Epigenetika i evolucija

Ivčević, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:801199

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

EPIGENETIKA I EVOLUCIJA

EPIGENETICS AND EVOLUTION

SEMINARSKI RAD

Jelena Ivčević

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Damjan Franjević

Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

1.UVOD 1
2. MEHANIZMI EPIGENETIČKIH PROMJENA 2
2.1. Kovalentne modifikacije histona *3*
2.2. Metilacija DNA *5*
2.3. Nekodirajuće RNA *7*
3. PRIMJERI EPIGENETIČKE REGULACIJE 8
3.1. Globalna regulacija klastera Hox gena *8*
3.2. Genomski utisak (engl. genomic imprinting) *10*
3.3. Inaktivacija X-kromosoma *12*
3.4. Pokretni genetički elementi *12*
3.5. Epigenetika i okoliš *14*
4. UTJECAJ EPIGENETIČKIH PROMJENA NA EVOLUCIJU 15
5. LITERATURA 19
6. SAŽETAK 21
7. SUMMARY 21

1.UVOD

U slijedu nukleotida DNA pohranjena je biološka informacija nužna za rast i razvoj svih živih bića. Informacija se prenosi s roditelja na potomstvo u obliku gena, slijeda nukleotida DNA potrebnog za sintezu funkcionalnog genskog produkta (proteina ili RNA transkripta). Napretkom metoda sekvenciranja DNA i bioinformatike sve detaljnije se proučava točna pozicija i funkcija gena, kao i njihova međusobna interakcija. No, samim slijedom nukleotida DNA ne može se u potpunosti objasniti funkcionalnost stanica i njihova diferencijacija, razvoj nekih bolesti, kao ni različitost organizama kojima je genom identičan (npr. klonovi, jednojajčani blizanci).

Novija istraživanja ukazuju na to da na potpuni fenotip organizma ne utječu samo geni već i njihova aktivnost u pojedinoj stanici kao i razina njihove transkripcije. Molekularne modifikacije strukture histonskih proteina koji pakiraju i organiziraju DNA u kromatin u stanicama te modifikacije same DNA imaju značaj utjecaj na transkripciju gena bez mijenjanja njegova slijeda nukleotida. Takve, nasljedne promjene nazivamo epigenetičkim promjenama, a znanost koja ih proučava epigenetikom.

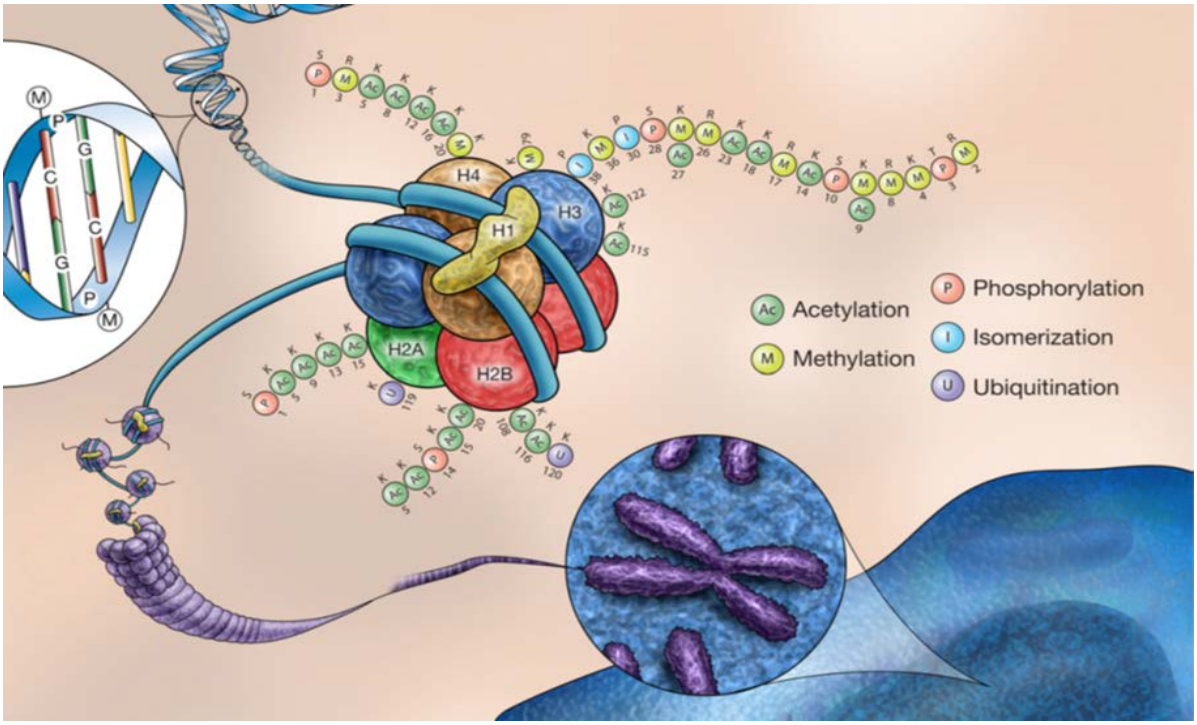
Pojam "epigenetika" (iz grčke riječi *epigenesis* - u doslovnom prijevodu *iznad gena*) skovao je 1942. Conrad Waddington kako bi opisao interakciju gena i genskih produkta u stvaranju fenotipa. U početcima razvoja epigenetike, označavao je procese koji su vodili nastanku kompleksnog, višestaničnog organizma iz oplođene zigote, nešto o čemu se tada jako malo znalo. Napretkom epigenetike redefiniran je opseg njena izučavanja.

1930. znanstvenik H.J. Muller uočio je neobične mutacije kod modelnog organizma *Drosophila* koje su bile rezultat translokacije kromosoma. No čak i kad su svi dijelovi kromatina bili prisutni u pravilnim omjerima, fenotip organizma se razlikovao čime je zaključio da na fenotip osim gena i njihovih elemenata utječe i reorganizacija kromosoma te da se funkcija gena može mijenjati ovisno o njegovoj lokaciji u genomu. Još jedno značajno otkriće koje je potvrdilo navedeno bilo je otkriće transpozona 1940-ih godina za koje je zaslužna Barbara McClintock. Nakon otkrića metilacije DNA i njene uloge u utišavanju gena, uslijedilo je mnoštvo radova u kojima su otkriveni novi procesi koji nisu uključivali mijenjanje slijeda nukleotida DNA i njihova uloga u razvoju i diferencijaciji organizama, kao i uloga u nastanku tumora i drugih

bolesti koje nisu posljedica mutacije nekog gena čime je naglašena važnost epigenetičkih istraživanja.

