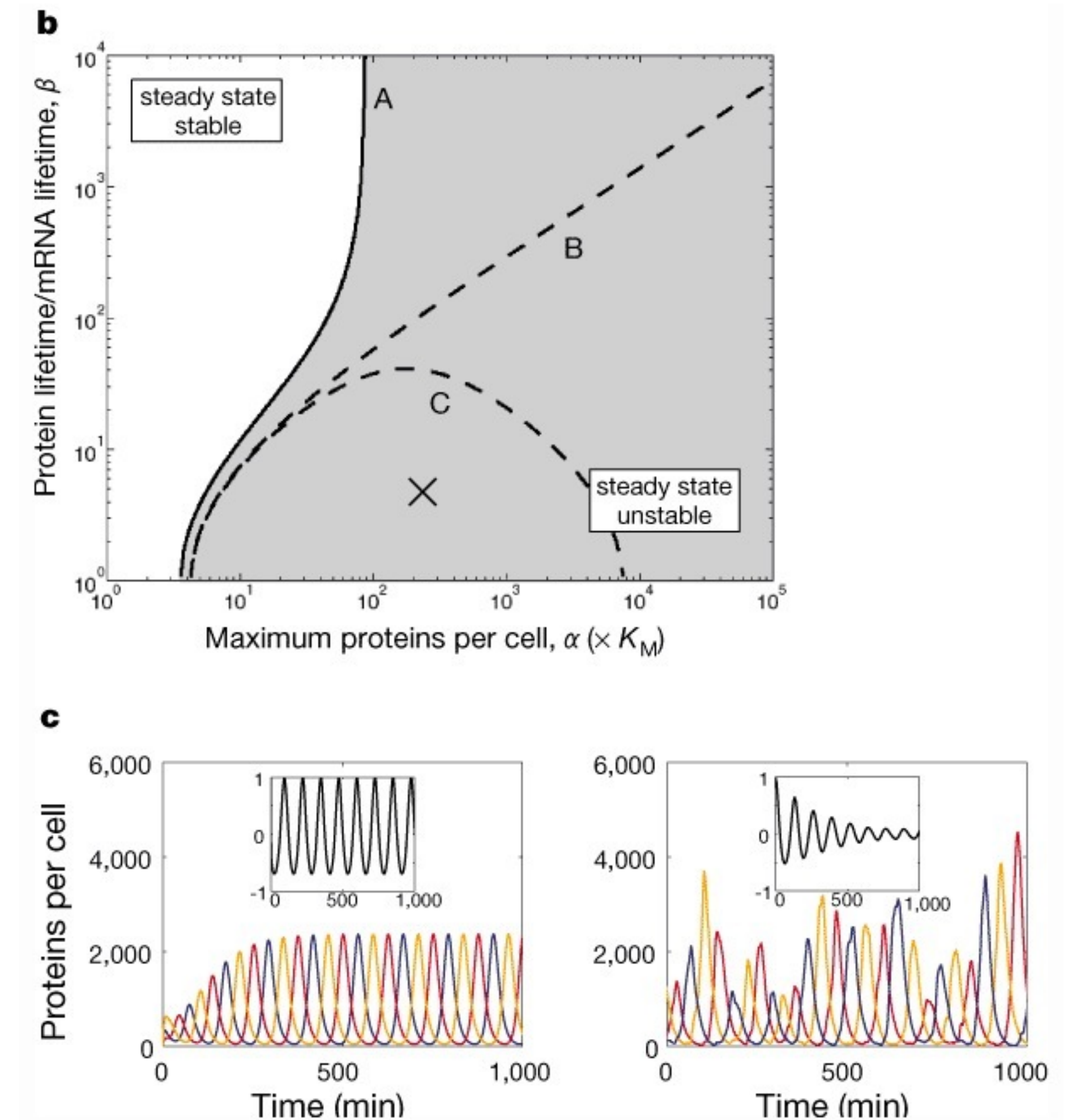
Elowitz & Leibler, Nature. 2000 Jan 20;403(6767):335-8.



Represillator



Oscylacje układu



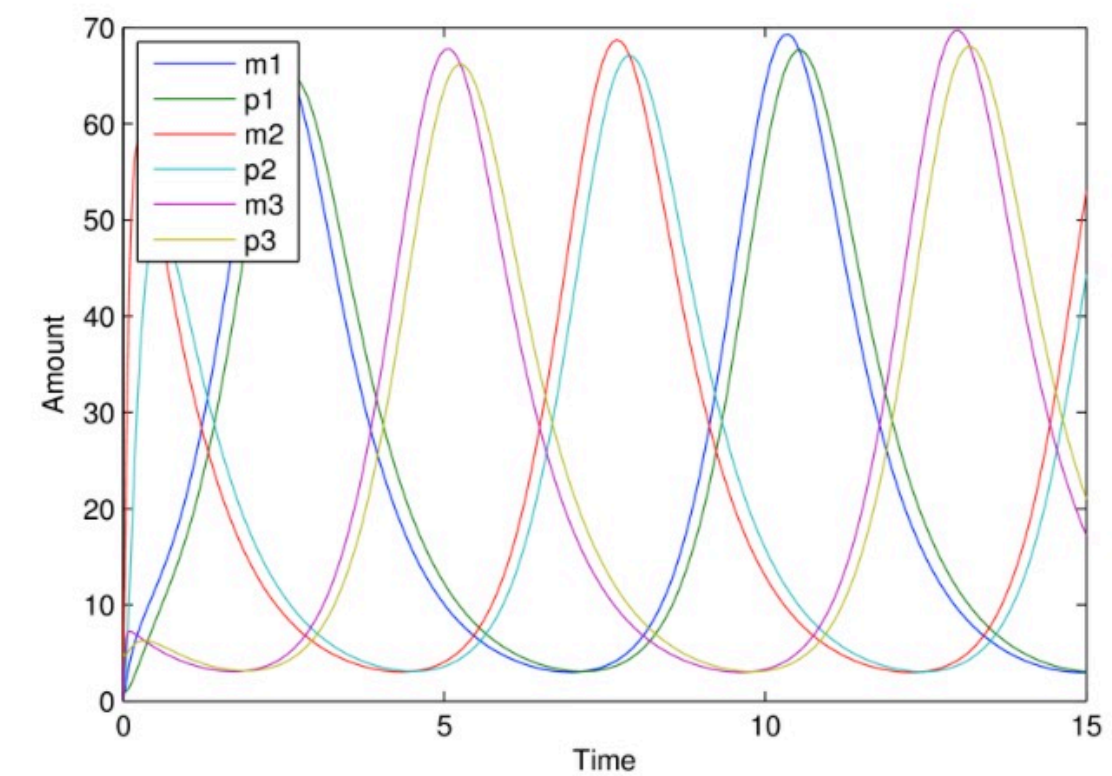


<http://www.elowitz.caltech.edu/movies.html>

Modelowanie

```
function ydot=repressilator(t,y,p)
    alpha0 = 1;
    n = 2.0;
    beta = 5;
    alpha = 1000;
    % order of species; y = [m1 p1 m2 p2 m3 p3]
    m1 = -y(1) + alpha/(1+y(6)^n) + alpha0;
    p1 = -beta*(y(2) - y(1));
    m2 = -y(3) + alpha/(1+y(2)^n) + alpha0;
    p2 = -beta*(y(4) - y(3));
    m3 = -y(5) + alpha/(1+y(4)^n) + alpha0;
    p3 = -beta*(y(6) - y(5));
    ydot = [m1; p1; m2; p2; m3; p3];
```

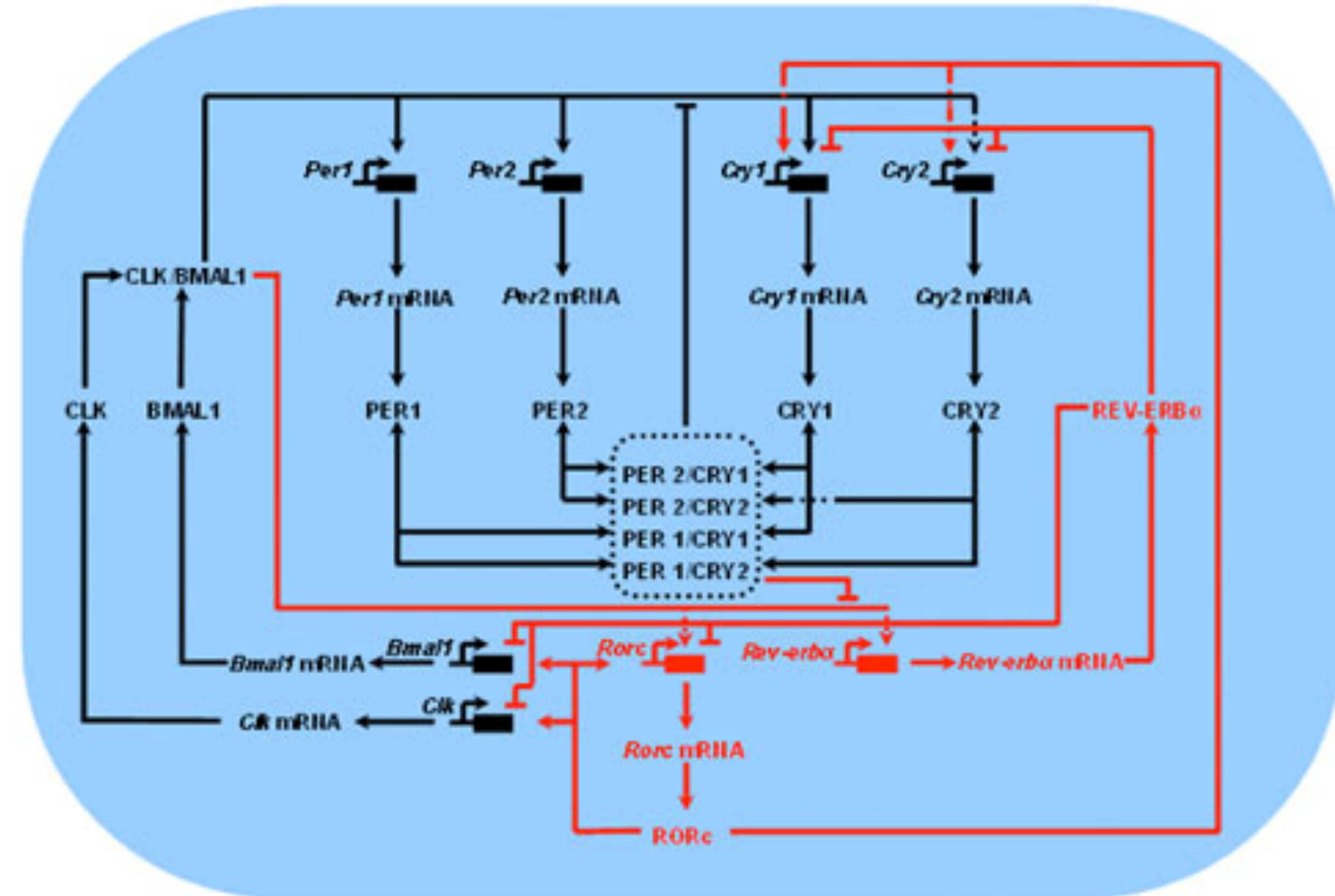
```
timespan=[0 15];
y0 = [0 1 0 2 0 5];
[t,y] = ode45(@repressilator,timespan,y0);
figure();
plot(t,y)
xlabel('Time')
ylabel('Amount')
legend('m1','p1','m2','p2','m3','p3','Location','NorthWest')
figure();
plot(y(:,1), y(:,2))
xlabel('Amount m1')
ylabel('Amount p1')
```



1.9.3

Oscylatory cyklu dobowego

- Podobna zasada, ale bardziej złożone (i bardziej stabilne)

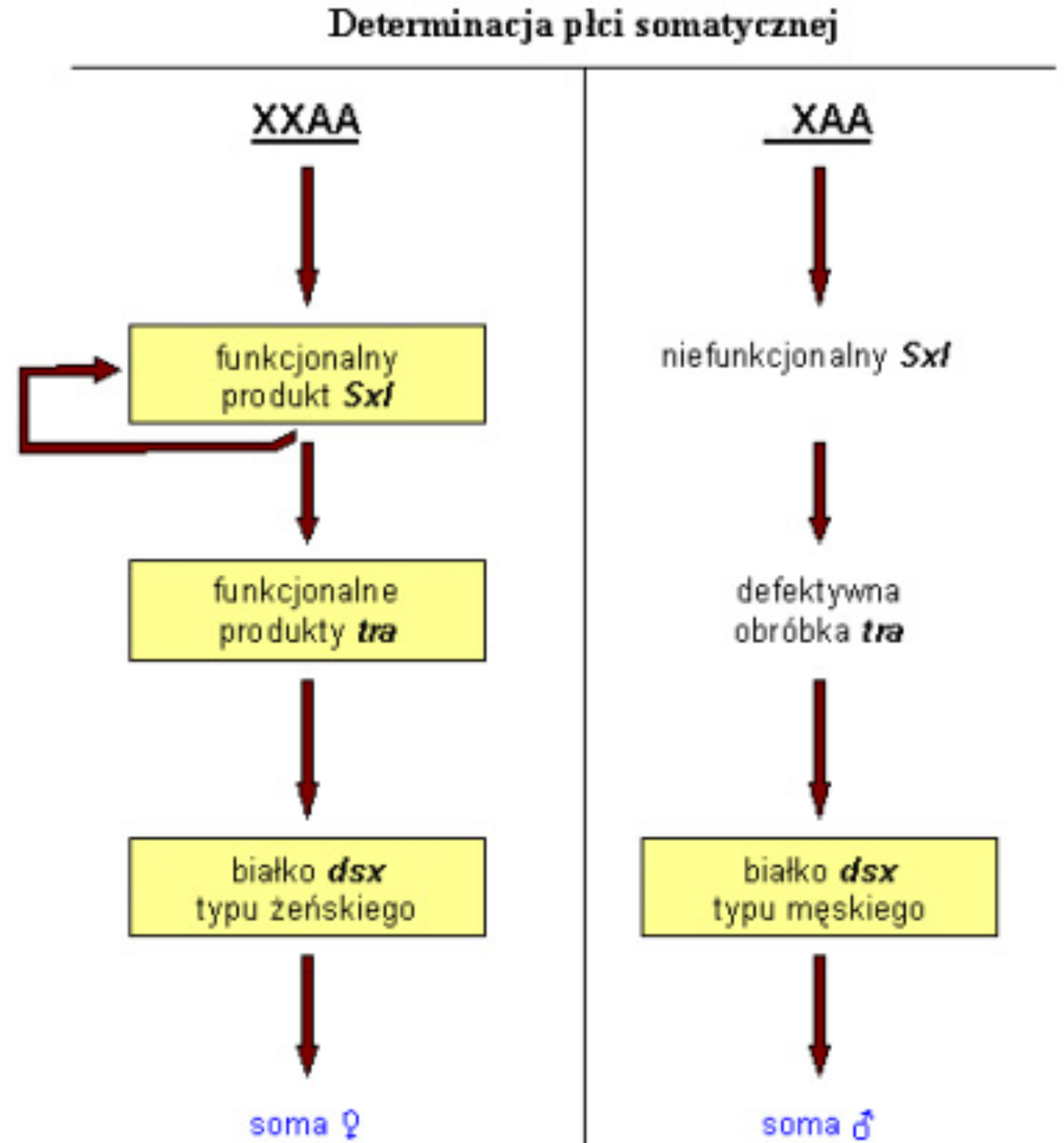


Wewnątrzkomórkowy oscylator dobowy myszy

(<http://www.bmse.ucsb.edu/profiles/mirsky/>)

Przełączniki posttranskrypcyjne

- Przełączniki genetyczne Eukaryota mogą być oparte na mechanizmach posttranskrypcyjnych
- Np. alternatywne składanie (splicing) i alternatywna poliadenylacja/terminacja w limfocytach (przeciwciała)
- Determinacja płci *Drosophila*
- Decyduje aktywność SXL w zarodku



Kaskada przełączników alternatywnego składania

- Ekson 3 zawiera kodon STOP – degradacja NMD
- Białko SXL aktywuje “żeński” tryb składania transkryptu SXL – dodatnie sprzężenie zwrotne
- Początkowa aktywność systemu: białka regulatorowe kodowane na X i kodowane na autosomach, tworzą dimery
 - przewaga autosomów – dimery nieaktywne (aktywatory kodowane na X wymiarczowane)
 - równowaga ($X:A=1$) – aktywacja transkrypcji SXL przez białka kodowane na X

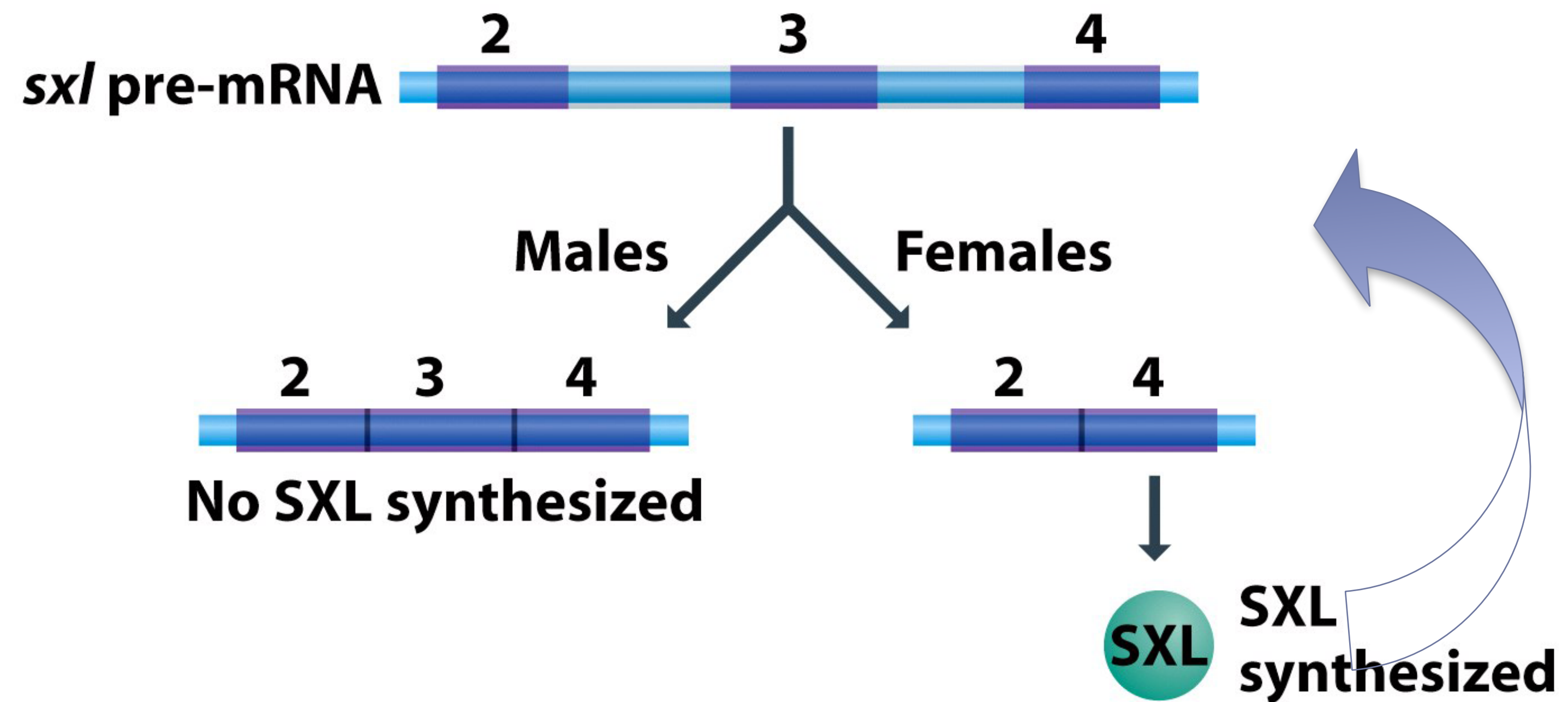


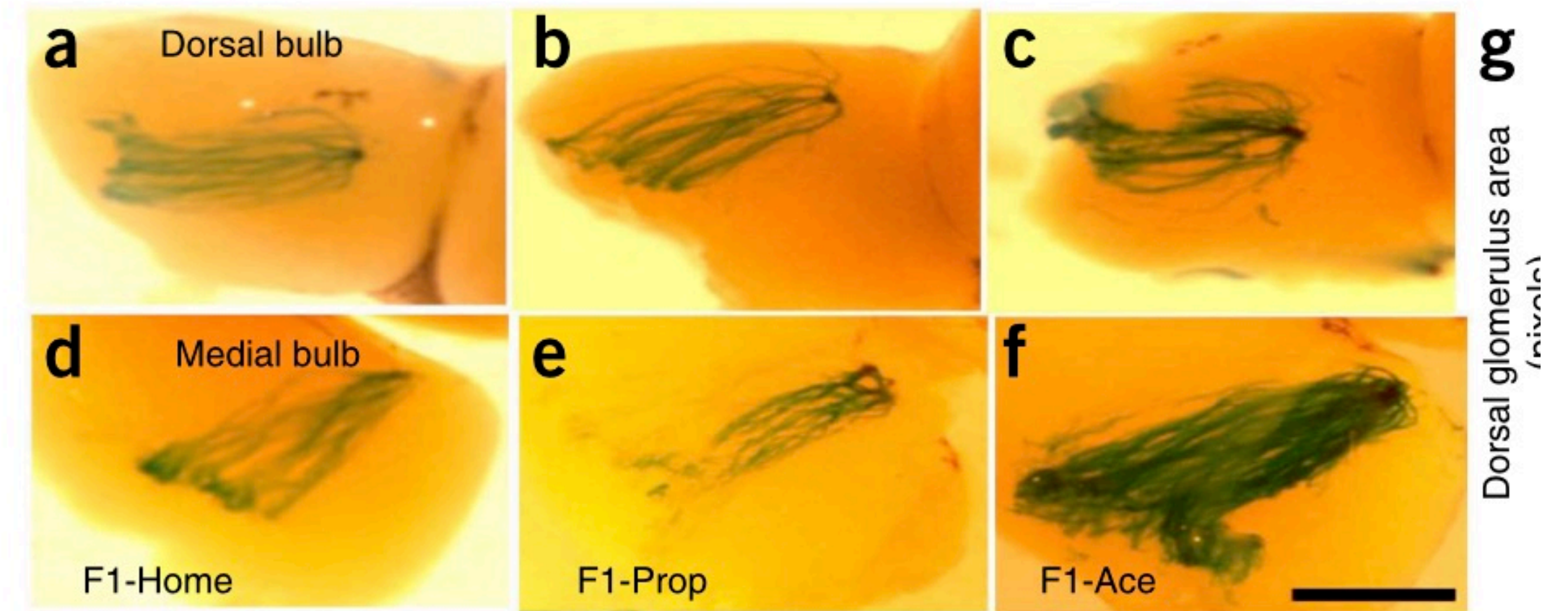
Figure 12-33a Genomes 3 (© Garland Science 2007)

Przełączniki epigenetyczne

- Wzór ekspresji regulowany przez mechanizmy takie, jak struktura chromatyny (metylacja DNA), miRNA, czy dodatnie sprzężenie zwrotne, utrzymywany przy podziale komórki - dziedziczony
- U organizmów wielokomórkowych zwykle “reset” podczas gametogenezy
- Zdarza się, że epigenetyczna zmiana wzoru ekspresji utrzymuje się przez kolejne pokolenia (nie jest wymazywana przy gametogenezie)
- tzw. transpokoleniowe dziedziczenie epigenetyczne (*transgenerational epigenetic inheritance*)

Dziedziczenie stresu?