2. MEHANIZMI EPIGENETIČKIH PROMJENA

Epigenetika definirana kao znanost koja se bavi proučavanjem promjene transkripcije gena koja utječe na varijabilnost fenotipa organizma, obuhvaća široki spektar staničnih procesa, od dobro proučenih kovaletnih modifikacija DNA i proteina koje ju pakiraju (Slika 1.) do onih čiji se točni principi djelovanja tek trebaju otkriti kao što su primjerice, pozicioniranje nukleosoma, regulacija gena nekodirajućim RNA slijedovima ili pak promjene izazvane međusobnom interakcijom kromosoma u stanici. Neke modifikacije potiču gušće odnosno rjeđe pakiranje DNA time određujući dostupnost transkripcijskim faktorima koji započinju transkripciju nekog gena dok druge služe kao signali koji moduliraju njegovu ekspresiju. Gušće pakiranu DNA oko histona nazivamo heterokromatinom i to je regija gena koji se ne prepisuju ili rijetko prepisuju. Aktivno transkribirane gene nalazimo u eukromatinu - dijelu DNA gdje je ona manje kondezirana i time dostupnija molekularnim kompleksima koji započinju transkripciju.



Slika 1. Shematski prikaz modifikacije histona i metilacije DNA

(preuzeto iz Barber i sur., 2010.)

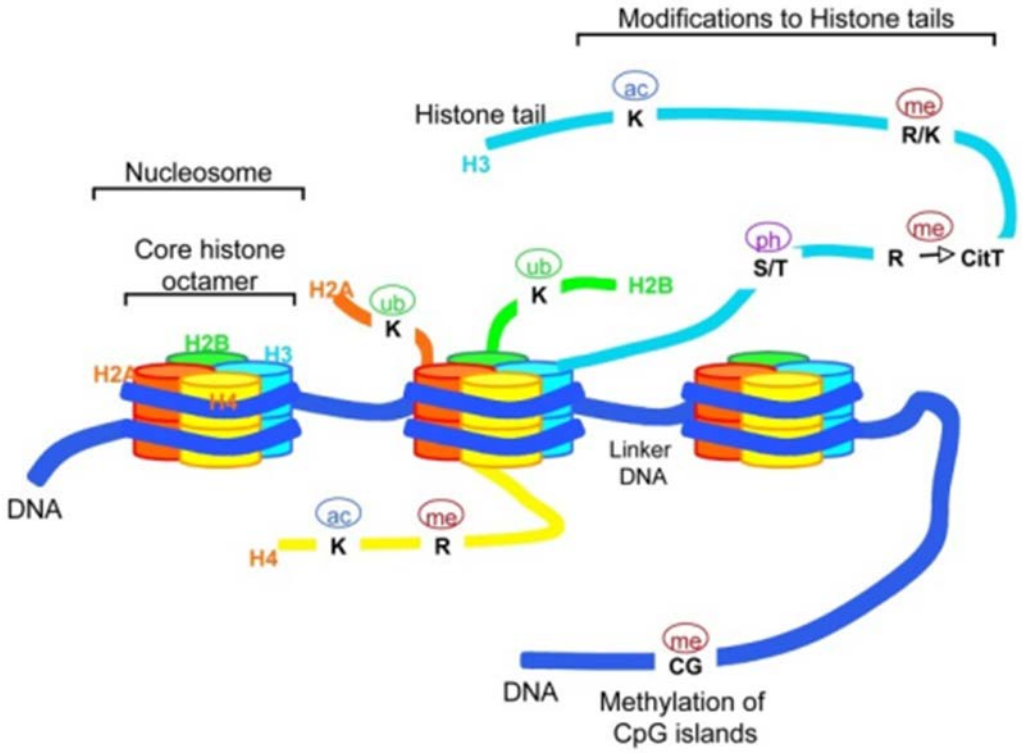
2.1. Kovalentne modifikacije histona

Strukturna jedinica kromatina, nukleosom, sastoji se od 146 parova baza DNA molekule omotanih oko četiri dimera histona H2A, H2B, H3 i H4 zajedno povezanih u oktamer (Slika 2.). Peti histon, H1, ne sudjeluje u izgradnji oktamera već se nalazi na mjestu ulaska i izlaska DNA u zavoj oko nukleosoma, a veže se i za slobodne dijelove DNA koji povezuju dva nukleosoma (engl. linker DNA). Histoni su proteini građeni od središnje duge zavojnice koju s obje strane okružuju petlja i jedna kraća zavojnica. Slijed aminokiselina histona evolucijski je izrazito očuvan kod eukariota te nema velikih varijacija čak ni između filogenetski udaljenih vrsta. Svaki histon sadrži fleksibilan N-kraj koji se proteže izvan globularne središnje domene nukleosoma, dok H2A i H2B također imaju i fleksibilan C-kraj. Krajevi histona nazivaju se histonskim repovima i upravo na njima se događaju postranslacijske modifikacije kao što su acetilacija, fosforilacija, ubikvitinacija i metilacija. Kovalentne modifikacije histona utječu na lokalnu strukturu kromosoma te time i na razinu transkripcije.

Od navedenih promjena, najčešća je metilacija histona. $-NH^+$ skupina aminokiseline lizin može prihvatiti tri metilne skupine s univerzalnog donora S-adenozil metionina. Adicija metilnih skupina na aminokiseline lizin ili arginin održava pozitivni naboj histona i potiče kondenziranje DNA. Najznačajnije i najbolje proučene su mono/di/i tri-metilacija aminokiseline lizin 4 histona 3 (promjena koja se skraćeno označava H3K4me/me2/me3), trimetilacija lizina 27 histona 3 (H3K27me3) i dimetilacija lizina 9 histona 3 (H3K9me2) (Tablica 1.) Reakcija je katalizirana histonskim metiltransferazama specifičnim za pojedinu aminokiselinu. Trimetilacija H3K9 i dimetilacija H3K9 povezane su sa smanjenom ili potpuno utišanom transkripcijom gena koje okružuju. Nasuprot tome, analizom metiloma *Arabidopsis thaliana* utvrđeno je da se metilacija H3K4 nalazi kod gena i promotora, dok je odsutna u heterokromatinu čime se može smatrati „aktivnom“ oznakom kromatina. Metilacija histona je najstabilnija kovalentna modifikacija, iako su nedavno otkrivene i demetilaze histona što govori o reverzibilnosti epigenetičkih promjena.

Acetilacija histona je proces prenošenja acetilne skupine s donora acetil-koenzim A na -NH^+ skupinu lizinskih ostataka. Time se neutralizira pozitivni naboj histona i smanjuje privlačenje s negativno nabijenom fosfatnom okosnicom DNA čime se povećava dostupnost transkripcijskih fatora i enzima i time povećava transkripcija. Reakciju kataliziraju histonske acetil-transferaze (HATs), a događa se i u obrnutom smjeru što katalizira deacetilaza. Deacetilacija histona je epigenetička oznaka povezana sa smanjenom aktivnošću gena.

Osim gore navedenih kovalentnih modifikacija histona, uočene su još fosforilacija, ubikvitinacija, deaminacija, biotinizacija i ADP-ribozilacija. Možemo zaključiti da varijabilnost u tipovima kovalentnih veza, također i varijabilnost histona i aminokiselina koji u njima sudjeluju te njihove interakcije sa transkripcijskim faktorima, represorima i koaktivatorima zajedno određuju razinu transkripcije nekog gena.



Slika 2. Shematski prikaz građe nukleosoma i modifikacija histonskih repova.

(preuzeto s https://openi.nlm.nih.gov/)

2.2. Metilacija DNA

Metilacija DNA česta je kovalentna modifikacija kod biljaka, gljiva i životinja čiji je najčešći rezultat utišavanje gena. Uključuje prijenos metilne skupine na 5. ugljikov atom citozina, kod sisavaca posebice na citozinima koji su dio citozin-gvanin dinukleotida koje nazivamo CpG otocima. Kod biljaka primjerice, metilacija citozina prisutna je na svim varijantama nukleotida. Visoka metilacija pokretnih elemenata i drugih repetitivnih sekvenci genoma navela je neke znanstvenike na misao da je metilacija razvijena kao mehanizam obrane genoma od takvih „parazitskih" sekvenci. Drugi pak navode da je upravo razvijanjem epigenetčkih mehanizama i procesa pokretnim genetičkim elementima osigurano mjesto u eukariotskom genomu čime je zazuzvrat omogućen njihov rast i sve veća složenost (Fedoroff, 2012.).

Sam proces kataliziraju enzimi DNA-metiltransferaze. Homologni su bakterijskim restrikcijskim metiltransferazama što upućuje na njihovo rano evolucijsko porijeklo. Metilaciju DNA možemo podijeliti na *de novo* metilaciju odnosno metiliranje prethodno nemetiliranih citozina te na metilaciju koja održava već postojeći uzorak nakon replikacije stanica. De novo metilaciju provode DNA-metiltransferaze 3a i 3b (DNMT3a, DNMMT 3b), dok održavanje metilacije katalizira DNA-metiltransferaza 1 (DNMT1). Pri semikonzervativnoj replikaciji, DNMT1 kopira metilacijski uzorak roditeljskog lanca na novo-sintentizirani lanac. Veliki napredak u epigenetici nastupio je 2009. otkrićem enzima skupine Tet proteina sisavaca (engl. *ten-eleven translocation proteins*) nazvanih po translokaciji koja je čest uzrok raka. 5-metilcitozin dioksigenaze te skupine proteina sudjeluju u demetilaciji DNA pretvarajući 5-metilcitozin u 5-hidroksimetilcitozin te imaju važnu ulogu u ranoj fazi razvitka embrija i postanku spolnih stanica. Demetilacija kod biljaka se odvija djelovanjem DNA glikozilaza.

Tablica 1. Epigenetičke oznake genoma čovjeka i biljke *Arabidopsis thaliana*

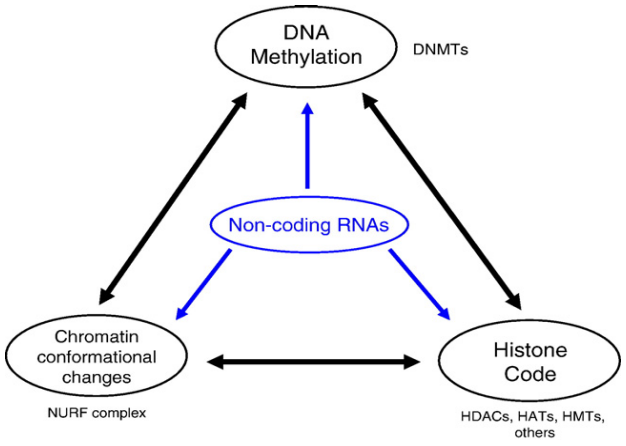
Oznaka	**Lokacija u genomu**
H3K4me1/me2/me3	geni
H3K27me3	heterokromatin
H3K9me2	heterokromatin
H3K9me3	heterokromatin
DNA metilacija	geni, pokretni genetički elementi, repetitivne sekvence

(preuzeto i prilagođeno iz Feng i sur., 2011.)

U istraživanju 2007. (Postovit i sur.) demonstriran je utjecaj vanjskih čimbenika na status metilacije specifičnih regija DNA. Time je otkrivena kompleksna komunikacija epigenoma s okolišem. Prvi je epigenetički mehanizam povezan sa nastankom tumora. Za razliku od normalnih tkiva, kod tumorskih je prisutna hipometilacija nekih gena, što potiče njihovu ekspresiju, kao i hipermetilacija tumor-supresorskih gena. Metilacija pokazuje i dvosmjernu vezu s modifikacijama histona. Naprimjer, deacetilacija i metilacija H3K9 povećava razinu DNA metilacije. Kombinacijom više epigenetičkih mehanizama ostvaruje se dodatna kontrola nad regulacijom aktivnosti gena.

2.3. Nekodirajuće RNA

Sve je više dokaza koji upućuju na to da je većina epigenetičkih mehanizama dodatno kontrolirana RNA transkriptima koji ne nose uputu za nastanak proteina (*non-coding RNAs*). Nakon otkrića da se većina eukariotskih genoma prepisuje upravo u RNA sljedove koji ne kodiraju za protein, naglašena je važnost njihova istraživanja. Nekodirajuće RNA (ncRNAs) sudjeluju u usmjeravanju metilacije citozina i modifikacija histona (sl.3). Također, igraju važnu ulogu u aktivnosti transpozona i njihovom utišavanju, u inaktivaciji X kromosoma, paramutacijama i drugim epigenetičkim procesima. Postavljena je hipoteza da su ncRNAs glavne sastavnice kompleksnih organizama te da su imale ulogu u evoluciji istih.