- Myszy warunkowane stresem na wrażliwość na bodziec zapachowy (acetofenon) w pokoleniu F0
- Zwiększona wrażliwość na bodziec zapachowy utrzymuje się w pokoleniu F1 i F2 - przekazywane przez gamety (zapłodnienie *in vitro*, rodzice zastępczy)
- Zwiększona ekspresja receptora acetofenonu (gen *Olfr151*) związana z hipometylacją promotora genu
- Neuroanatomiczne elementy szlaku *Olfr151* bardziej rozrośnięte



Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations

Brian G Dias^{1,2} & Kerry J Ressler¹⁻³

NATURE NEUROSCIENCE VOLUME 17 | NUMBER 1 | JANUARY 2014

U ludzi

- Są dane sugerujące, że dieta (obfitość pożywienia) rodziców wpływa na cechy metabolizmu kolejnych pokoleń (do pokolenia wnuków)
- Związek z zapadalnością na cukrzycę i choroby metaboliczne
- Badanie z Överkalix (Szwecja)
- Badania holenderskie - dzieci urodzone w czasie głodu (1944)
 - zmiany metylacji promotora genu *IGF2* utrzymujące się przez ponad 60 lat
 - dotyczy dzieci poczętych w trakcie głodu

Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period

G Kaati¹, LO Bygren^{*,1} and S Edvinsson²



European Journal of Human Genetics (2002) 10, 682–688
© 2002 Nature Publishing Group All rights reserved 1018–4813/02 \$25.00

www.nature.com/ejhg

Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans

Bastiaan T. Heijmans^{a,1,2}, Elmar W. Tobia^{a,2}, Aryeh D. Stein^b, Hein Putter^c, Gerard J. Blauw^d, Ezra S. Susser^{e,f}, P. Eline Slagboom^a, and L. H. Lumey^{e,1}

17046–17049 | PNAS | November 4, 2008 | vol. 105 | no. 44

Table 1. *IGF2* DMR methylation among individuals periconceptionally exposed to famine and their unexposed, same-sex siblings

<i>IGF2</i> DMR methylation	Mean methylation fraction (SD)				Relative change exposed	Difference in SDs	<i>P</i>
	Exposed (<i>n</i> = 60)		Controls (<i>n</i> = 60)				
Average	0.488	(0.047)	0.515	(0.055)	−5.2%	−0.48	5.9×10^{-5}
CpG 1	0.436	(0.037)	0.470	(0.041)	−6.9%	−0.78	1.5×10^{-4}
CpG 2 and 3	0.451	(0.033)	0.473	(0.055)	−4.7%	−0.41	8.1×10^{-3}
CpG 4	0.577	(0.114)	0.591	(0.112)	−2.3%	−0.12	.41
CpG 5	0.491	(0.061)	0.529	(0.068)	−7.2%	−0.56	1.4×10^{-3}

Nadinterpretacje

- Zjawisko dziedziczenia epigenetycznego bywa nadinterpretowane
- Nie jest prawdą, że podważa to całość genetyki, że fenotyp nie zależy od genów
 - epigenetyka polega na regulacji **genów**
- Nie jest prawdą, że podważa to ewolucję darwinowską
 - to nie jest powrót do Lamarcka
 - daje zwiększenie plastyczności fenotypowej, ale długofalowe zmiany ewolucyjne muszą wiązać się ze zmianami w DNA
- Nie oznacza to, że dziedziczymy w genach stresy rodziców
 - w eksperymencie z myszami warunkowanie dotyczyło bodźca wykrywanego przez jeden receptor, większość bodźców tak nie działa
- Nie oznacza to, że możemy zapanować nad genami (np. w nowotworach) siłą woli!



🏠 > News > Science

Nasa astronaut twins Scott and Mark Kelly no longer genetically identical after space trip

[Space.com](#) > [Science & Astronomy](#)

Astronaut Scott Kelly and His Twin Brother Are Still Identical, NASA Says

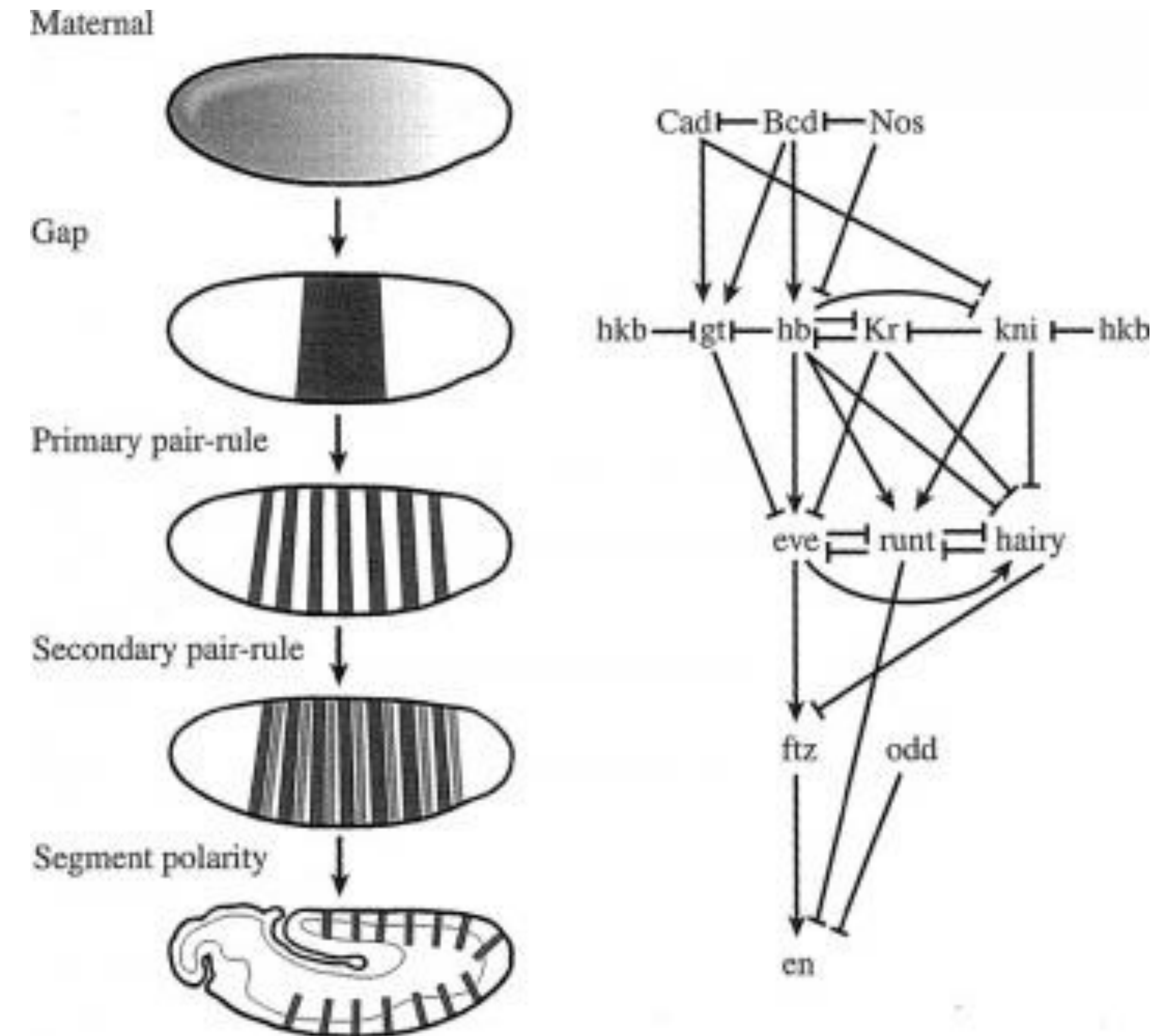
By Elizabeth Howell, Space.com Contributor | March 16, 2018 03:00pm ET



Twin astronauts Scott and Mark Kelly pose at Johnson Space Center in Houston on Jan. 19, 2015, before Scott Kelly's nearly yearlong stay on the International Space Station.

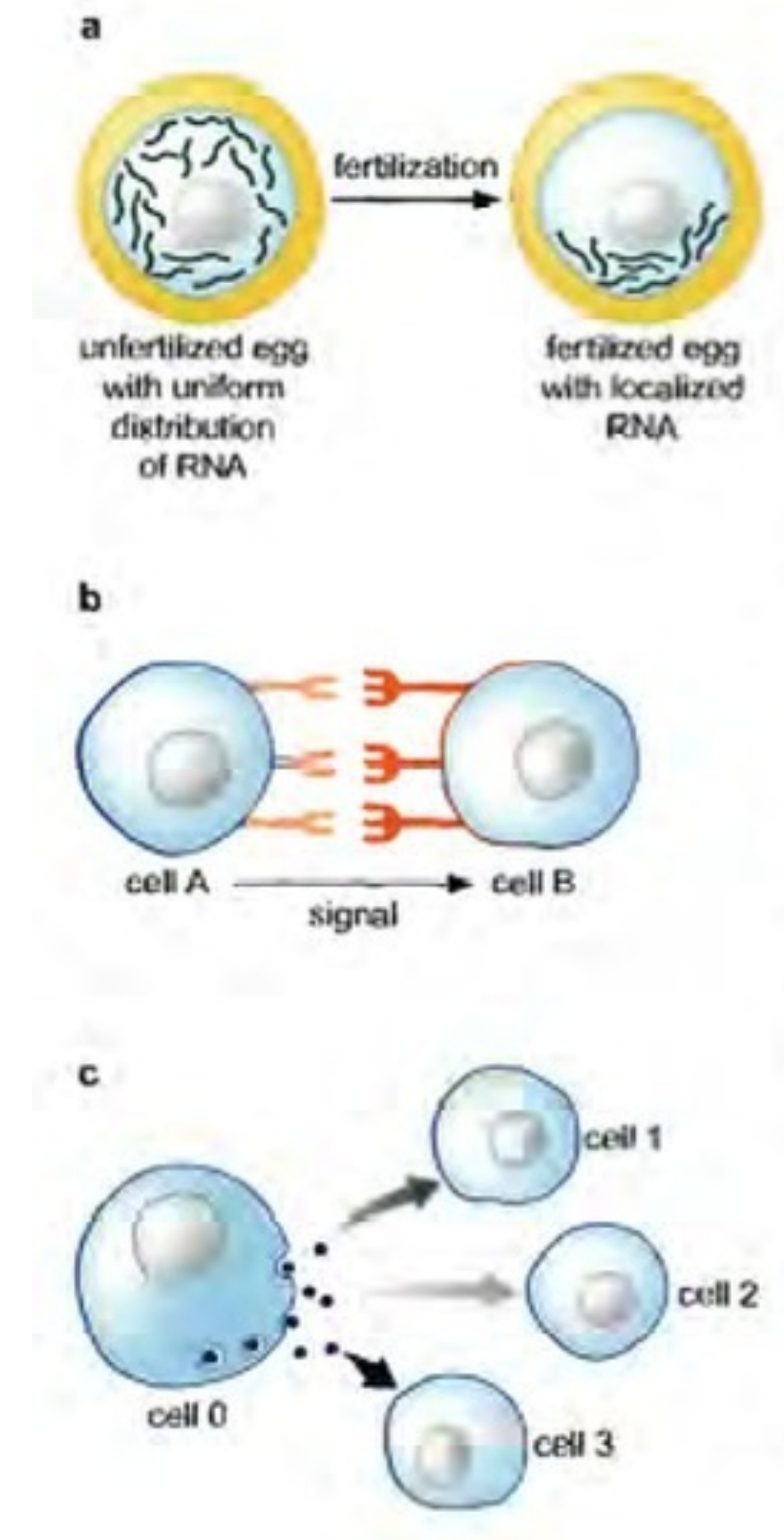
Genetyczne podstawy rozwoju zarodkowego

- Lokalne interakcje między komórkami – ustalanie pozycji
 - Bezpośrednie
 - Przez wydzielane morfogeny
- Sieci i kombinacje modułów regulacji ekspresji genów



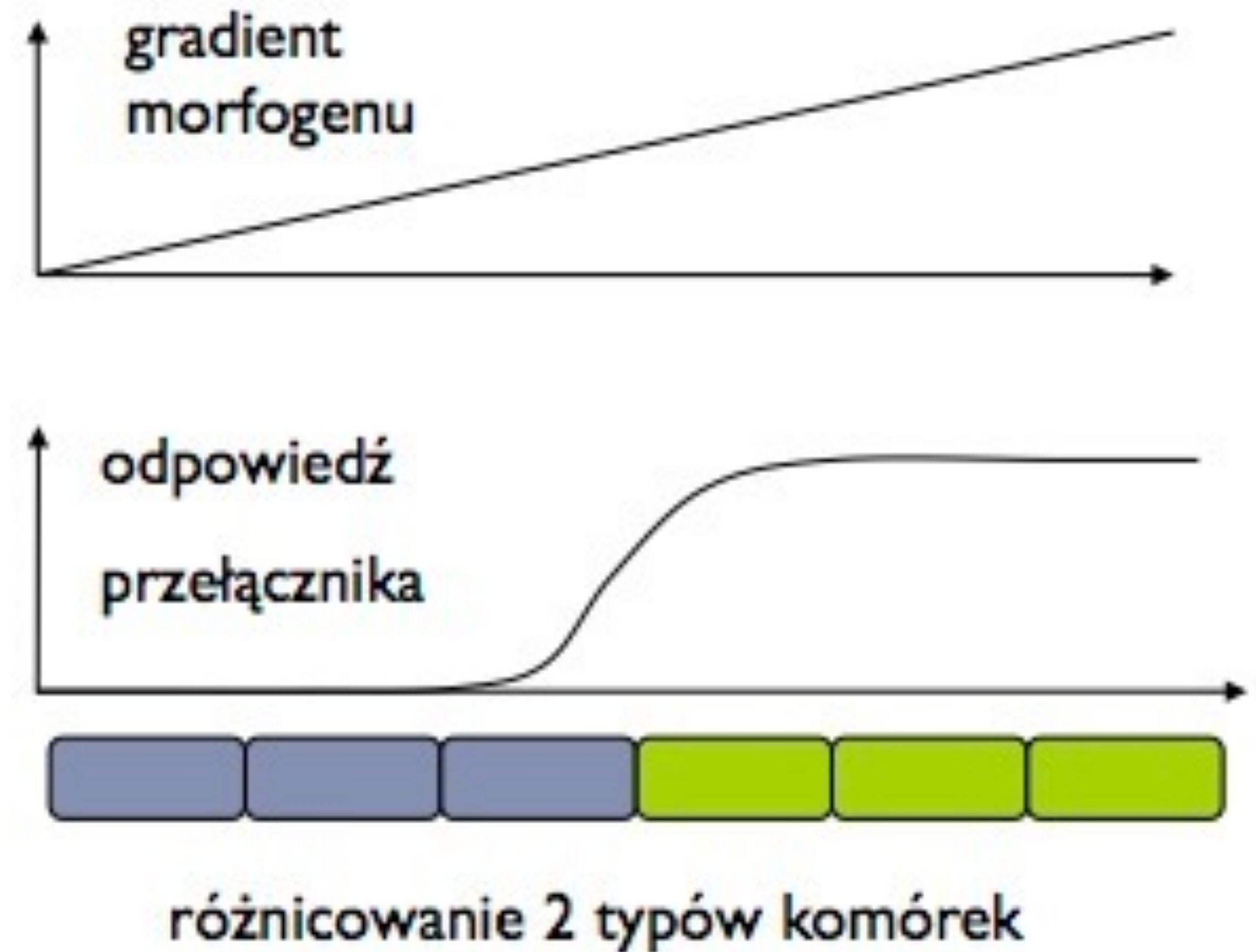
Mechanizmy interakcji

- Gradienty mRNA
- Bezpośredni kontakt komórek
- Wydzielane morfogeny



Gradientsy i przełączniki

- Dzięki mechanizmom kooperatywnego wiązania przełącznik genetyczny może dać jednoznaczną odpowiedź na gradient morfogenu/sygnału