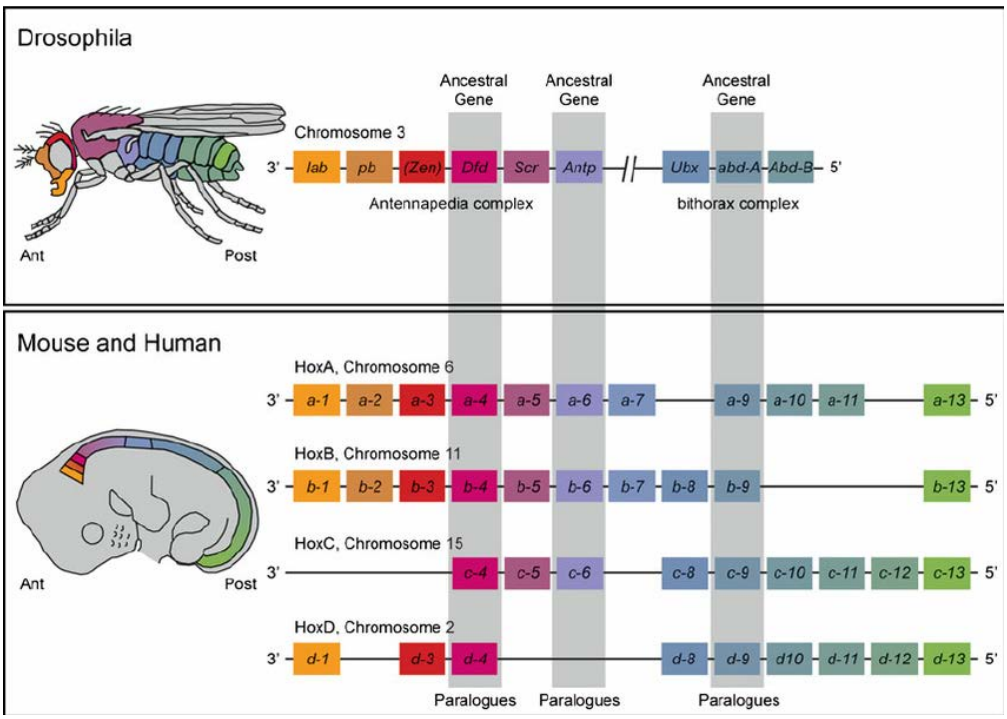
Slika 3. Uloga nekodirajućih RNA u regulaciji drugih epigenetičkih mehanizama.

(preuzeto iz Costa i sur., 2007.)

3. PRIMJERI EPIGENETIČKE REGULACIJE

3.1. Globalna regulacija klastera *Hox* gena

Hox geni spadaju u porodicu *„homebox“* gena koji imaju važnu ulogu u ranim fazama razvoja mnogih organizama bilateralne simetrije. Koordirana ekspresija Hox gena, najčešće grupiranih u veće klastere, nužna je za pravilnu organizaciju tijela životinje duž njene kranio-kaudalne osi. Hox klasteri su odličan primjer povezanosti strukturne i funkcionalne organizacije genoma. Proučavajući genetiku *Drosophila*, uočeno je da redoslijed gena u pojedinom klasteru odgovara redoslijedu njihove ekspresije na anteriorno-posteriornoj osi tijela. Takvo svojstvo genoma prozvano je prostornom kolinearnošću (sl.4.).



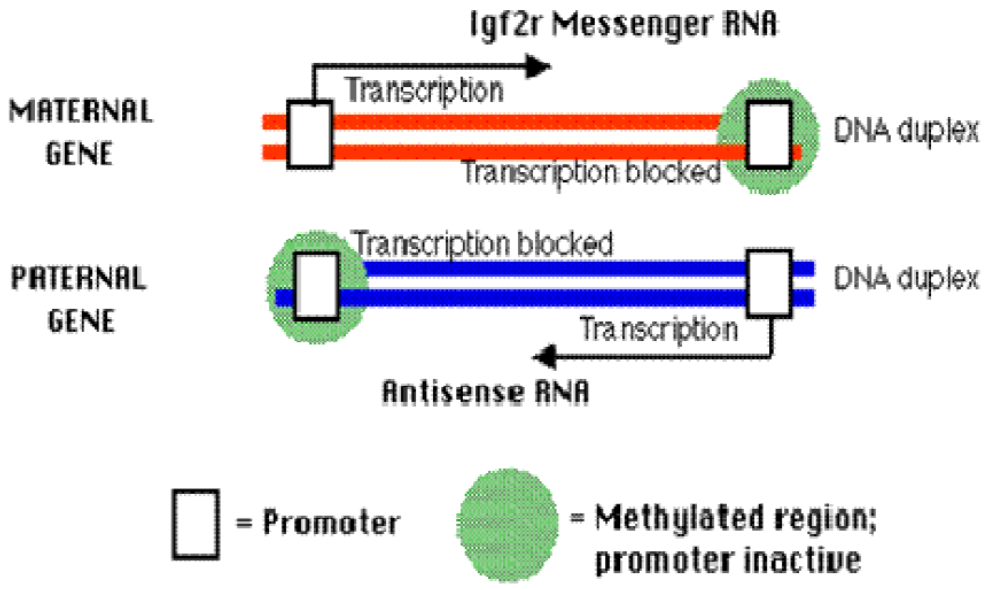
Slika 4. Kolinearna ekspresija Hox gena čovjeka i vinske mušice (*Drosophila*). Ekspresija u 3'-5' smjeru uz anteriorno-posteriornu os tijela organizma prikazana je različitom obojenošću. (preuzeto iz Pang i sur., 2010.)

Tijekom rane embriogeneze *Drosophila*, transkripcijski faktori majke određuju prostorni uzorak Hox gena. Uzorak se kasnije održava upravo epigenetičkom regulacijom putem skupine gena *Polycomb* (*PcG*), odgovornih za utišavanje gena i skupine *Trithorax* (*TrxG*) koji imaju suprotan učinak te održavaju ekspresiju gena tamo gdje je to potrebno. Produkti gena PcG i TrxG skupine su proteini koji posreduju u procesima post-transkripcijskih modifikacija histonskih repova i na taj način utječu na strukturu kromatina. PcG posredovano utišavanje temelji se na kombiniranom djelovanju represivnih kompleksa PCR1 i PCR2. Kompleks PCR2 trimetilira lizin 27 histona 3 što je, kako je već prije spomenuto, epigenetička oznaka u uskoj povezanosti s represijom gena i time se regrutira PCR1 koji pridonosi stvaranju dodatnih represivnih oznaka na histonima. Dio PCR2 kompleksa povlači za sobom i DNA-metiltransferazu odgovornu za metilaciju DNA. Nasuprot tome, TrxG kompleksi su odgovorni za trimetilaciju H3 na lizinu 4 (H3K4me3), oznaka povezana sa transkripcijskom aktivnošću.