Różnicowanie zarodka Drosophila

geny efektu matczynego

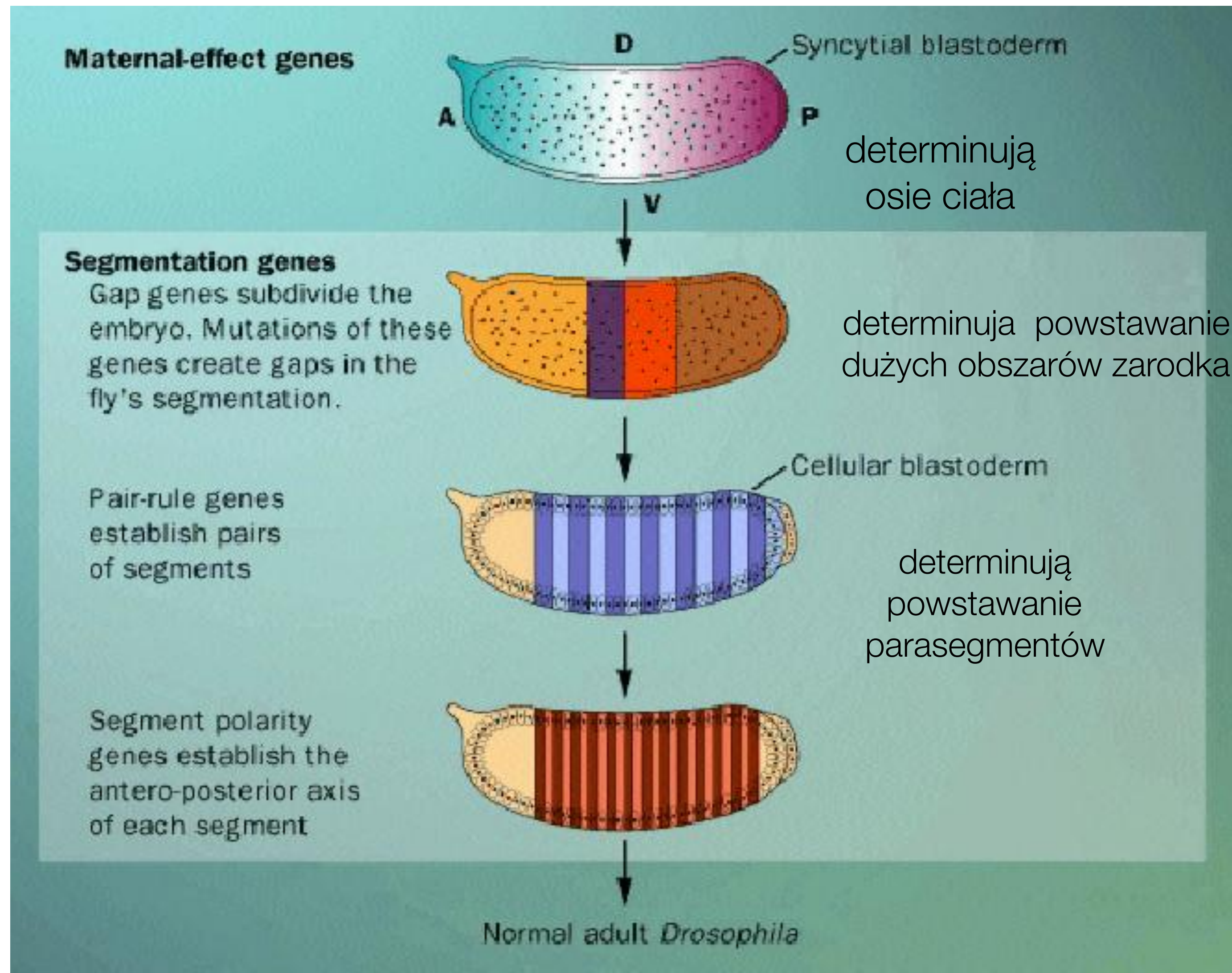
geny zygotyczne:

geny ubytku

geny reguły parzystej

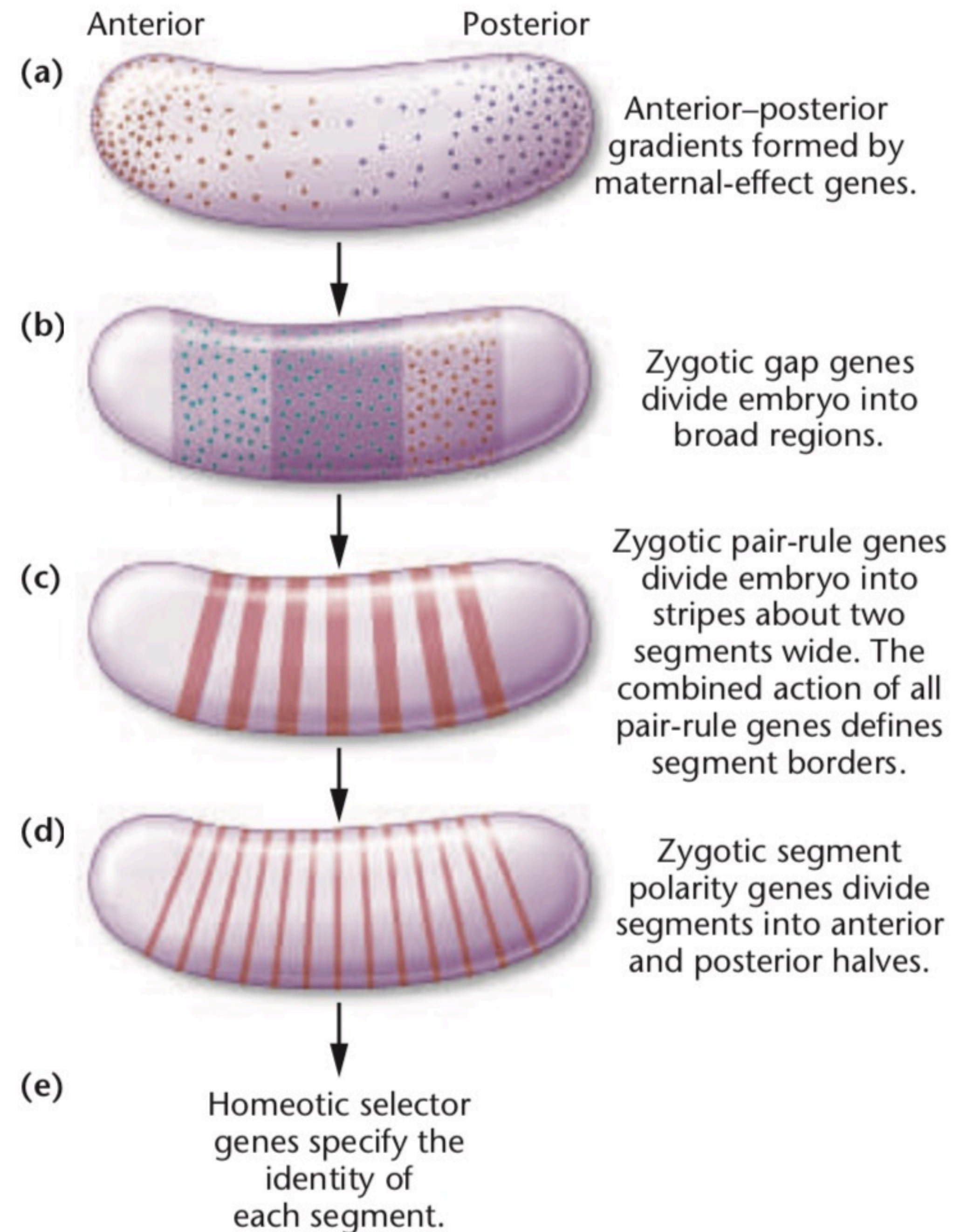
geny polarności segmentów

geny homeotyczne



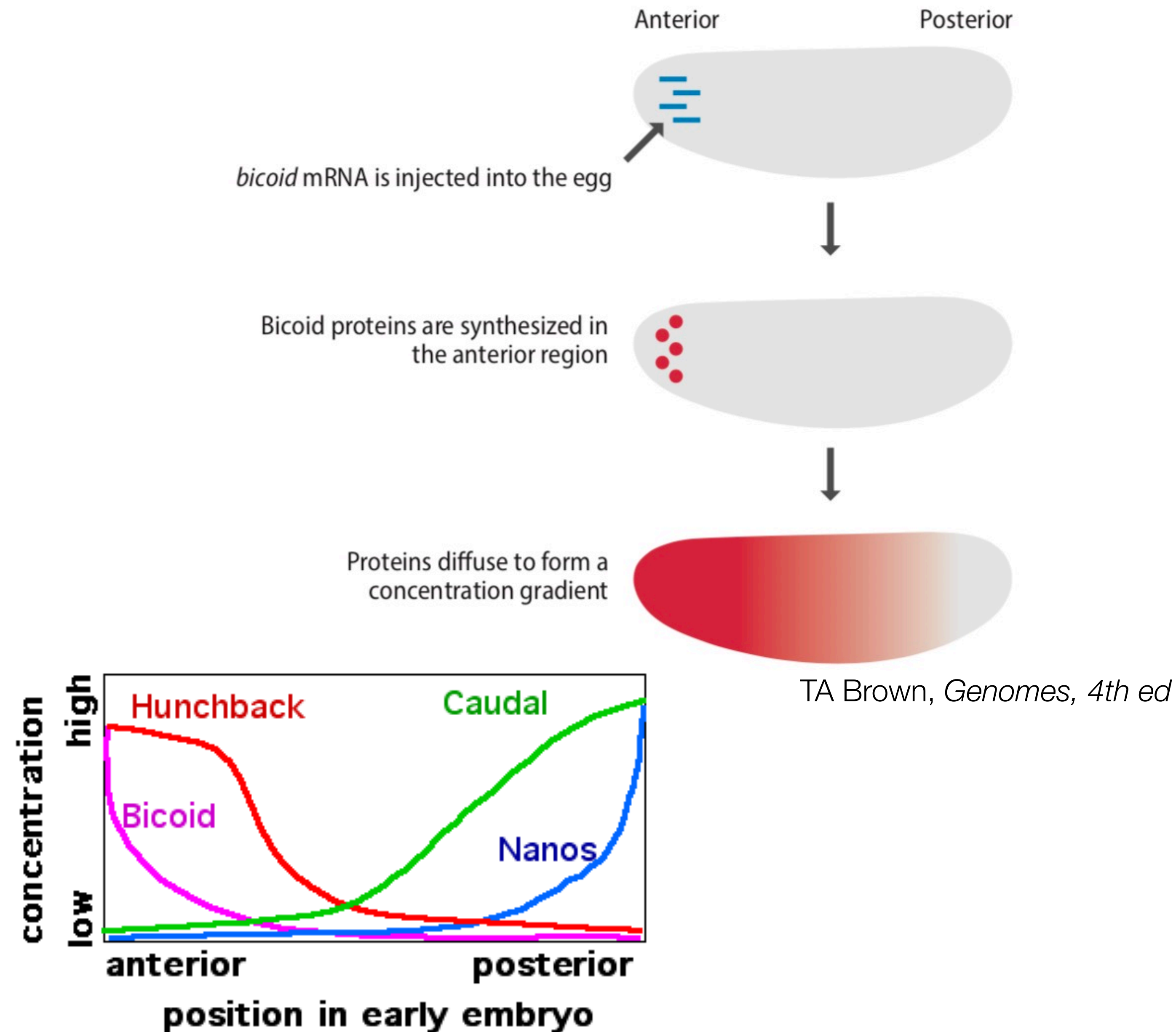
Hierarchia genów rozwoju *Drosophila*

- Geny efektu matczynego - ustalenie osi przód-tył
- Geny ubytku: ustalenie ogólnych obszarów
- Geny reguły parzystej i polarności segmentów: powstanie segmentacji
- Geny homeotyczne: różnicowanie segmentów



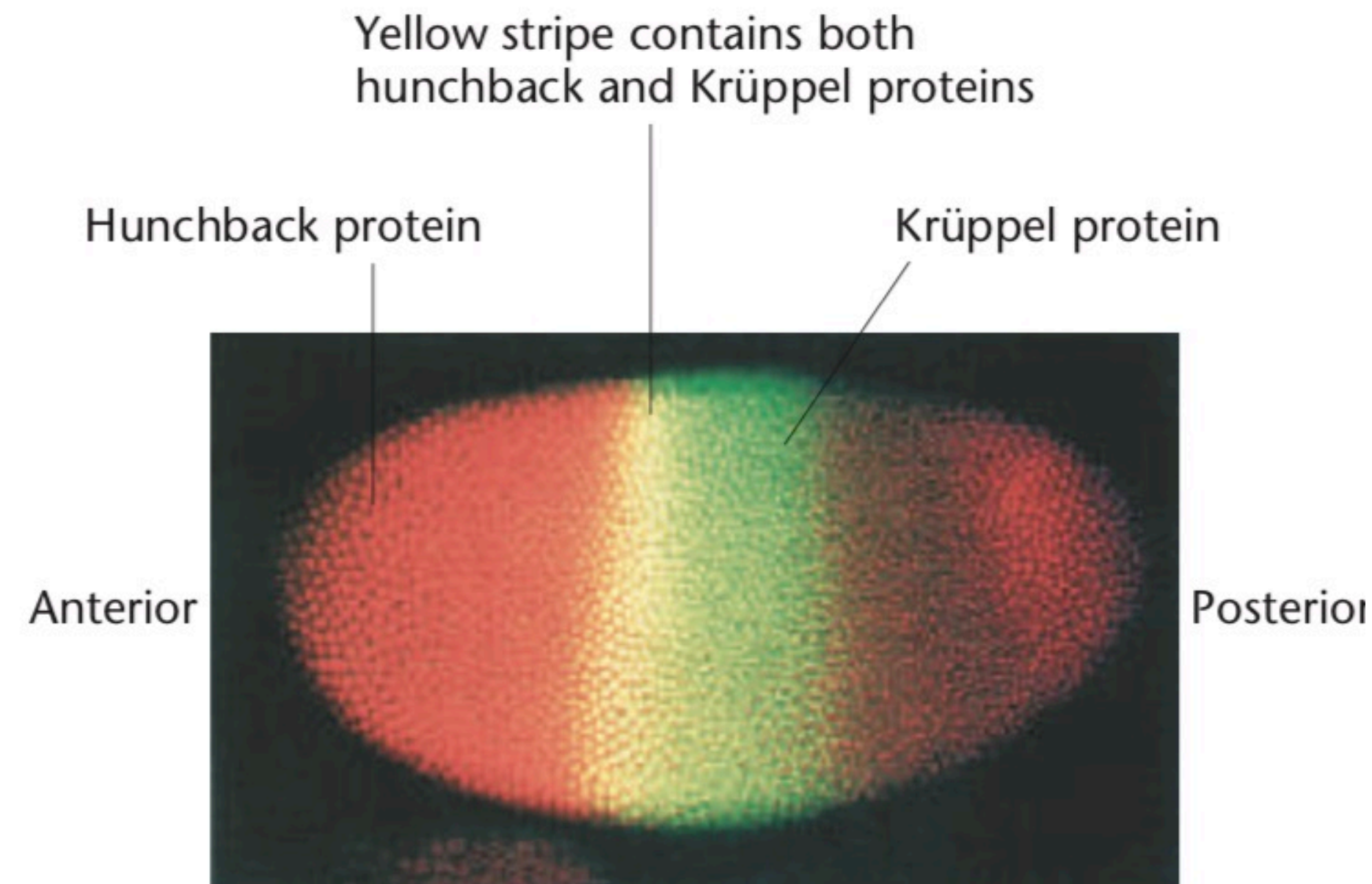
Geny efektu matczynego

- Gradient mRNA tworzony podczas oogenezy: synteza w trofocytach i transport przez mostki cytoplazmatyczne do oocyty
- Inne geny (np. *hunchback*) – mRNA matczyny oraz syntetyzowany w zygocie – ekspresja regulowana przez gradienty matczyne na poziomie transkrypcyjnym i post-transkrypcyjnym
- *hunchback* – transkrypcja aktywowana przez *bicoid*, translacja hamowana przez *nanos*

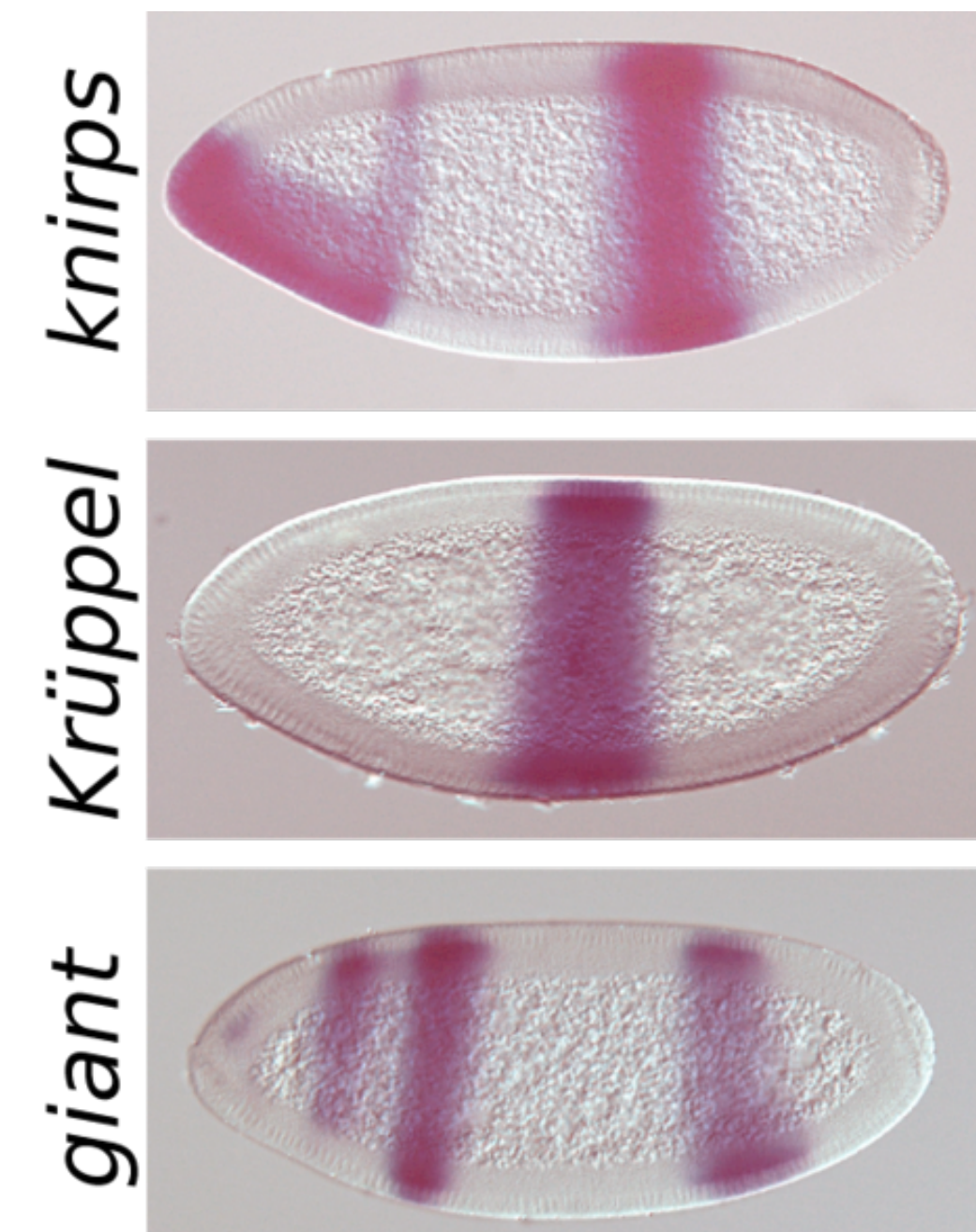
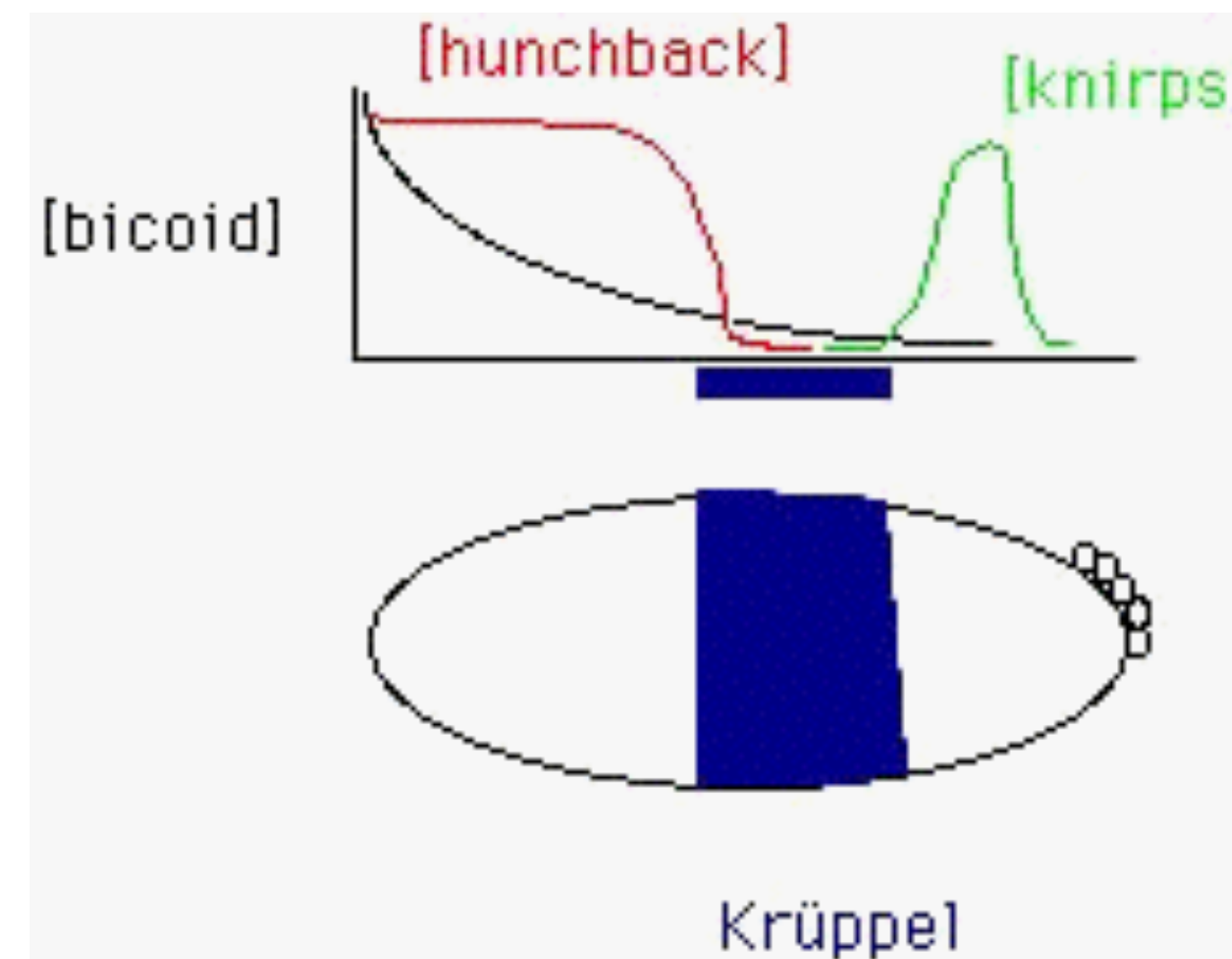


Geny zygotyczne: geny ubytku

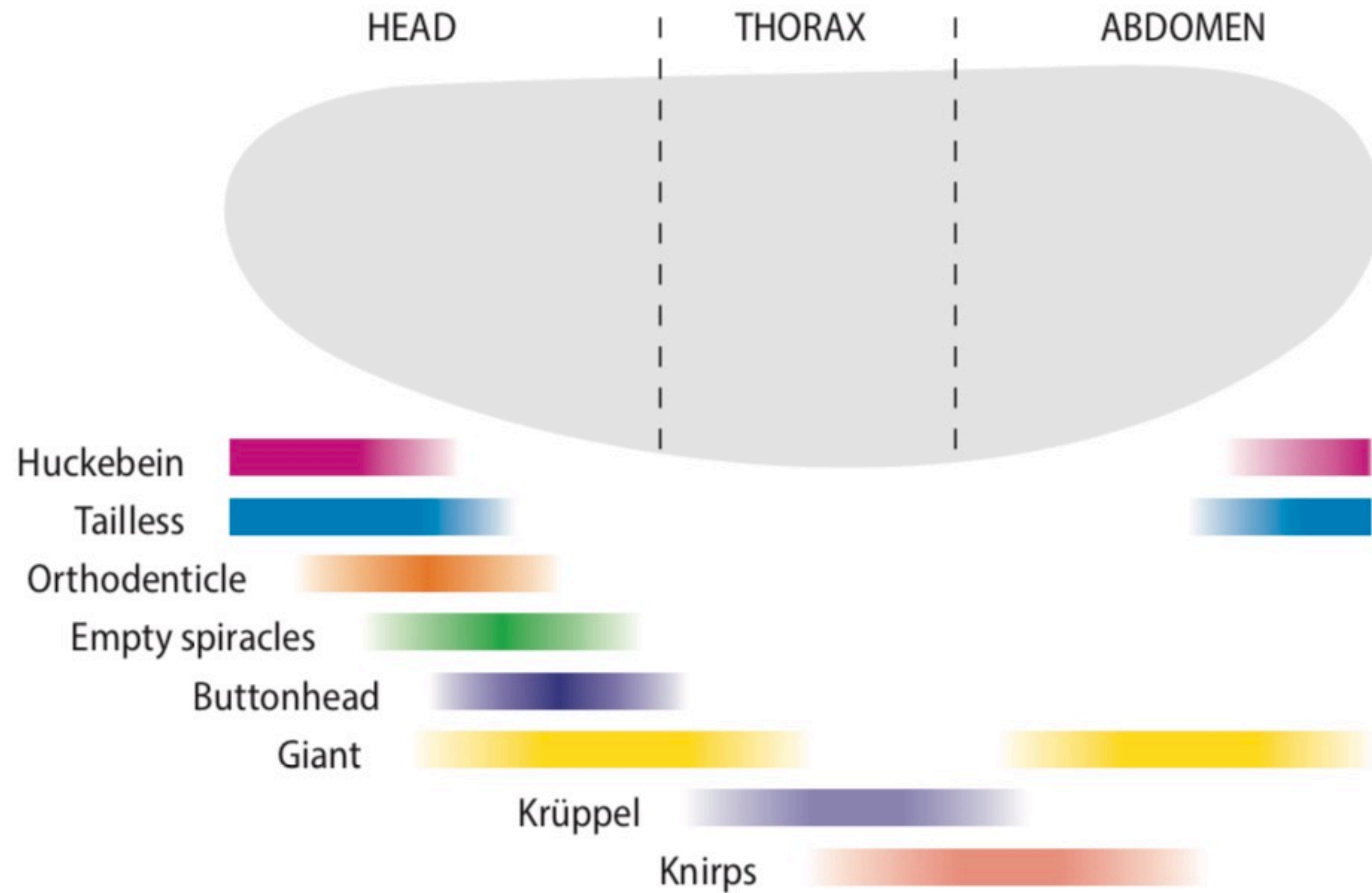
- Ekspresja regulowana przez geny matczyne
- Interakcja gradientów o działaniu aktywującym i hamującym tworzy wyraźne strefy
- Jednym z głównych regulatorów jest *hunchback*
- Np. Krüppel:
 - aktywowany przez bicoid
 - aktywowany przez niskie stężenie *hunchback*, hamowany przez wysokie
 - hamowany przez Knirps



Klug, Cummings, Spencer, Palladino, Concepts of Genetics 11th ed. ©Pearson



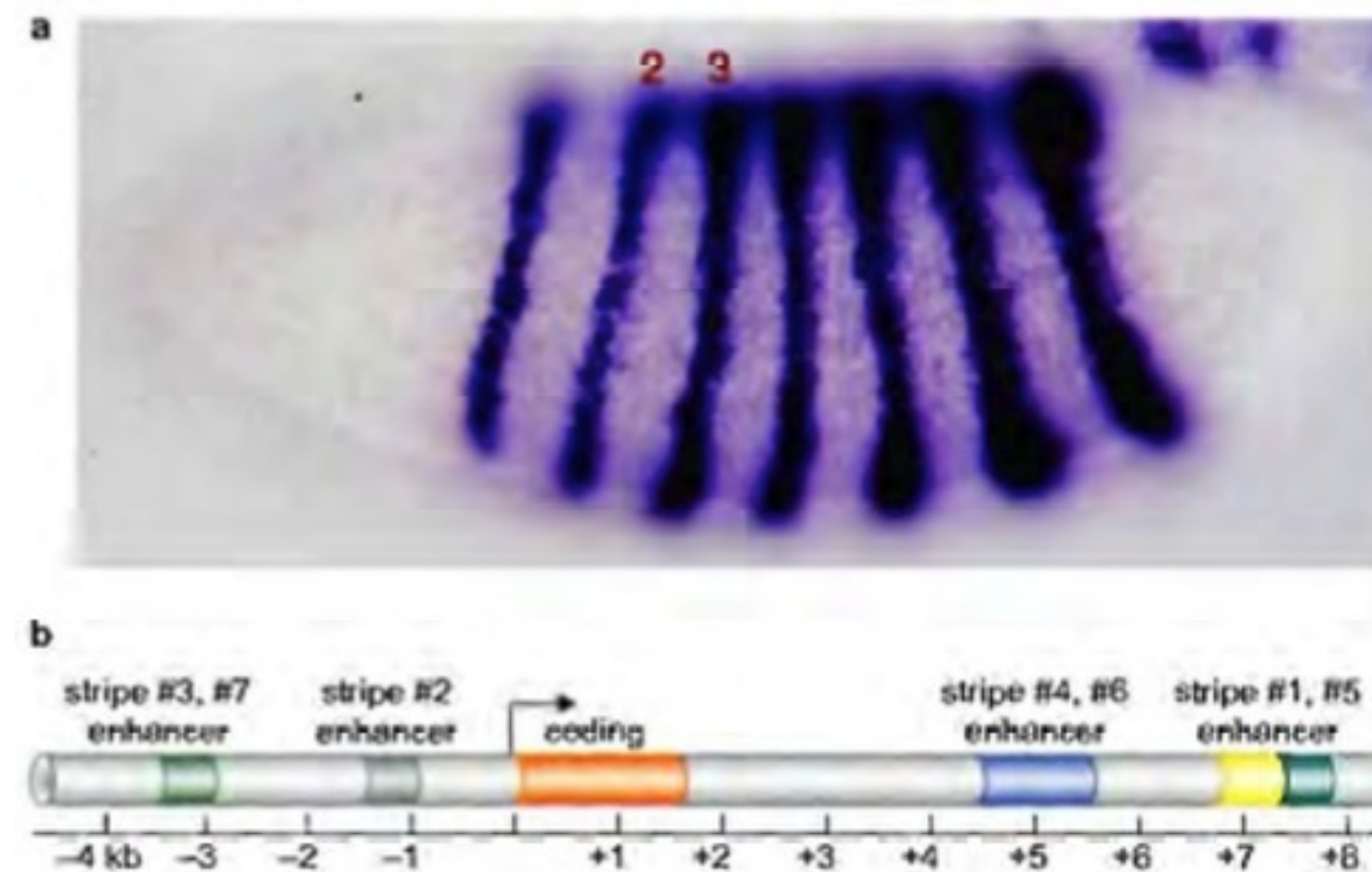
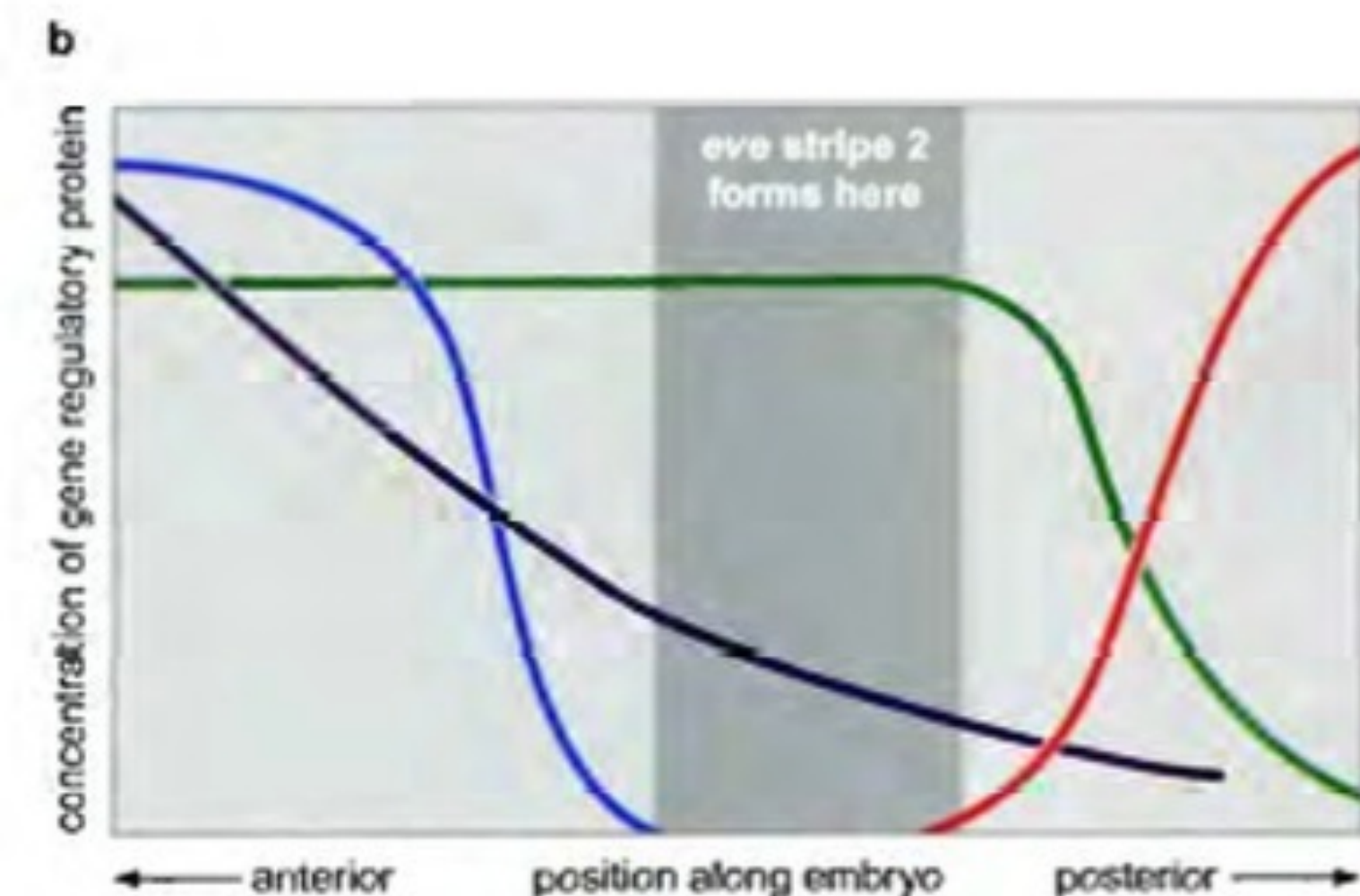
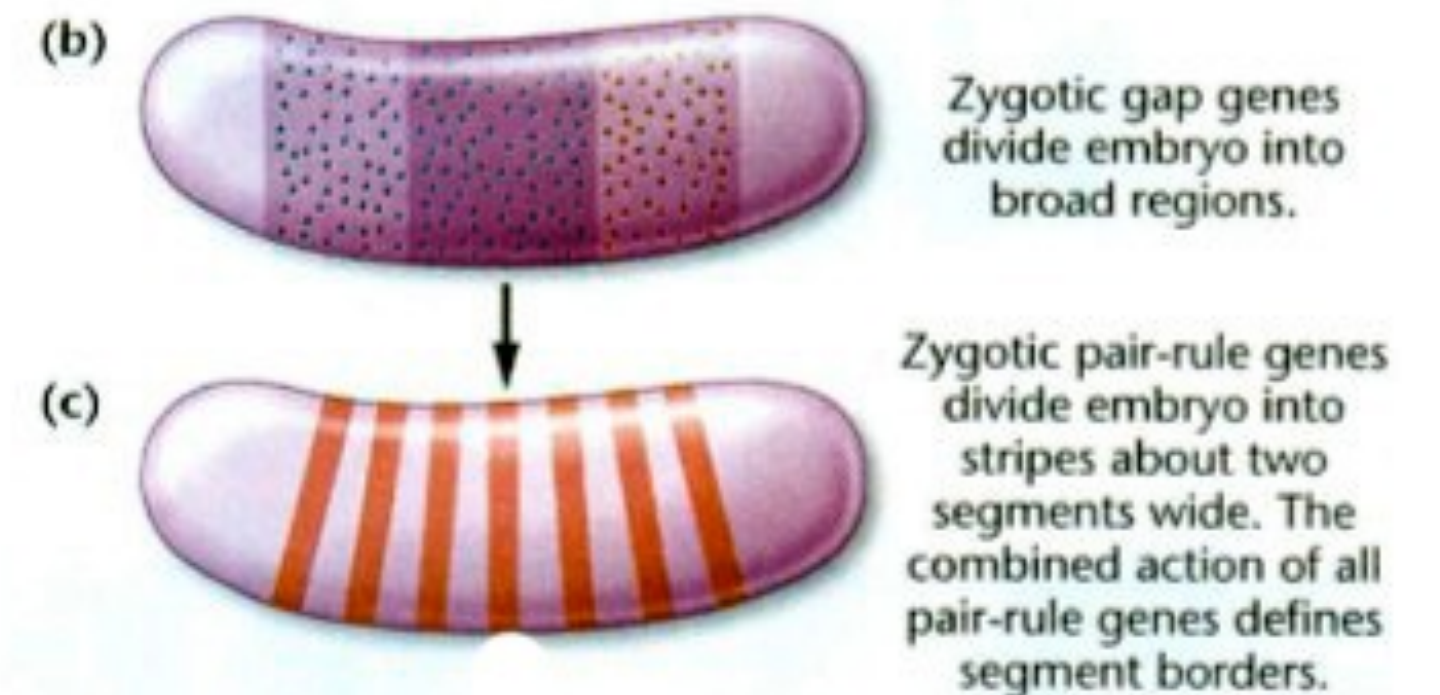
Geny ubytku



Geny reguły parzystej

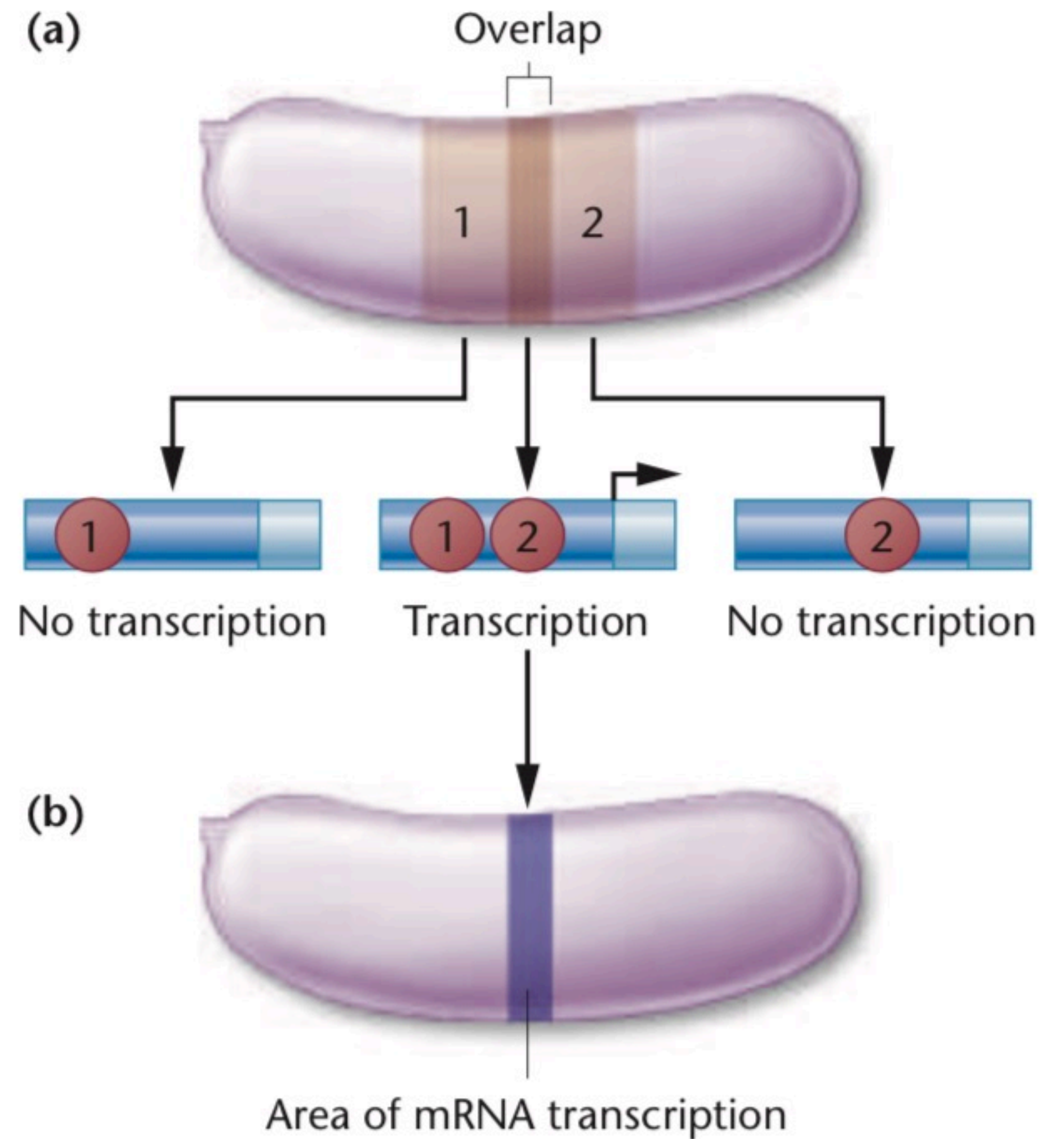
- Dalszy podział na strefy – pary segmentów
- Mutacje powodują zaburzenia co drugiego segmentu
- Złożona regulacja kombinatoryczna przez geny *ubytku* i *hunchback*

Obszar regulatorowy *even-skipped* – 12 kb, enhancery determinujące każdą ze stref ekspresji



Kombinatoryka

- Przykład mechanizmu kombinatorycznego



Geny polarności segmentów

- Wyznaczane przez oddziaływania genów reguły parzystej i innych genów polarności
 - Np. engrailed: 14 segmentów zależnie od 6 genów reguły parzystej
- Ustalenie osi przód-tył każdego segmentu
- Krótkodystansowe oddziaływania na styku segmentów
- Poprzez szlaki transdukcji sygnału
 - Np. engrailed -> hedgehog