U stanicama kultura miša i čovjeka oznake H3K27me3 i H3K4me3 većinom leže na utišanim odnosno aktivnim promotorima, no kod pojedinih lokusa gena Hox klastera u embrionalnim stanicama primjećena je prisutnost i aktivnih i represivnih histonskih modifikacija istovremeno. Grupe gena s tim tzv. „bivalentnim oznakama“ nisu aktivne u samo-obnavljajućim embrionalnim stanicama, no u takvom epigenetičkom stanju su spremne za brzu aktivaciju što ukazuje na ulogu epigenetike u diferencijaciji stanica. Također, specifični dijelovi miRNA (engl. *micro*RNA) koji spadaju u skupinu nekodirajućih RNA visoko su eksprimirani u embrionalnim stanicama, a puno manje tijekom diferencijacije te se pretpostavlja da pomažu održavanju pluripotentnosti matičnih stanica.

3.2. Genomski utisak (engl. *genomic imprinting*)

Prema Mendelovom nasljeđivanju osobina, kopije gena i majke i oca jednakom vjerojatnošću utječu na ishod genotipa potomaka. No za razliku od većine gena, učinak utisnutih gena (engl. *„imprinted genes*“) ovisi isključivo o roditelju od kojega je naslijeđen. Primjerice, jedan takav utisnuti alel naslijeđen od majke u potomku će biti inaktivan, dok će isti alel očeva porijekla biti eksprimiran. Redoslijed nukleotida DNA se ne mijenja, no kad stanice roditelja prolaze kroz gametogenezu, DNA se, specifično za pojedini spol, epigenetički modificira. Konkretno, dobiva različit metilacijski uzorak koji se prenosi na potomstvo. Također je primijećena i deacetilacija histona te utišavanje putem miRNA sekvenci i proteina Polycomb i Trithorax skupine. No takve su oznake prolazne i bivaju preokrenute sljedeće generacije ako stanice prođu kroz gametogenezu organizma suprotnoga spola. Ulogu u nastajanju utisnutih gena ima i organizacija kromosoma u prostoru stanice. Prvi otkriveni utisnuti gen je IGF2 gen stanica miša koji kodira za inzulinu-sličan faktor rasta *(insulin-like growth factor*) (sl.5).



Slika 5. Primjer genomskog utiska IGF2 gena štakora. Očev gen je utisnut. Na majčinom genu nije prisutna metilacija promotora te na njega sjedaju transkripcijski faktori koji započinju ekspresiju gena (preuzeto iz Duttaroy, 2006.).

Zanimljiva je, danas najprihvaćenija, teorija o evoluciji genomskog utiska. Kako mnogi geni utisnuti s očeve strane favoriziraju proliferaciju stanica, povećani rast placente i povećani prijenos nutrijenata s majke na embrio te kako neki geni utisnuti s majčine strane čine upravo suprotno, evolucija genomskog utiska objašnjena je u kontekstu „borbe spolova“. Prema toj teoriji, geni eksprimirani s očeve strane potiču embrionalni i rani post-porođajni razvitak potomka izvlačeći nutrijente i energiju iz majke kako bi maksimizirali svoj reproduktivni uspjeh. Geni eksprimirani s majčine strane nastoje to ograničiti te sačuvati rezervu za sljedeće trudnoće.

Nakon fertilizacije, roditeljski genomi prolaze kroz globalnu demetilaciju, ali majčin genom ostaje metiliran zahvaljujući određenim proteinima (npr. protein *Stella*) zbog čega ostaje malo očinski utisnutih gena. Veća majčina kontrola nad genomskim utiskom ima biološkog smisla, pogotovo kod sisavaca gdje je majka ta koja najviše ulaže vrijeme i energiju za razvoj fetusa. S druge strane, kontrola nad utiskom gena očevih stanica izvršava se u spolnim stanicama majke što nekad vodi do utišavanja majčinih, a eksprimiranja očevih gena kao što je slučaj kod Igf2 lokusa kod ljudi. Postavlja se pitanje kako je prirodna selekcija mogla djelovati upravo na lokuse ženki sa favoriziranjem za njih manje isplativog ishoda. Ovaj slučaj neki znanstvenici objašnjavaju roditeljskom koadaptacijom.

Epigenetičke oznake naslijeđene genomskim utiskom mogle bi biti uzrok različite seksualne orijentacije ljudi (Balter, 2015.), no znanstvenici navode da je u budućnosti potreban veći uzorak kako bi se ova hipoteza potvrdila.

3.3. Inaktivacija X-kromosoma

Genom ženke sisavca sadrži dva X kromosoma (XX), dok mužjaci sadrže samo jedan (XY) čime se tijekom evolucije postavio problem postizanja da udio gena vezanih za X kromosom bude jednak u oba spola. Kod pravih sisavaca (*Eutheria*) genska neravnoteža riješava se nasumičnom inaktivacijom jednog X kromosoma putem epigenetičkih mehanizama. Neposredno prije nasumične inaktivacije dolazi do prolaznih interkromosomalnih interakcija između *X ic* (engl. *X inactivation center*) lokusa na X kromosomima. Pretpostavlja se da u tom procesu leži mehanizam „brojanja" X kromosoma i određivanje koji će biti inaktiviran. Kromosom koji je izabran za inaktivaciju karakterizira nakupljanje nekodirajućih RNA, koje su produkti gena smještenog u inaktivacijskom centru nazvanog X*ist.* Nadalje, heterokromatinizaciju potiču modifikacije histona, Polycomb grupa gena, zamjena H2A sa represivnom histonskom varijantom (macroH2A) te hipermetilacija CpG otoka. Sve navedene razine inaktivacije zasigurno postoje kako bi se kompenzacija doze gena stabilno održala tokom cijelog života organizma.