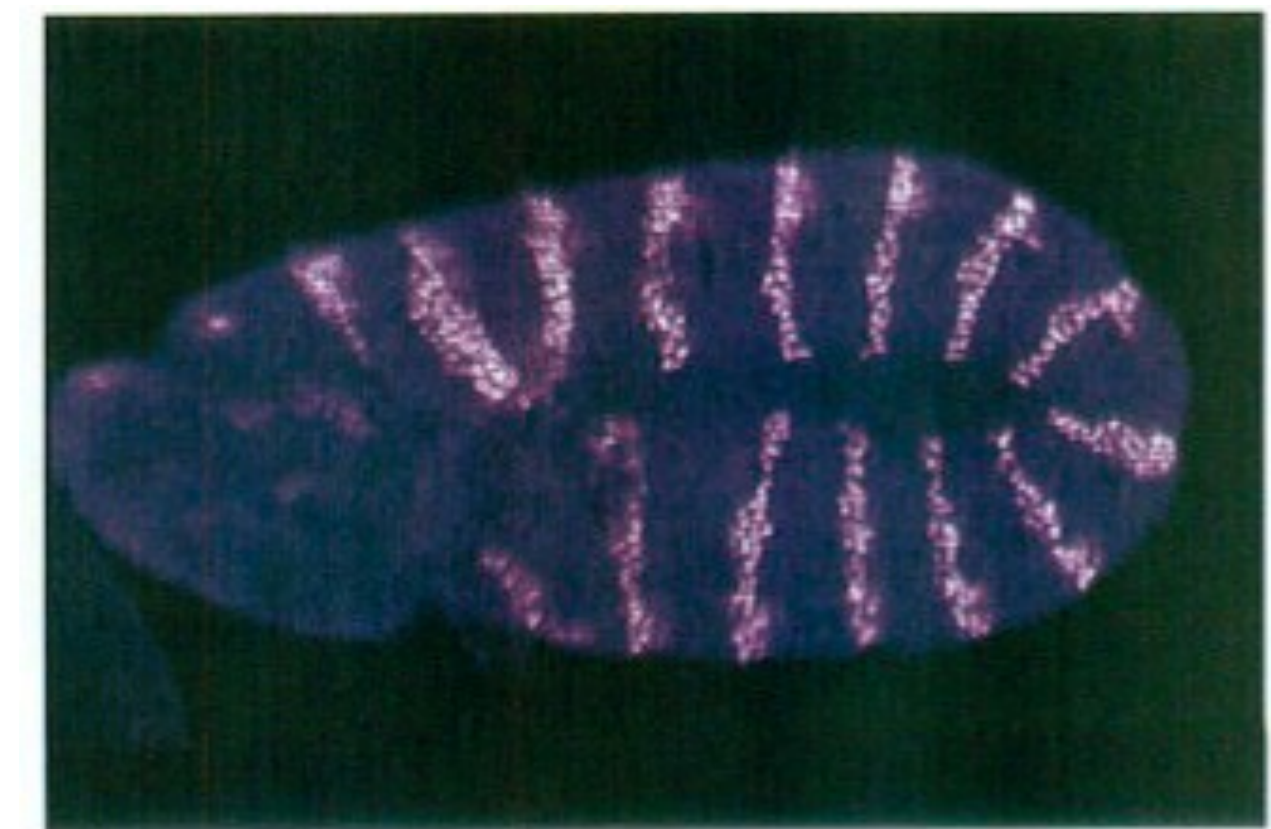
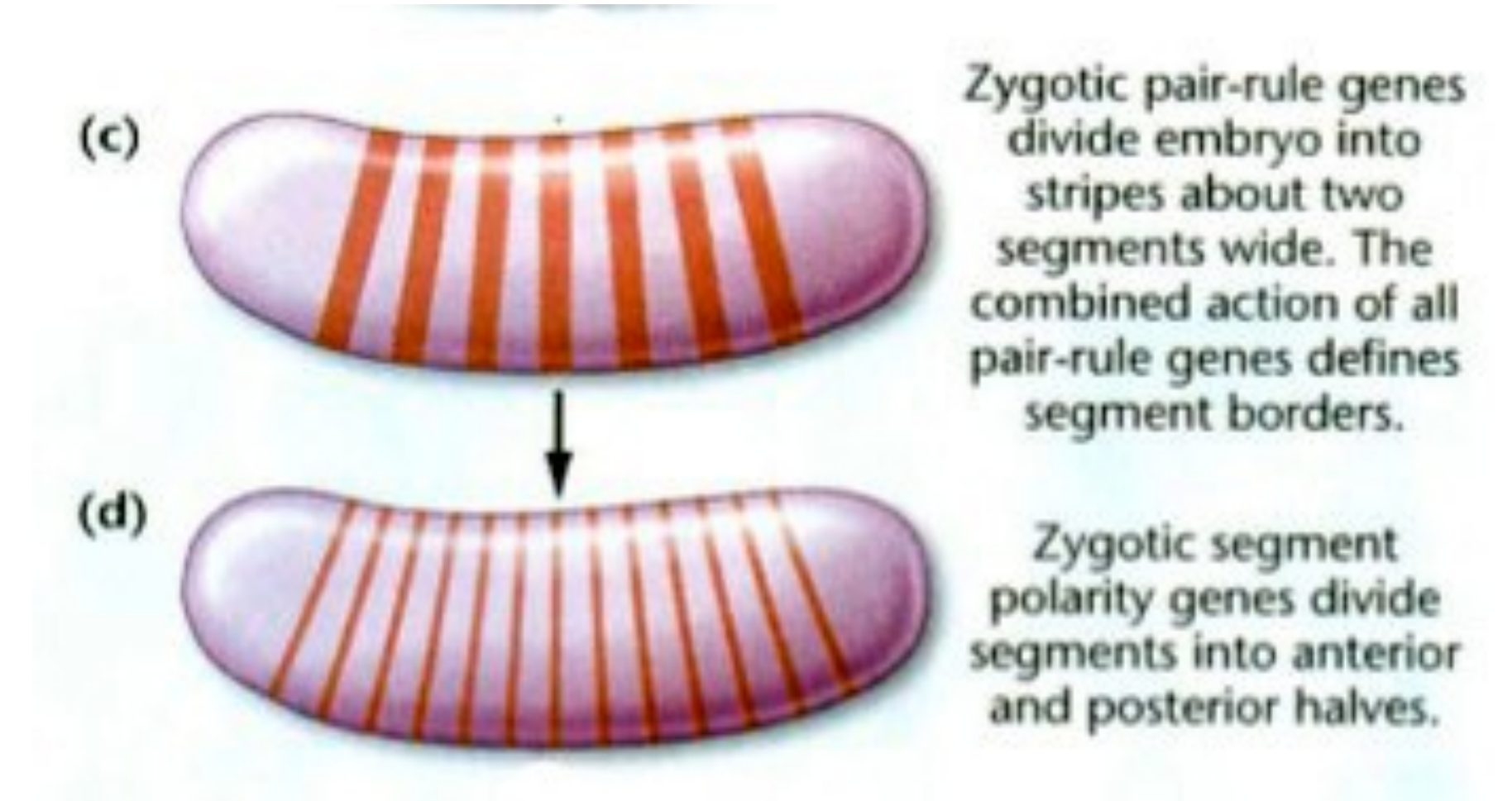
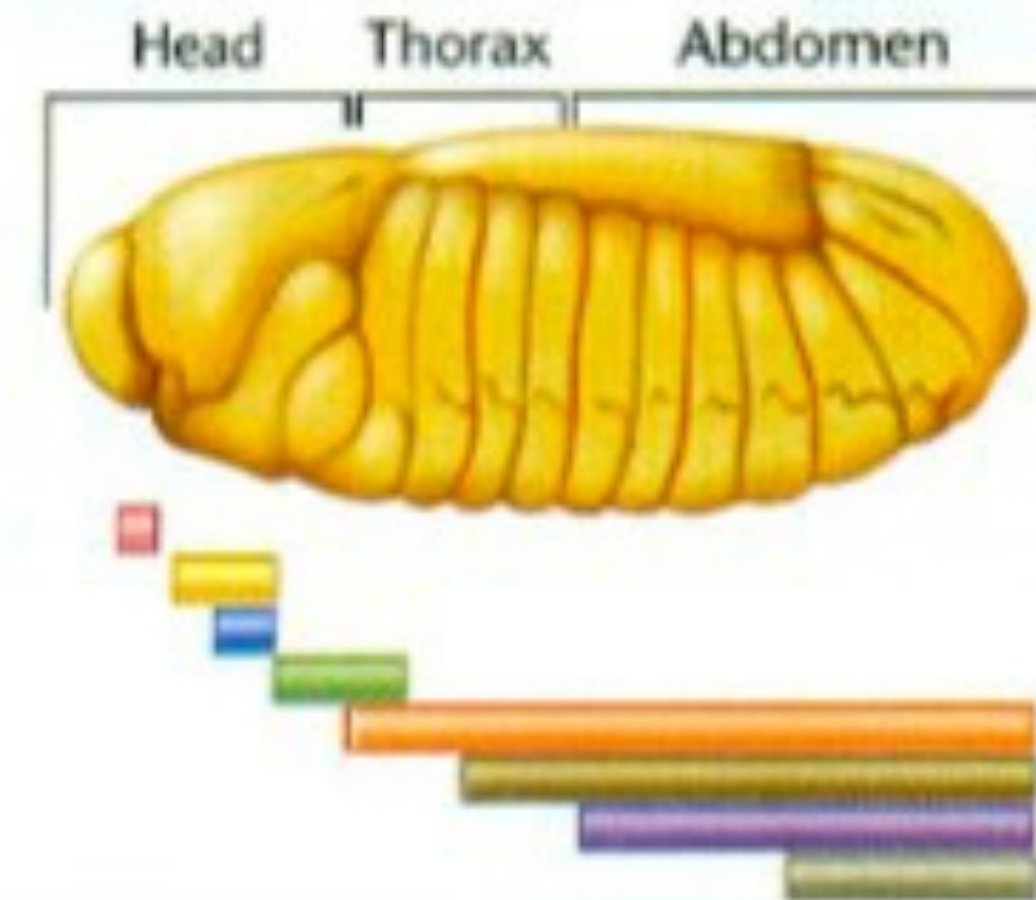


FIGURE 23-14 The 14 stripes of expression of the segment polarity gene *engrailed* in a *Drosophila* embryo.

Geny homeotyczne

- Ekspresja w segmentach zależna od aktywności genów reguły parzystej i polarności segmentu
- Czynniki transkrypcyjne (homeodomena – wiązanie DNA)
- Wyznaczają tożsamość segmentu
- Domeny ekspresji kolinearne z położeniem na chromosomie

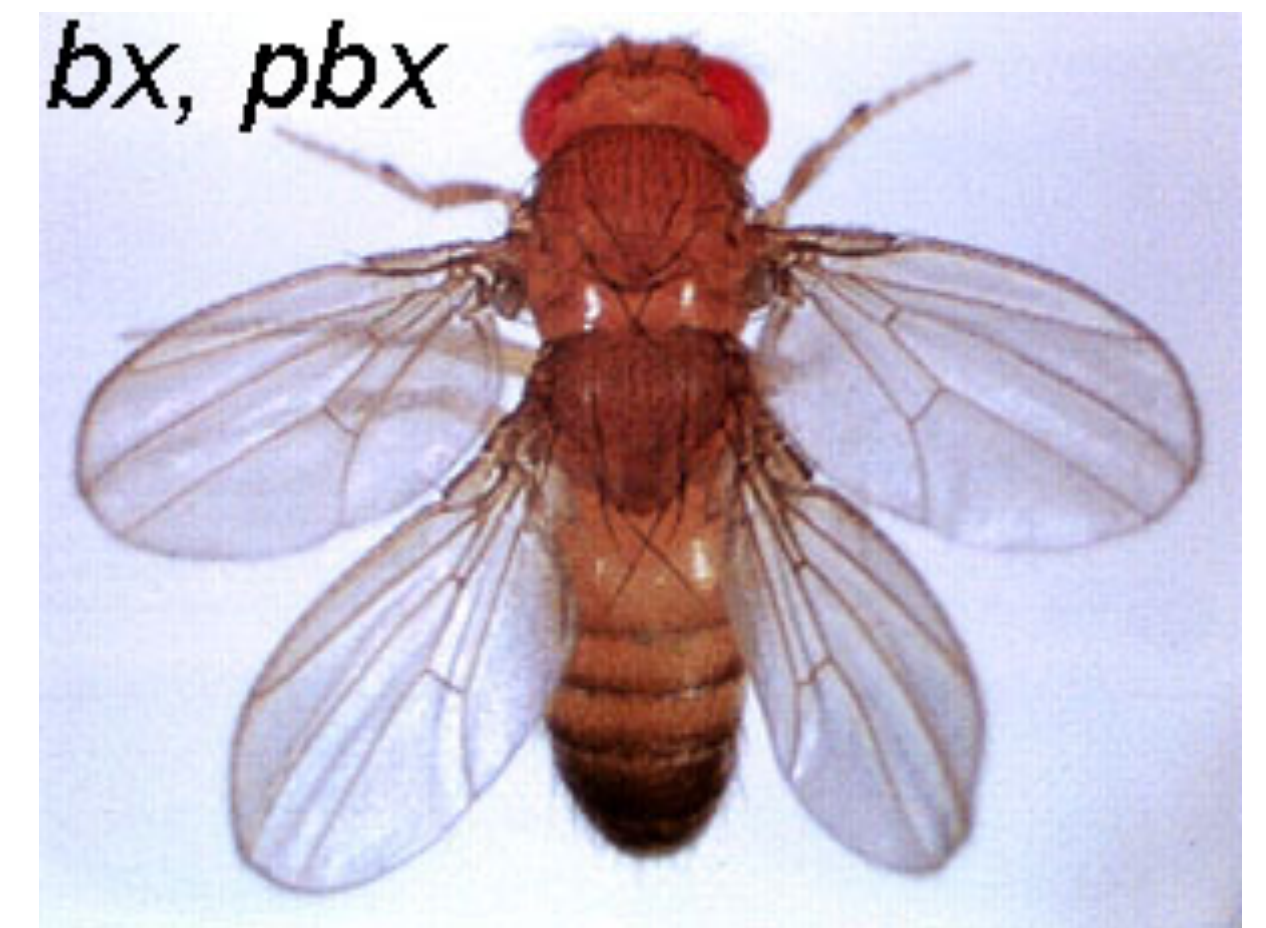
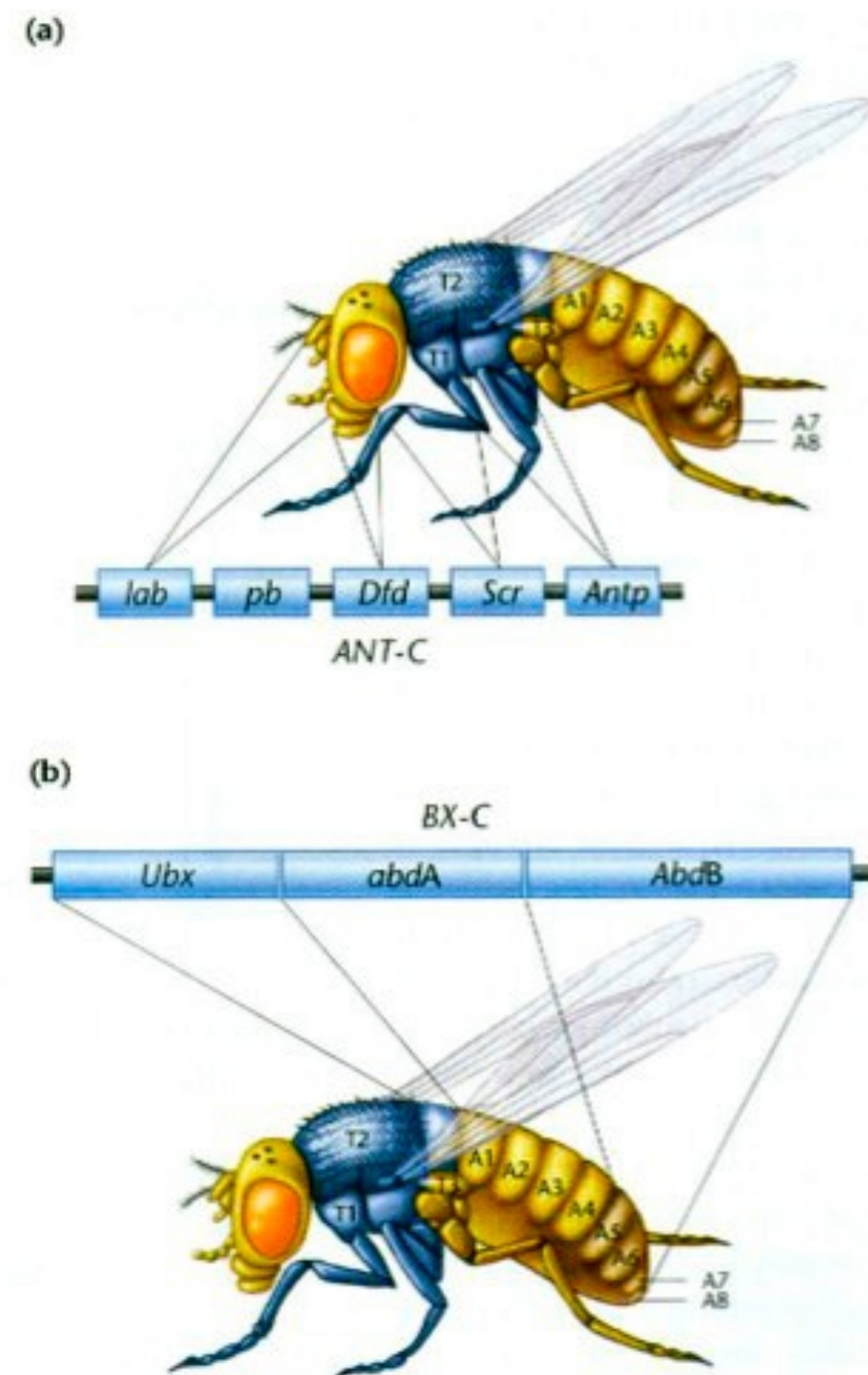
(a) Expression domains of homeotic genes



(b) Chromosomal locations of homeotic genes



Geny homeotyczne



Np. Antennapedia – zestaw 5 genów, Bithorax – 3 geny

Geny homeotyczne są konserwowane w ewolucji

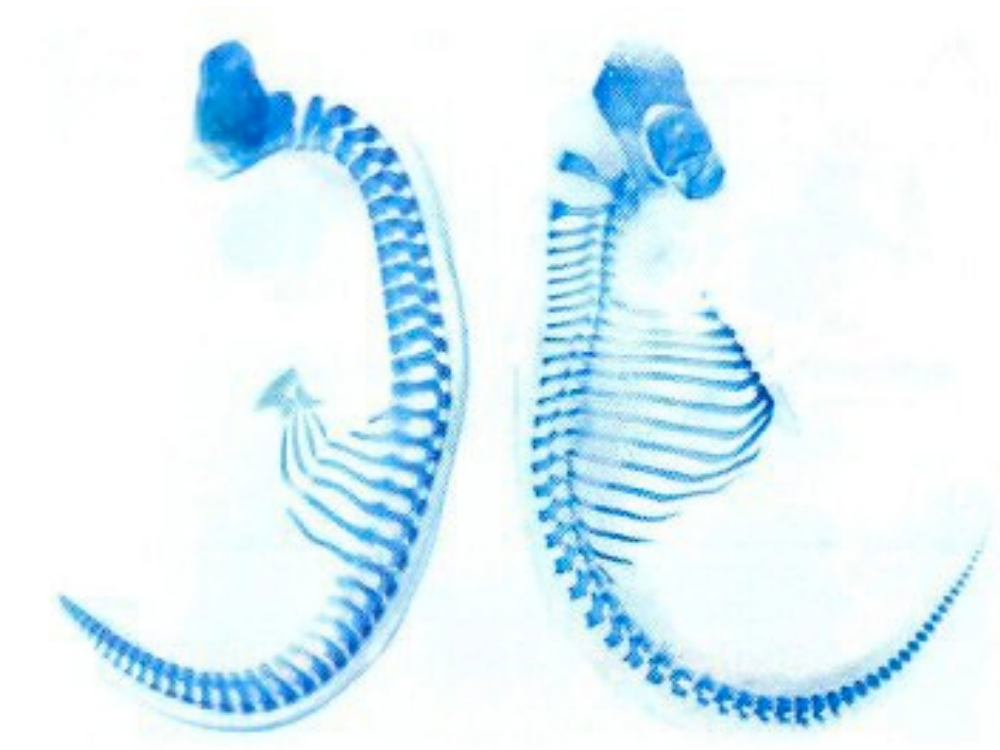
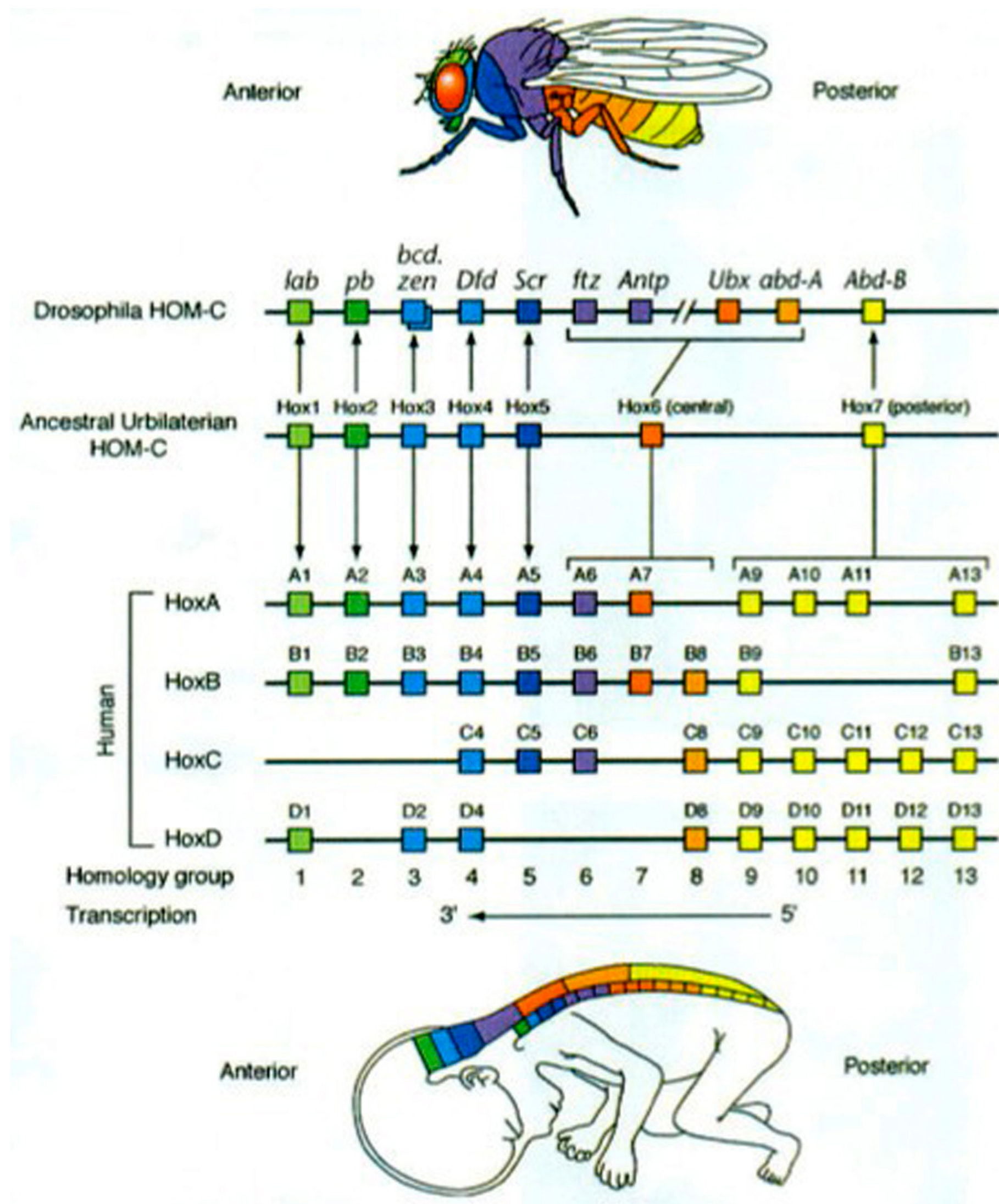


FIGURE 23-19 Patterns of *Hox* gene expression control the formation of structures along the anterior-posterior axis of bilaterally symmetrical animals in a species-specific manner. In the chick (left) and the mouse (right) expression of the same set of *Hox* genes is differentially programmed in time and space to produce different body forms.

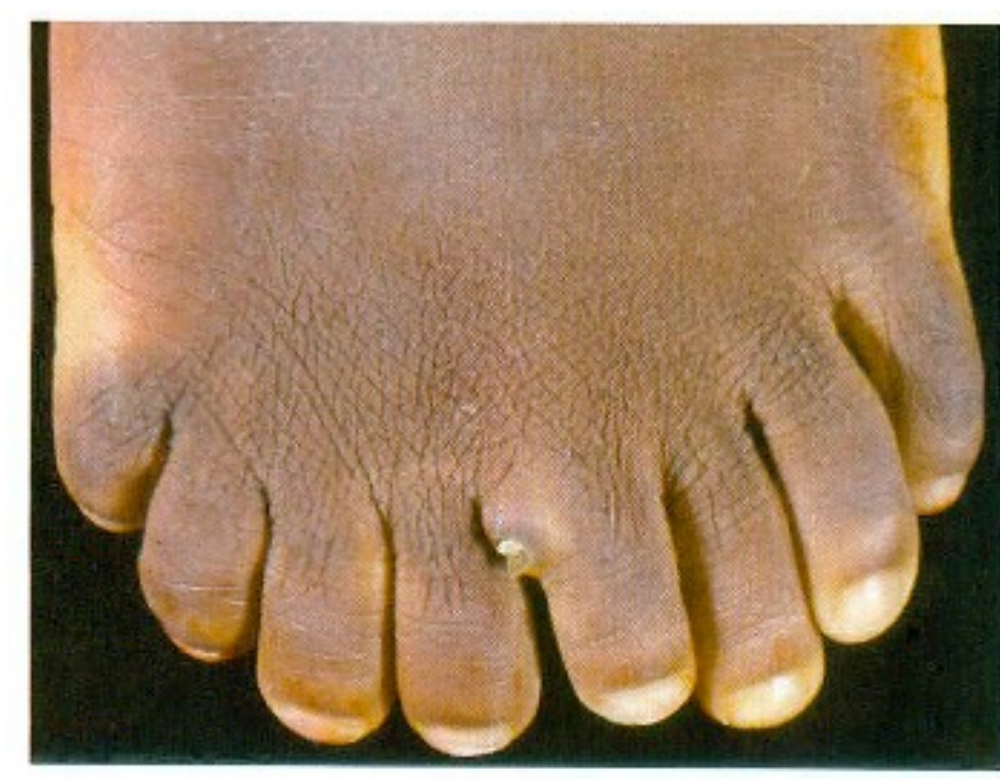
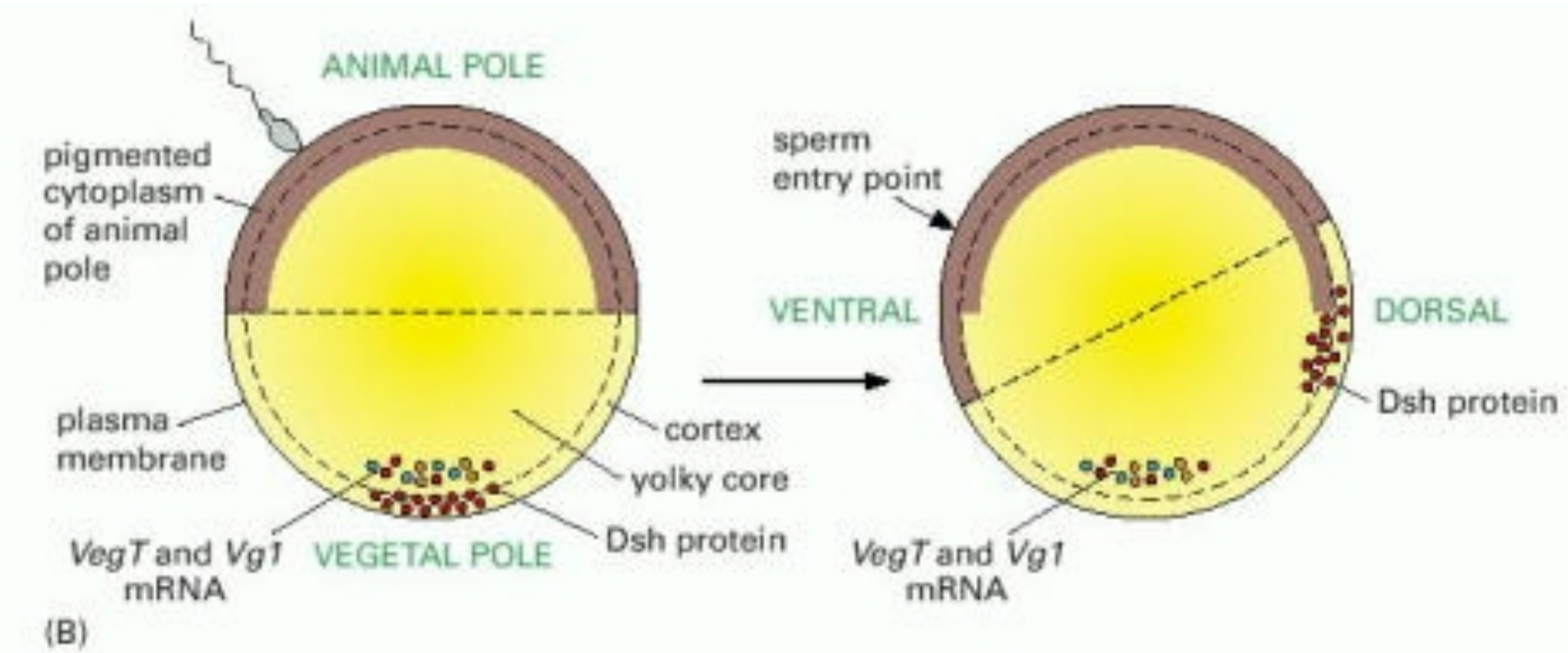


FIGURE 23-20 Mutations in posterior *Hox* genes (*HoxD13* in this case) in humans result in malformations of the limbs, shown here as extra toes. This condition is known as synpolydactyly. Mutations in *HoxD13* are also associated with abnormalities of the bones in the hands and feet.

Rozwój u innych organizmów

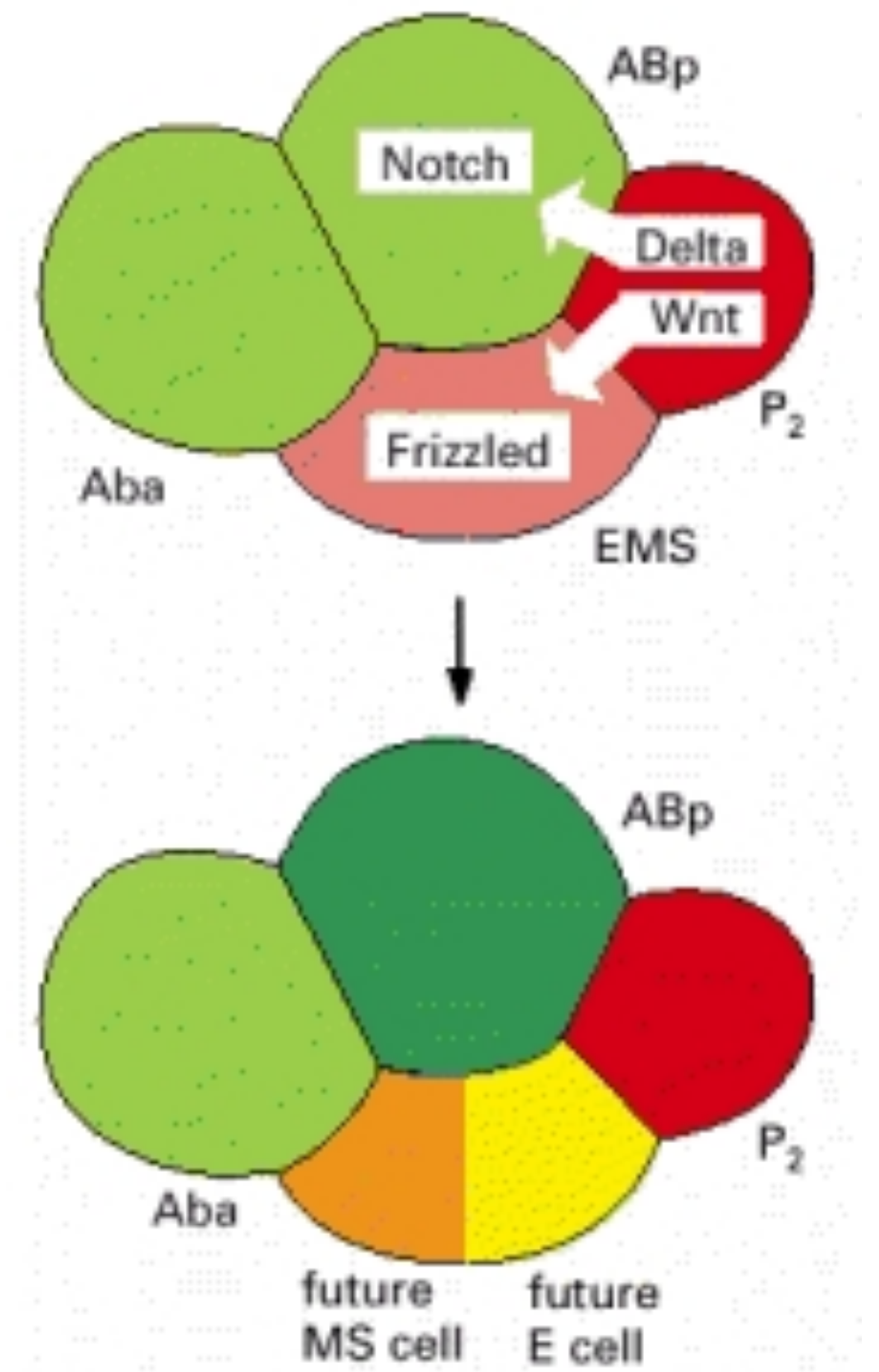
- Ogólne zasady są wspólne
 - lokalne interakcje
 - gradienty morfogenów
 - szlaki transdukcji (często zachowana homologia, np. hedgehog)
- lokalizacja RNA w oocycie (np. *Xenopus*)



Alberts et al. Molecular Biology of the Cell, American Society for Cell Biology (ASCB)

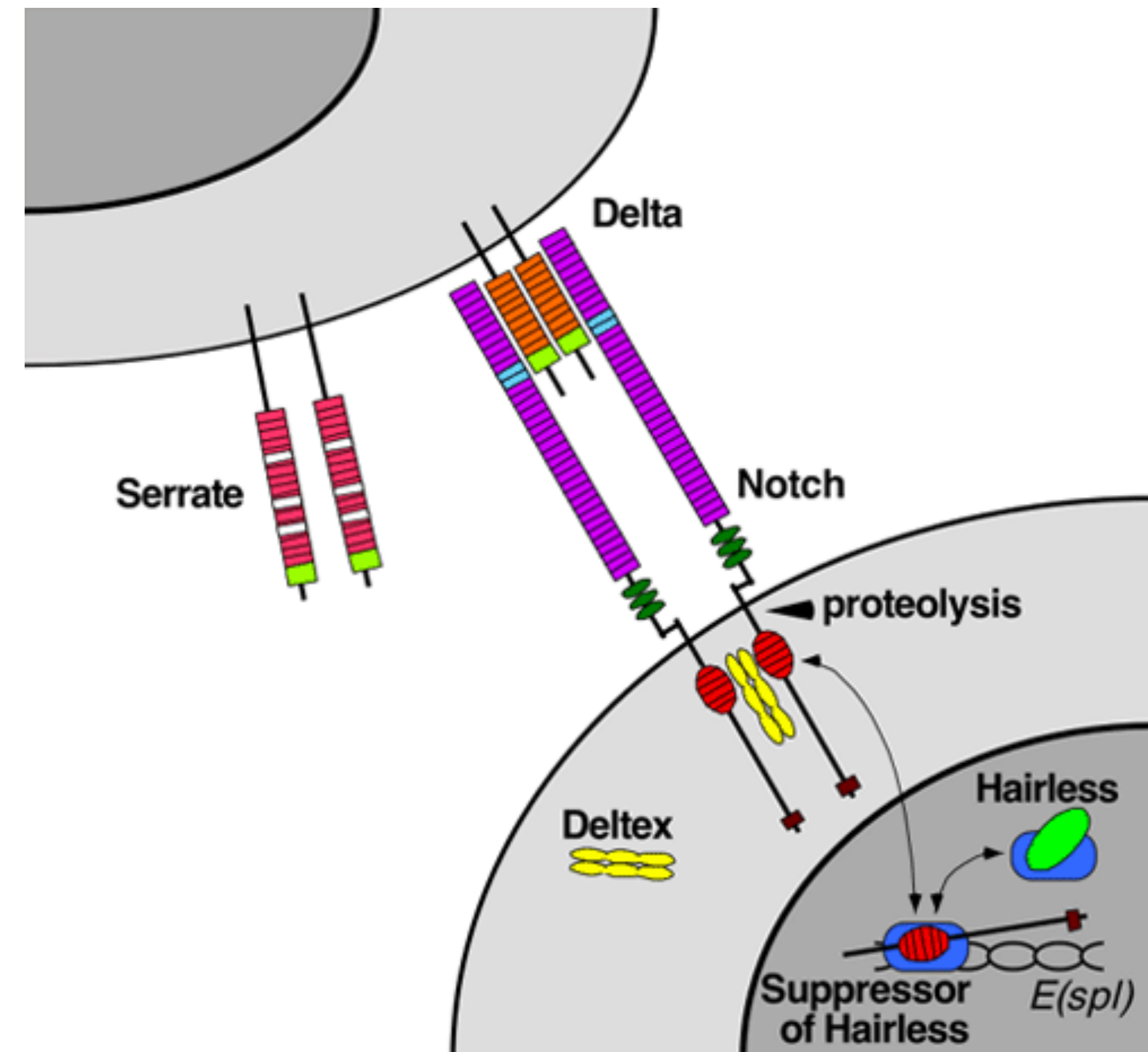
Przekazywanie sygnału a rozwój

- Inne niż stawonogi organizmy, np. *C. elegans* i kręgowce nie mają fazy syncytialnej zarodka
- Geny i mRNA matczyne determinują polarność komórki jajowej
- Później przepływ informacji przez interakcje i ruch komórek
- Za pośrednictwem szlaków transdukcji sygnału
- Istotna rola apoptozy

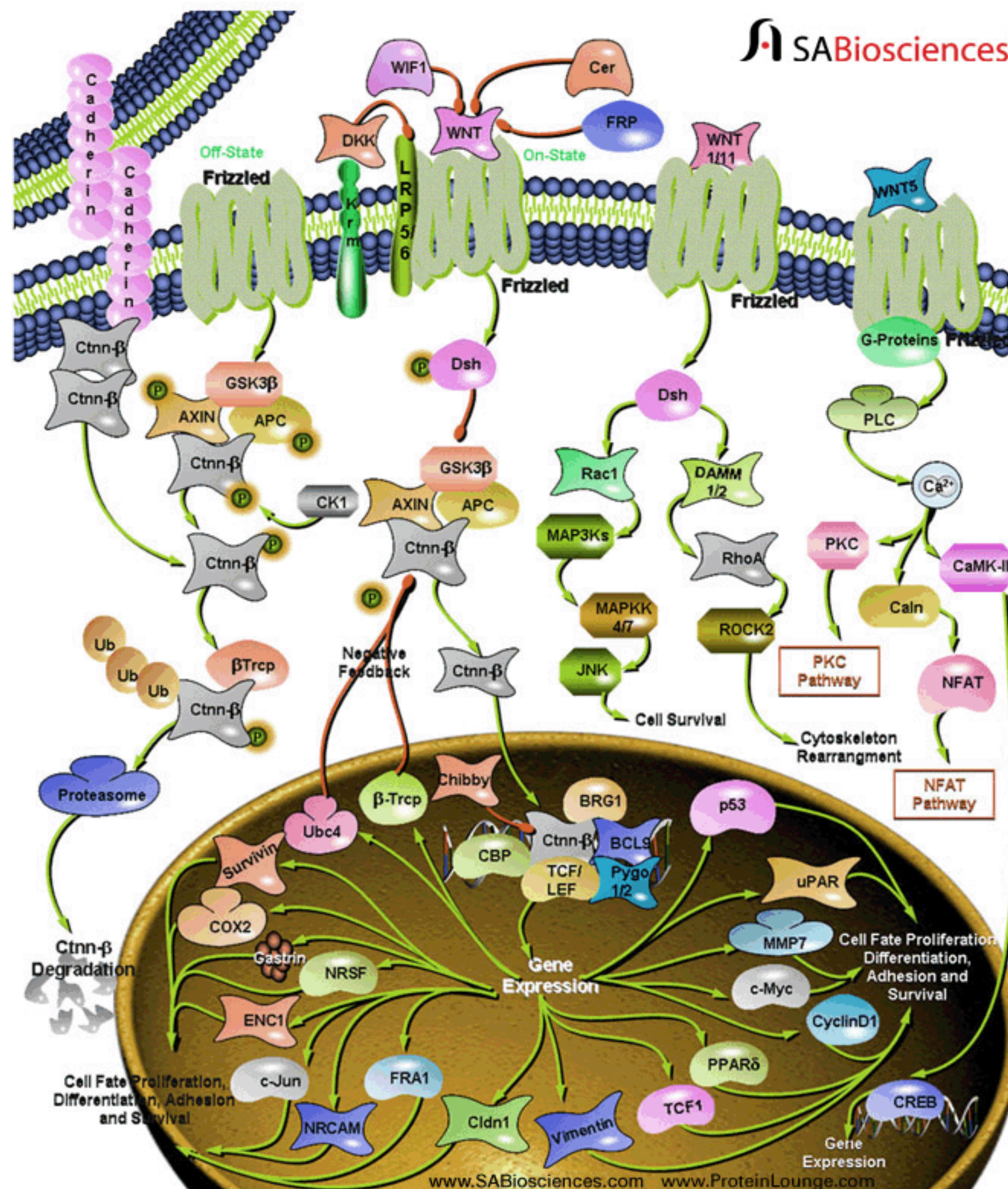


Szlaki transdukcji sygnału w rozwoju

- Komunikacja między komórkami w rozwoju – kilka klas szlaków transdukcji sygnału konserwowanych w ewolucji
 - Hedgehog
 - Wnt
 - TGF- β
 - receptorowe kinazy tyrozynowe
 - Notch
 - JAK/STAT
 - hormony jądrowe (sterydowe, np. kwas retinowy)
- Kluczowa jest zawsze kombinatoryka