3.4. Pokretni genetički elementi

Pokretni genetički elementi (engl. transposable elements, TEs) su, kao što im samo ime govori, DNA sljedovi koji posjeduju mogućnost pomicanja na nova mjesta u genomu, proces koji se odvija direktno (*„cut and paste*" mehanizam) te ih nazivamo DNA-transpozoni ili preko RNA posrednika *(„copy and paste"* mehanizam) koje nazivamo retrotranspozonima.

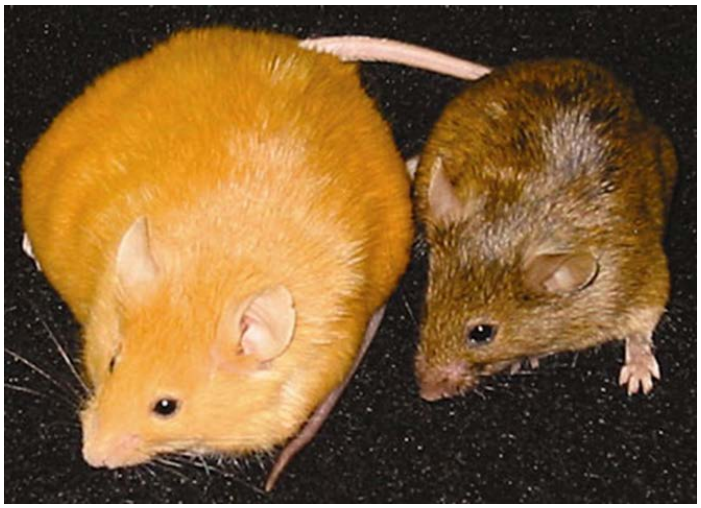
Zbog autonomije replikacije i potencijala ometanja aktivnosti drugih gena često su opisivani antropomorfnim obilježjima kao što su „sebični" i „parazitski". Smatralo se da nemaju neku specifičnu funkciju i smisao osim održavanja vlastitog opstanka. No u protekla dva desetljeća takvo se mišljenje mijenja sa rastućim znanjem o regulatornim ulogama upravo tih dijelova genoma.

Danas znamo da DNA-transpozoni i retrotranspozoni često čine veliki dio genoma eukariota, primjerice dvije trećine ljudskog genoma te ~ 85% genoma kukuruza. Međutim, u genomu nisu u aktivnom stanju već su epigenetički utišani najčešće metilacijom DNA i modifikacijama histona, opisanih u prethodnim poglavljima. Kod biljaka, kod kojih su generalno zastupljeniji, utišavanje se odvija metilacijom DNA putem RNA posrednika (RNA-usmjerena metilacija) što uključuje dvije, za biljke specifične, RNA polimeraze i regulirana je malim interferirajućim siRNA molekulama (engl. *small interfering* RNAs).

Svojom pokretnošću i dupliciranjem sudjeluju u proširenju genoma vrsta i generiranju njihove različitosti, a također doprinose stvaranju, modificiranju, programiranju i reprogramiranju gena. Naime, mnogi transpozoni sadrže zarobljene dijelove gena te mogu biti dio genskih regulatornih sljedova. Klasičan primjer je R lokus genoma kukuruza koji kodira za transkripcijske faktore nužne za sintezu antocijanina. R alel se sastoji od 4 uzastopnih duplikacija i sadrži jedan cijeli kodirajući slijed i nekoliko njih odvojenih *Doppia* transpozonom. Neprekinuti slijed odgovoran je za sintezu pigmenta u biljci dok su transpozonom odvojeni sljedovi nužni za njegovu ekspresiju u sjemenu.

3.5. Epigenetika i okoliš

Epigenetici je često pripisivana uloga posrednika između okoliša i genotipa. Primjerice, kod proučavanja jednojajčanih blizanaca uočeno je povećanje različitosti njihova epigenoma tokom života što se u fenotipu očitovalo različitom podložnošću na određene bolesti (npr. šizofrenija, manična depresija). Utjecaj okoliša na organizam očituje se i kod ovisnosti prehrane majke i epigenetičkog stanja tzv. „agouti“ lokusa kod miša. Majčina ishrana utječe na potomstvo putem metilacije CpG otoka na mjestu lokusa. Varijabilnost uzorka metilacije uzrokuje različite boje krzna kod genetički identičnih miševa (sl.6), kao i različitu predispoziciju za pretilost i rak.



Slika 6. Ovisnost prehrane i boje krzna miševa. Smeđi miš (desno) potomak je žutog (lijevo). Vidljivi razlika u izgledu i predispoziciji za pretilost rezultat je samo drukčije prehrane žutog miša kontrolirane u laboratoriju (preuzeto s http://discovermagazine.com/2006/nov/cover).

4. UTJECAJ EPIGENETIČKIH PROMJENA U EVOLUCIJI

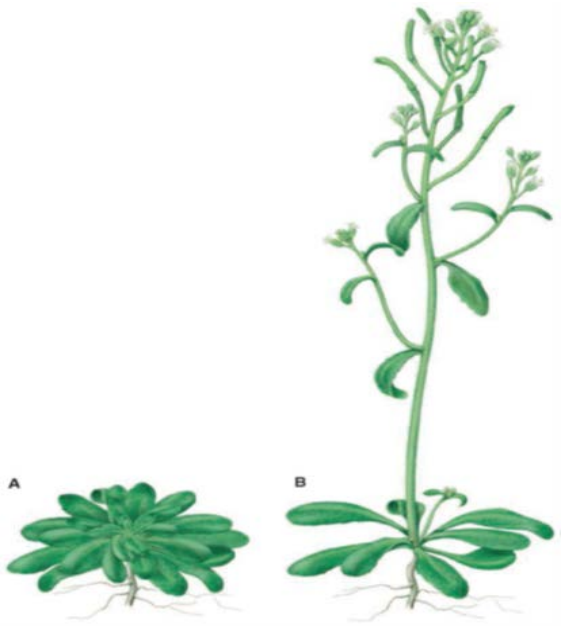
Struktura kromatina i njegovo međudjelovanje sa drugim molekulama genoma od iznimne su važnosti za pravilno funkcioniranje organizma u cjelini. Stoga utjecaj epigenetike na organizme nije slučajan ili povremen već je neizostavna razina organizacije živih bića.