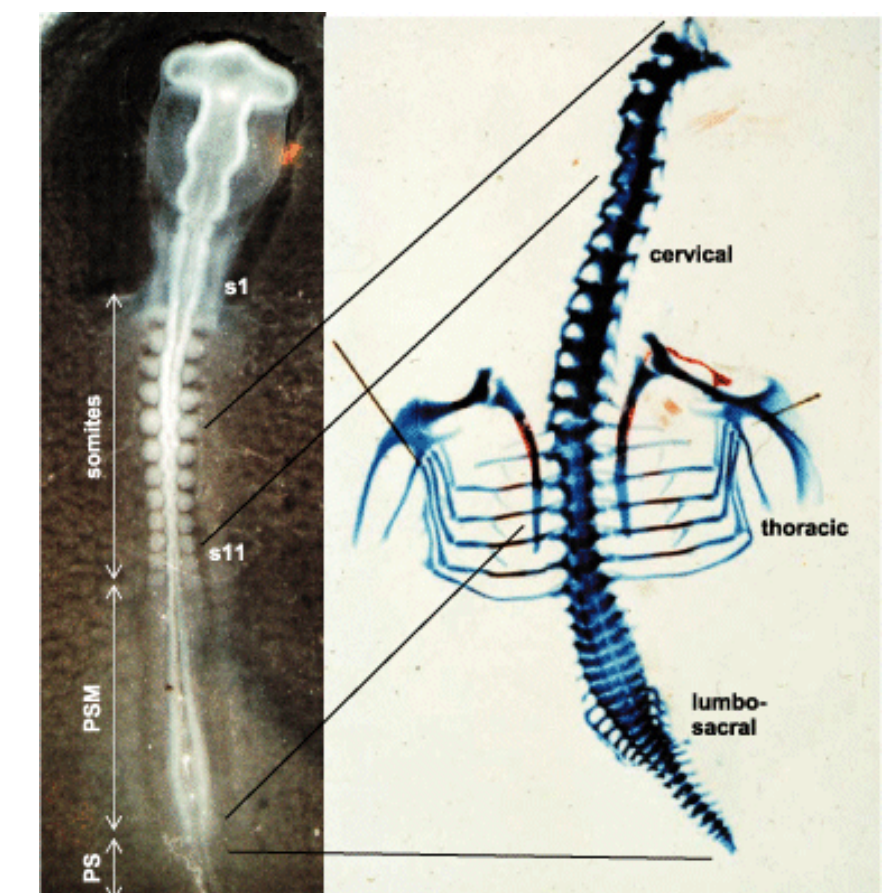
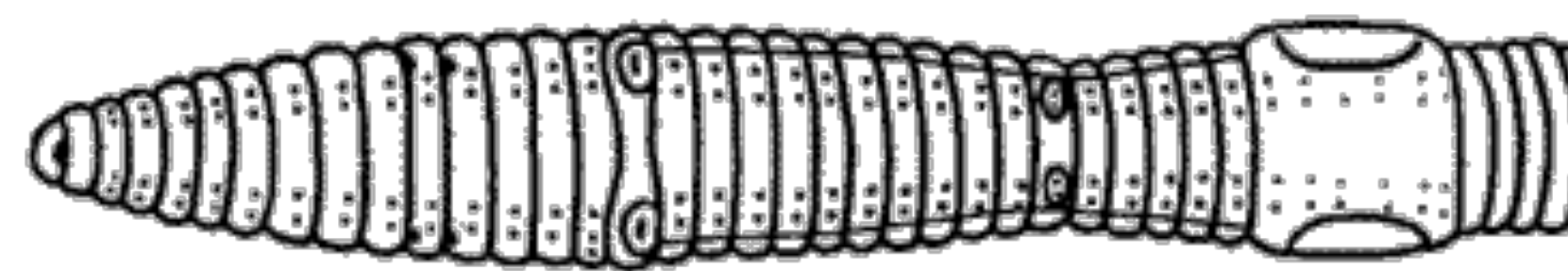
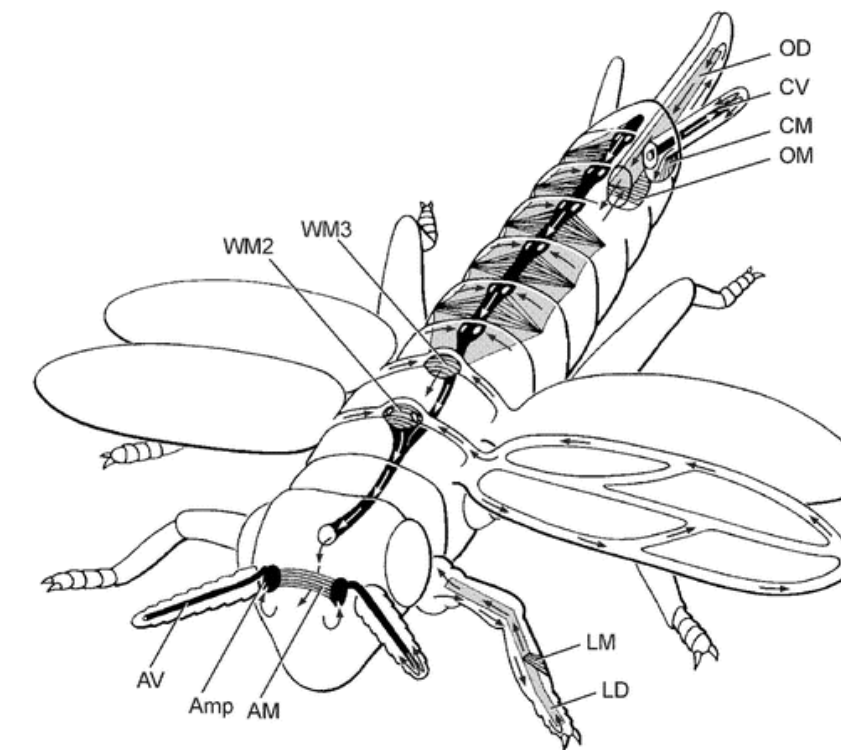
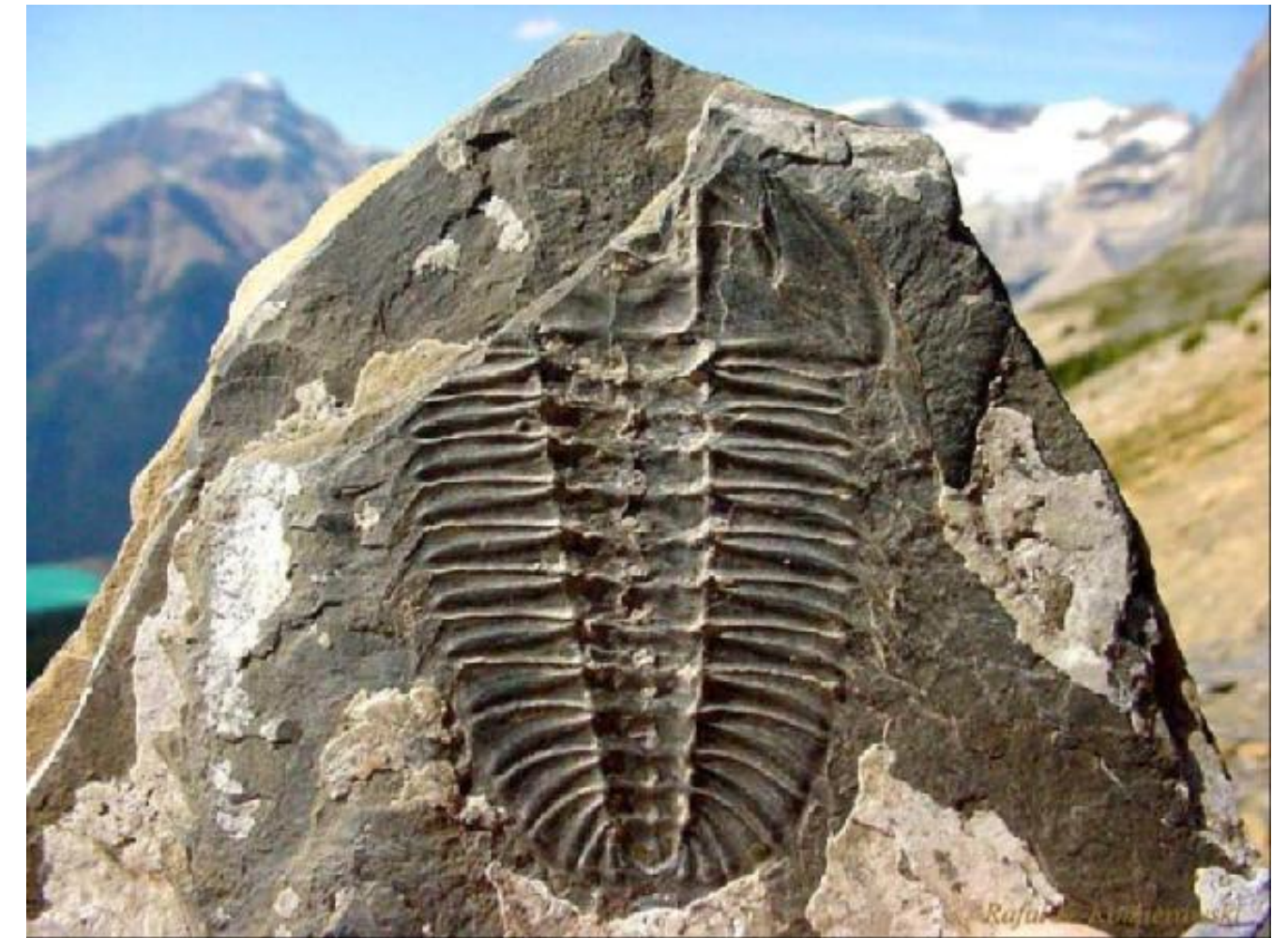
Systemy transdukcji mogą być złożone



Szlak Wnt

Metameria

- Podstawą różnicowania wielu grup jest struktura powtarzających się segmentów
- Takich samych
- Zróżnicowanych (dzięki genom Hox)



Oscylator w rozwoju kręgowca – “zegar i czoło fali”

- Cooke & Zeeman 1976
- Oscylacje + ruch (np. wzrost)

(Polezhaev, J Theor Biol v 156, p 169, 1992) :

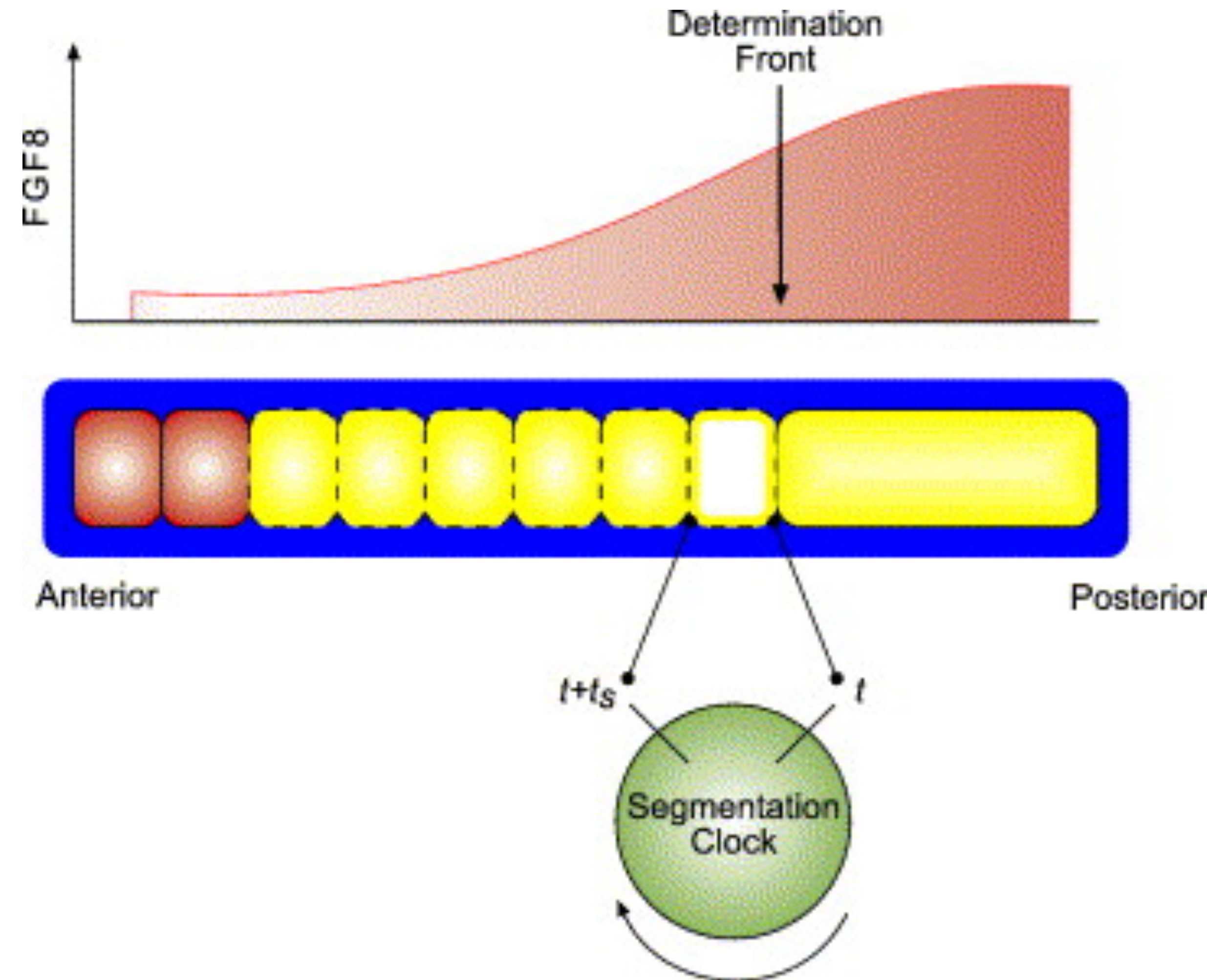
$$\frac{\partial a}{\partial t} = \frac{M}{T} \cdot \theta(vt - r) \cdot \theta(h_0 - h(t - t_0))$$

$$\frac{\partial h}{\partial t} = ka - dh + D \frac{\partial^2 h}{\partial r^2}$$

$$a(0, r) = h(0, r) = 0, \quad r \in [0, L]$$

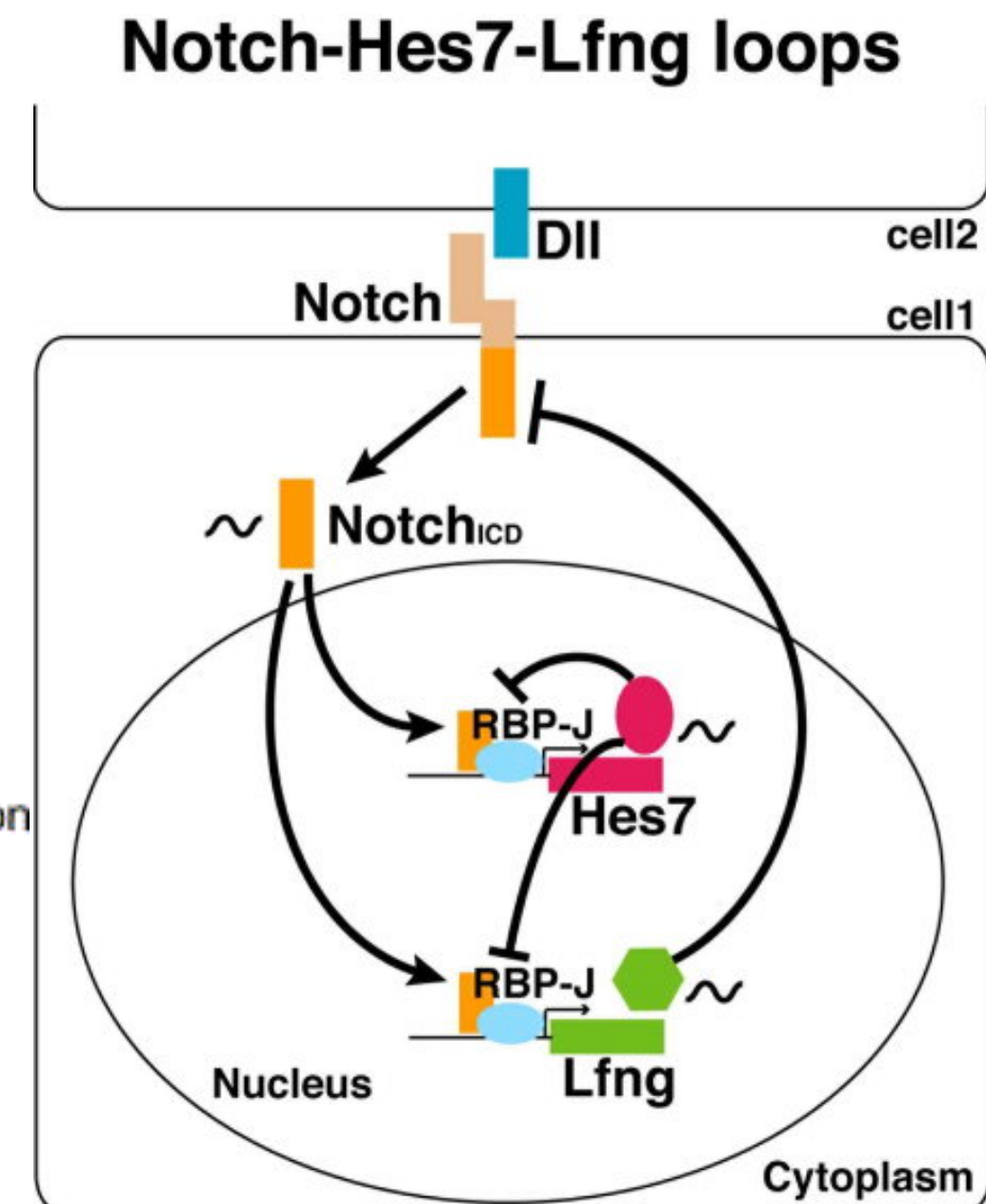
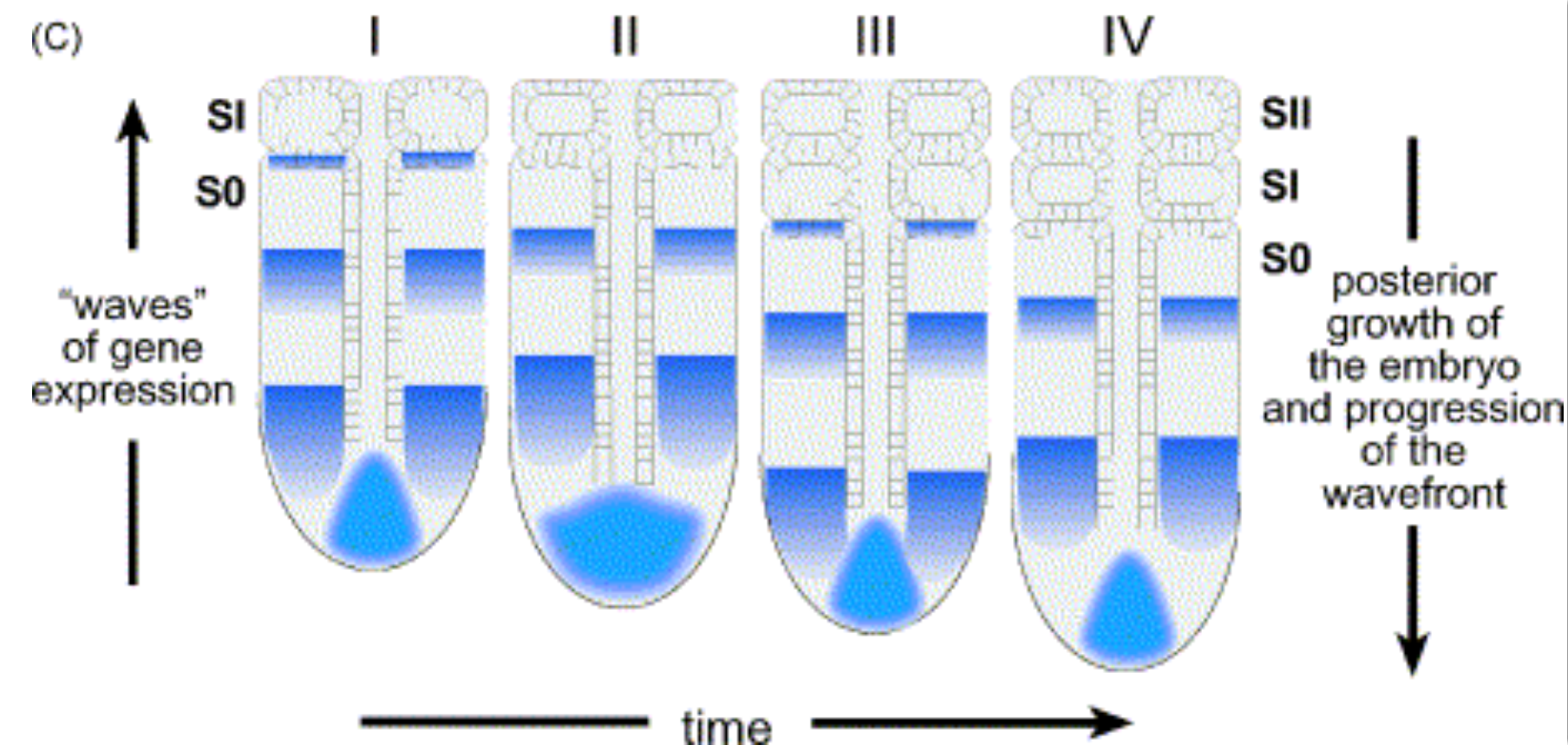
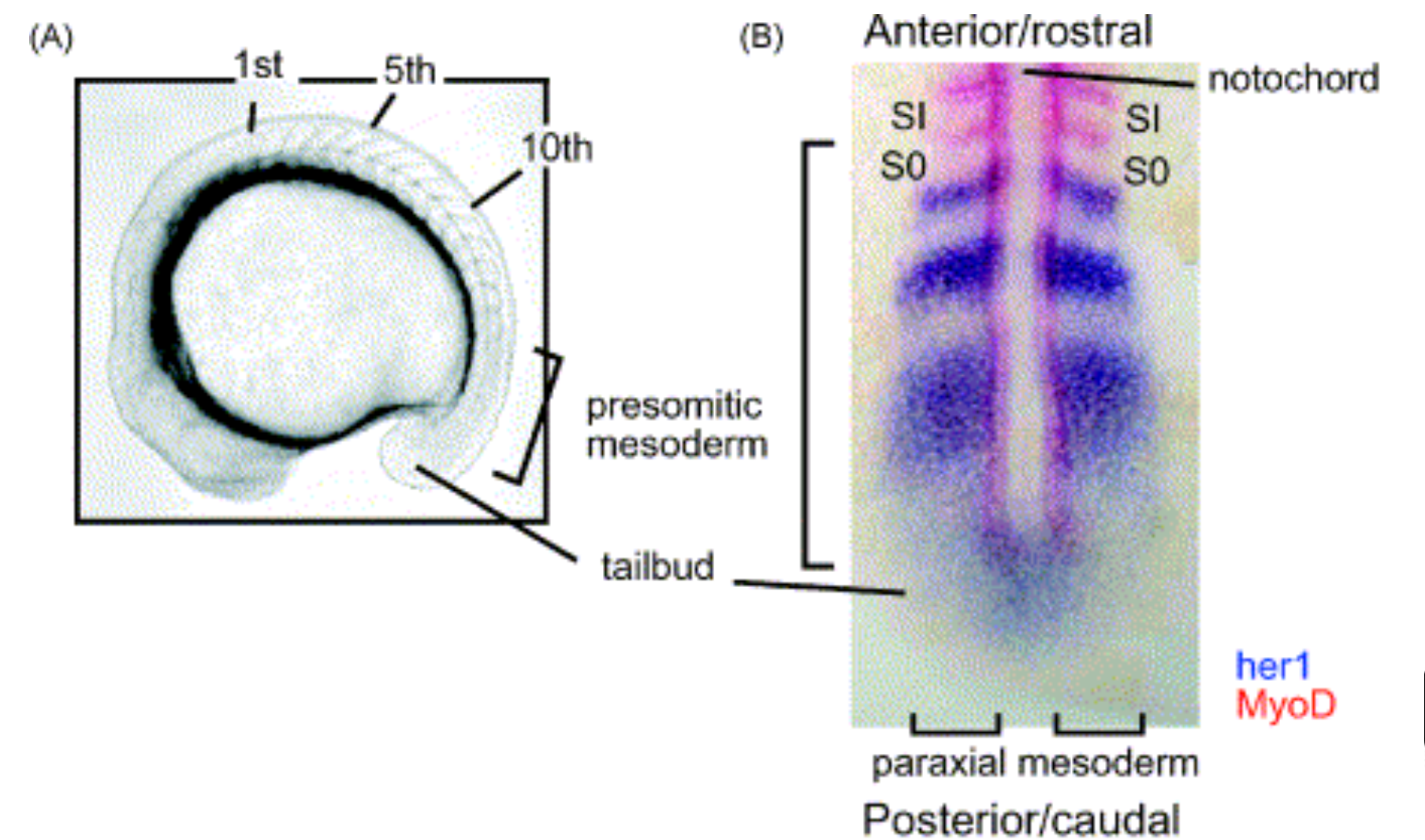
$$\frac{\partial h}{\partial r}(t, 0) = \frac{\partial h}{\partial r}(t, L) = 0$$

$$\theta(x) = 1 \text{ for } x \geq 0 \text{ and } 0 \text{ otherwise}$$

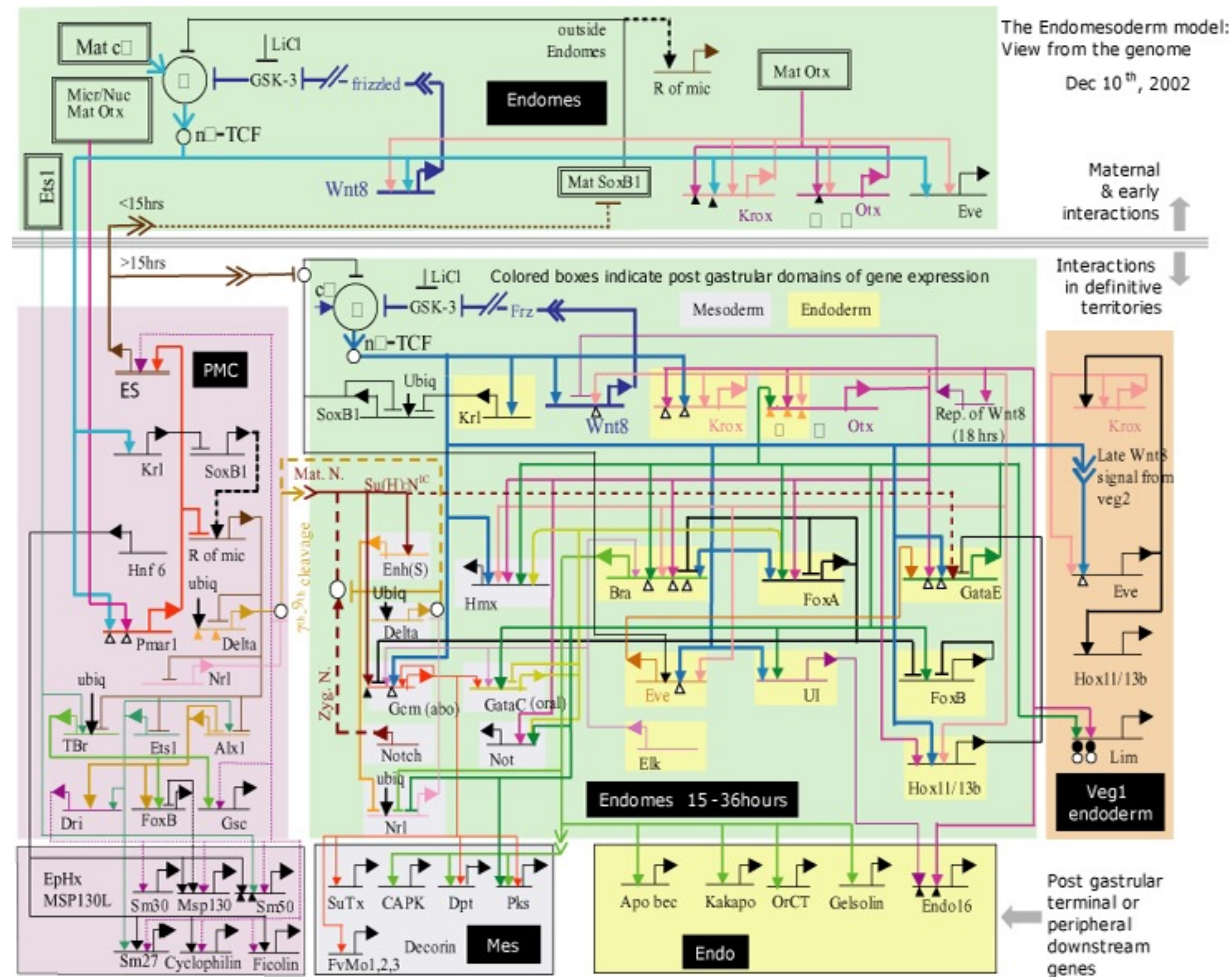


Oscylator w rozwoju kręgowca – “zegar i czoło fali”

- Strefy generowane przez oscylatory (np. rozwój somitów *D. rerio*, myszy itp.)
- oscylacje Her/hes (regulator transkrypcji)
- sygnalizacja Notch
- pętle ujemnego sprzężenia zwrotnego

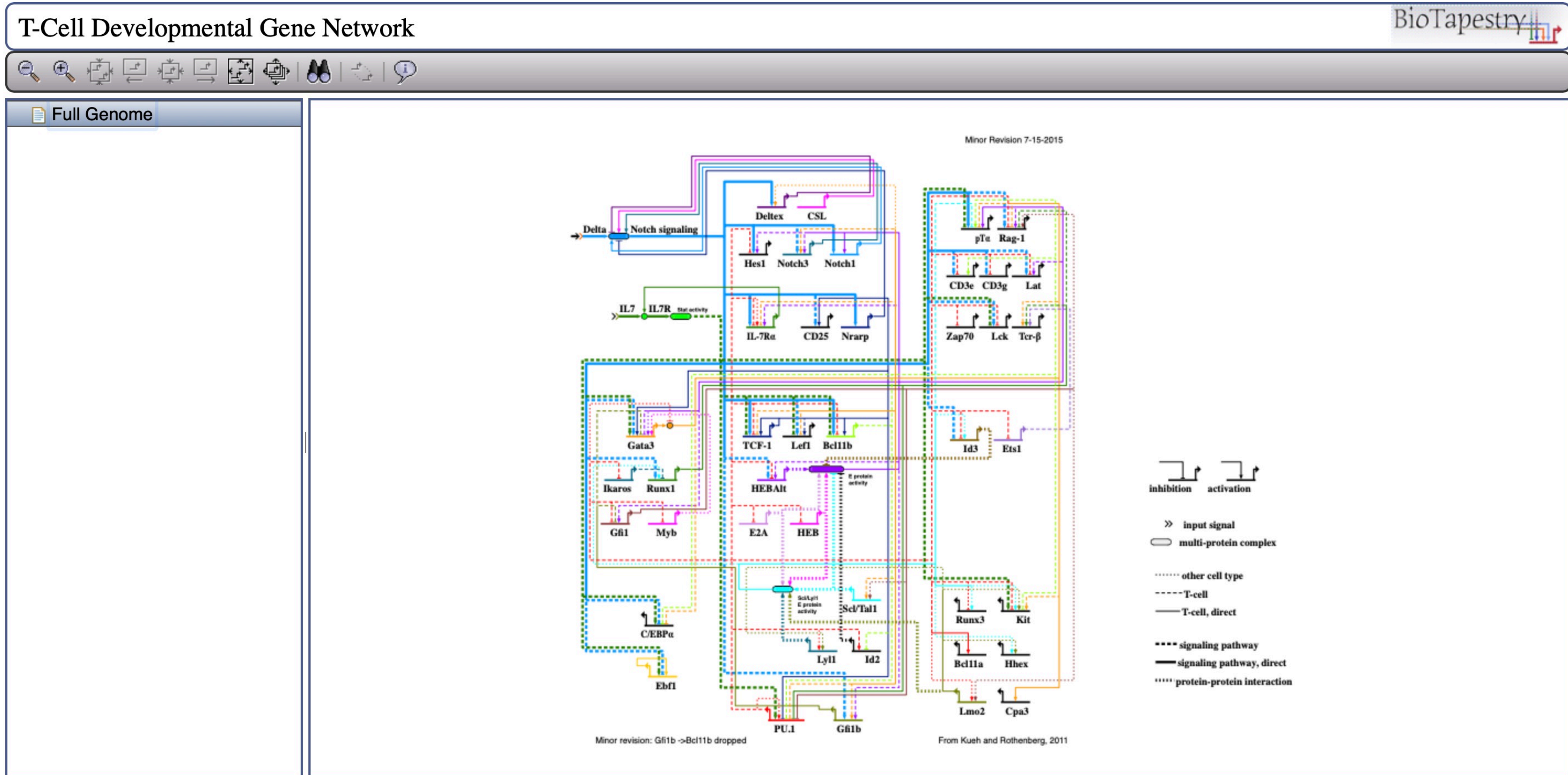


Sieci regulacji są bardzo złożone



Rozwój endomezodermy jeżowca (<http://sugp.caltech.edu/endomes/>)

<http://grns.biotapestry.org>



Głęboka homologia

- Niektóre szlaki regulatorowe kierują rozwojem podobnych struktur u bardzo odległych organizmów
- Np. Pax6 (*eyeless*) – rozwój oczu

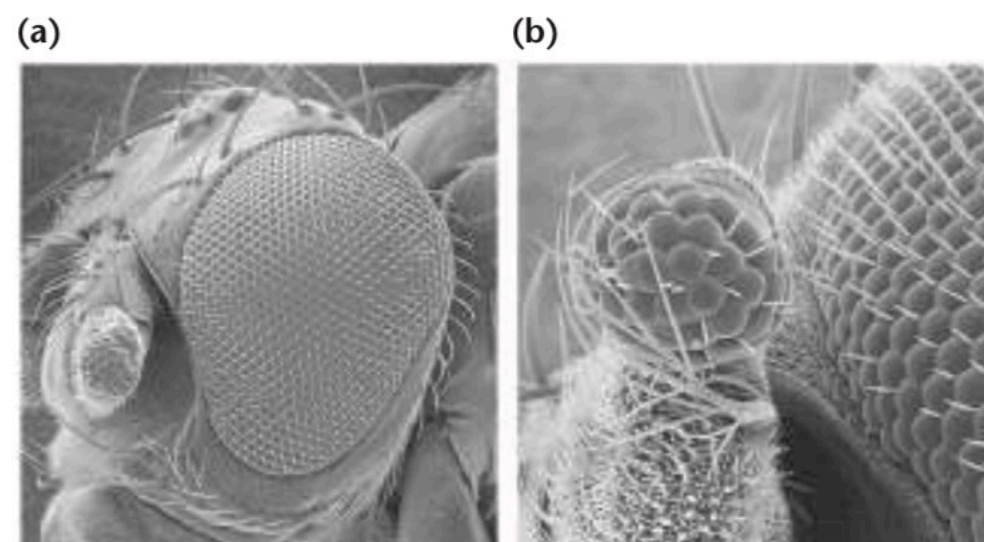
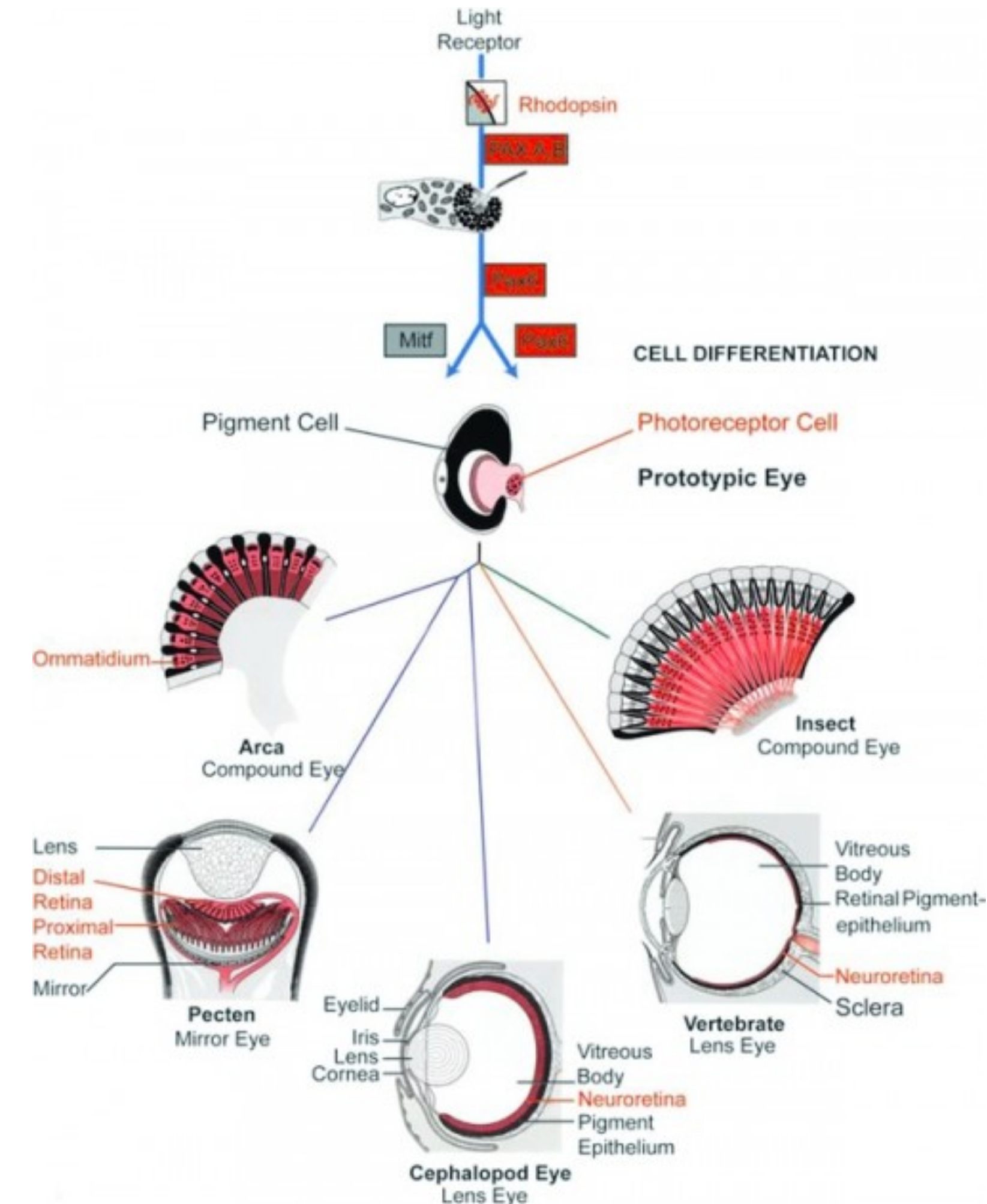


FIGURE 18-27 (a) Eye formation on the antenna (arrow) of *Drosophila* induced by action of the mouse version of the *eyeless* gene (*Small eye*). (b) High magnification of the induced eye showing that the eye structure on the antenna is normal.



Gehring WJ (2012) The animal body plan, the prototypic body segment, and eye evolution. *Evolution & Development* 14(1):34-36.

Monteiro A (2012) Gene regulatory networks reused to build novel traits. *Bioessays* 34:181-186.