Epigenetička regulacija prisutna je u svim fazama razvoja nekog organizma. Mozak sisavaca je vrlo specifičan u ovom pogledu, s obzirom na to da se njegov razvoj nastavlja i nakon porođaja. Kod neurona je primijećeno da, čak i nakon potpune diferencijacije pokazuju plastičnost na podražaje iz okoline. Epigenetičkim modifikacijama neuralnih stanica, vanjski čimbenici za vrijeme razvoja embrija u maternici poput povećanja koncentracije nekog nutrijenta ili pak prisutnosti određenog toksina kao i ponašanje majke netom nakon rođenja mogu značajno utjecati na razvitak mozga potomka te na njegovo ponašanje u budućnosti. Primjer koji odlično demonstrira navedeno jest majčina briga za potomstvo kod štakora koja uključuje lizanje krzna mladunaca. Smanjeno lizanje krzna potomaka u djetinjstvu utječe na razinu glukokortikoidnog receptora u mozgu koji regulira proizvodnju hormona stresa. Uzrok tome je hipometilacija gena koji kodira za receptor te njegova pojačana ekspresija. Stoga oni potomci koji su primili manje majčine brige u djetinjstvu, kasnije u životu imaju veće razine hormona stresa.

Kod biljaka smatra se da je evolucija epigenetičkih mehanizama omogućila prilagodbu njihova sjedilačkog života na što bolje iskorištavanje okolišnih uvjeta. Jedan takav primjer jest hladnoćom inducirano cvjetanje kod biljaka, takozvana vernalizacija (sl.7). Hladnoća je okidač epigenetičkog utišavanja gena za cvjetanje (engl. *flowering gene*) koji kodira za represor za cvjetanje. Utišavanje se odvija putem nekodirajućih RNA molekula i modifikacija histona, a biljci osigurava da se reproduktivni dio ciklusa i proizvodnja sjemenki odvija u proljeće, a ne tijekom jeseni ili zime kada uvjeti nisu najpovoljniji.

Iz navedenog možemo zaključiti da epigenetika omogućuje organizmima određenu dozu plastičnosti tj. relativno brzu prilagodbu na uvjete okoliša. Također, znamo da se epigenetičke promjene mogu prenijeti na potomke poput prenošenja uzorka metilacije na stanice kćeri nakon replikacije putem DNA-metiltransferaza. Kombinacija plastičnosti i transgeneracijskog

nasljeđivanja epigenetičkih promjena navodi na zaključak da se epigenetička evolucija događa u kraćim vremenskim razmacima te da bi mogla biti odgovorna za razlike u fenotipu između blisko srodnih vrsta. Njome bi se mogle objasniti neke očite razlike među vrstama koje imaju gotovo identičan genom poput čovjeka i čimpanzi. Primjerice, bolji osjet njuha čimpanzi može se povezati s drukčijom ekspresijom gena za receptore mirisa koji su pod epigenetičkom kontrolom. S druge strane, lokus za IGF2 receptor, faktor stimuliranja kolonije makrofaga te β-globinski lokus imaju očuvani epigenetički status i funkciju u više vrsta što ukazuje na njihovu stabilnost tijekom evolucije.



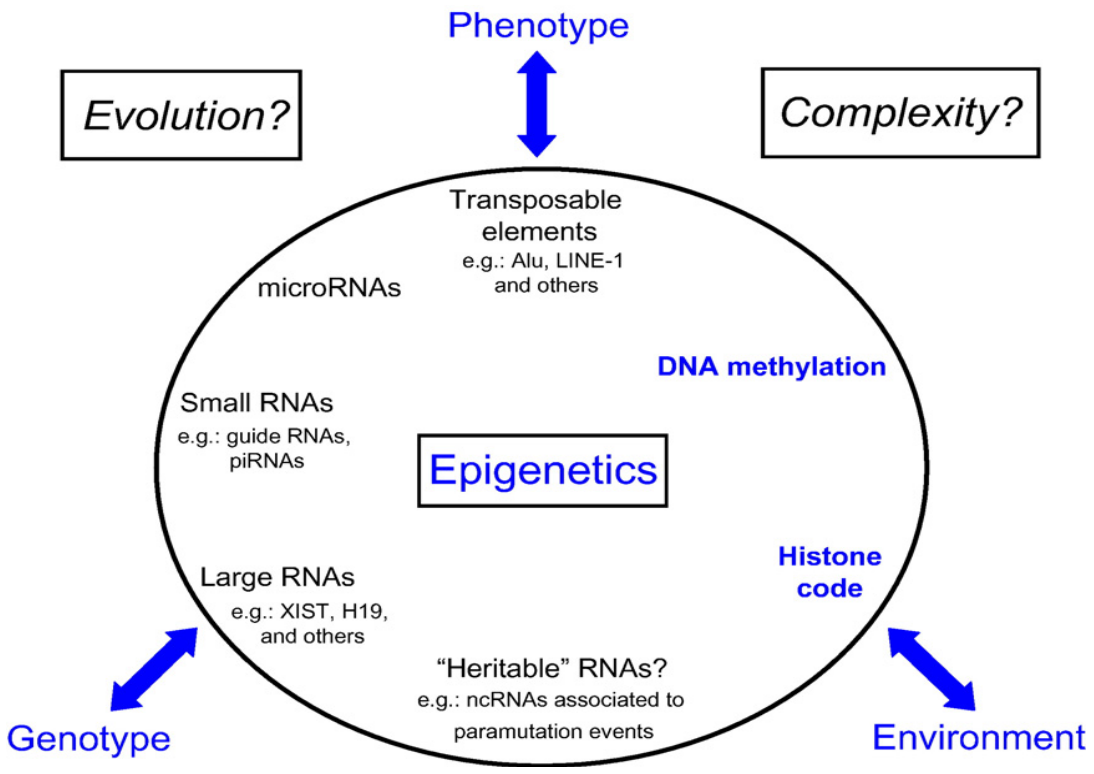
Slika 7. Vernalizacija. *Arabidopsis* biljke razmnožavaju se vegetativno (**A**), osim ako su izložene periodu hladne temperature koji inducira cvjetanje (**B**). Induciranje cvjetanja se odvija epigenetičkim utišavanjem FLC gena, represora cvjetanja. (preuzeto iz Fedoroff, 2012.)

Darwin je 1872. pretpostavio da je evolucija bioloških sustava objašnjiva nakupljanjem uzastopnih manjih modifikacija. Njegovo je viđenje dobilo snažnu podršku saznanjem da makromolekularne komponente stanica istovremeno obavljaju višestruke funkcije u stanici te da nove, različite funkcije mogu nastati duplikacijom gena. No, neki evolucijski događaji obuhvaćali su razvitak više koadaptacija koje imaju smisla jedino ako su se pojavile

istovremeno. Kod bakterija, koje imaju visoku stopu razmnožavanja te stvaraju velike populacije, pojava dvije ili više korisnih mutacija istovremeno statistički je moguća dok su kod viših eukariota čije su populacije znatno manje veličine, šanse za pojavu takvog događaja izrazito male. Međutim, moguća je istovremena promjena transkripcijske aktivnosti više gena u istom organizmu.

Genetički, ali i epigenetički procesi mogli su utjecati na takvu koordiranu promjenu razine transkripcije više gena regulirajući ostale dijelove DNA, s posebnim naglaskom na repetitivne pokretne elemente poput *Alu* i LINEs transpozona (engl. Long Interspersed Nuclear Elements). Alu i LINEs elementi su retotranspozoni specifični za primate za koje se smatra da su tijekom evolucije imali značajnu ulogu u stvaranju kompleksnosti njihovih genoma (sl.8), a uz to podliježu utjecajima epigenetike. Sveukupni broj pokretnih genetičkih elemenata je sličan kod ljudi, čimpanza i rhesus majmuna, no ono što je različito jest da se dio njih nalazi na različitim mjestima u genomu što pridonosi njihovoj divergenciji.

Epigenetika je postala kontroveznom temom među teoretičarima evolucije zbog njena povezivanja s lamarkizmom. Naime, Jean Baptiste Lamarck je 1801. iznio teoriju nasljeđivanja stečenih karakteristika prema kojoj se organizam za života prilagođava na okolišne uvjete te svoje adaptacije prenosi dalje na potomstvo. Darwin je u svojem najpoznatijem djelu „O porijeklu vrsta putem prirodnog odabira“ iznio svoje viđenje evolucije prema kojem se promjene ne događaju za vrijeme života organizma već mu prethode te organizmi s najbolje prilagođenim osobinama preživljavaju i prenose ih dalje na potomstvo. Nakon Mendelovih otkrića i začetka genetike, Darwinovo mišljenje je prevladalo te je do danas najuvrježenije. Lamarkizam je većinom kritiziran, dijelom zbog ekstremnih primjera koje je Lamarck navodio kao dokaz svoje teorije. Epigenetika se uistinu podudara sa lamarkističkim principima te u nekim slučajevima ne slijedi zakone Mendelova nasljeđivanja. No to ne znači da osporava Darwinovu teoriju evolucije za koju danas postoje brojni dokazi već ukazuje na to kako je borba između genetičkog i stečenog nasljeđivanja, darvinizma i lamarkizma nepotrebna. Sintezom epigenetičkih i genetičkih istraživanja i unaprjeđenjem njihovih metoda moglo bi se doći do odgovora na još nerazriješena pitanja u području biologije, kako onih što se tiču razvoja organizama, tako i onih što istražuju njihovu evolucijsku povezanost.



Slika 8. Epigenetika kao centralni molekularni mehanizam u stvaranju kompleksnosti organizama. Međudjelovanje genotipa, okoliša i epigenetičkih mehanizama stvara različite fenotipe koji podliježu procesu prirodnog odabira. (Costa i sur., 2007.)

5. LITERATURA

Balter M., 2015. Can epigenetics explain homosexuality puzzle? *Science* **350**, 6257

Barber B. A., Rastegar M., 2010. Epigenetic control of Hox genes during neurogenesis, development, and disease. *Annals of Anatomy* **192**, 261-274

Bird A., 2007. Perceptions of epigenetics. *Nature* **447**

Costa F. F., 2008. Non-coding RNAs, epigenetics and complexity. *ScienceDirect* **410**, 9-17

Duttoroy K. A.,2006. Evolution, Epigenetics, and Maternal Nutrition.

Fedoroff V. N., 2012. Transposable Elements, Epigenetics, and Genome Evolution. *Science* **338**

Feng S., Jacobsen E. S., 2011. Epigenetic modifications in plants: an evolutionary perspective. **14**, 179–186

Gokhman G., Meshorer E., Carmel L., Epigenetics: It's Getting Old. Past Meets Future in Paleoepigenetics. *Trends in Ecology & Evolution*

Jablonka E., Lachmann M., Lamb J.M., 1992. Evidence, Mechanisms and Models for the Inheritance of Acquired Characters. *J. theor. Biol.* **158**, 245-268

Keverne B.E., Curley P.J., 2008. Epigenetics, brain evolution and behaviour. *Frontiers in Neuroendocrinology*

Kiefer C.J., 2007. Epigenetics in Development. *Developmental dynamics* **236**, 1144–1156

Lowdon F.R., Jang S.H., Wang T., Evolution of Epigenetic Regulation inVertebrate Genomes. *Trends in Genetics*

Montavon T., Duboule D., 2013. Chromatin organization and global regulation of Hox gene clusters. *Phil. Trans. R. Soc. B* **368**

Pang D., Thompson N.P.D., 2011. Embryology and bony malformations of the craniovertebral junction. *Childs Nerv Syst* **27**, 523–564

Romanoski E.C., Glass K.C., 2015. Roadmap for regulation. *Nature* **518**

Zhao H., Chen T., 2013. Tet family of 5-methylcytosine dioxygenases in mammalian development. *Journal of Human Genetics* **58**, 421–427

Zuckerkandl E., Cavalli G., 2007. Combinatorial epigenetics, “junk DNA”, and the evolution of complex organisms. *Gene* **390**, 232-242

https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC3546707_ijms-13-16554f1&req=4

http://discovermagazine.com/2006/nov/cover

6. SAŽETAK

Epigenetika je znanost o promjenama fenotipa koje nisu posljedica varijabilnosti genetičkog koda već različite ekspresije gena. Dok ljudski genom sadrži 25,000 gena, ljudski epigenom sadrži zasad još nepoznati broj epigenetičkih oznaka i mehanizama od kojih su najbolje proučene DNA metilacija te kovalentne modifikacije histona. Nedvojben je njihov utjecaj na diferencijaciju stanica i razvoj organizama tijekom embriogeneze, ali i za života. Epigenetičke promjene su često rezultat promjena okolišnih čimbenika te u nekim slučajevima predstavljaju mehanizam prilagodbe organizama na uvjete okoliša.

Cilj ovog rada je istaknuti mehanizme i principe djelovanja epigenetike te njenu ulogu u evoluciji. Epigenetici se mogu pripisati specifične razlike organizama gotovo identičnog genoma. Također se pretpostavlja da bi, zbog svoje regulatorne uloge, mogla biti odgovorna za istovremenu pojavu dviju ili više adaptivnih osobina u organizmu tijekom evolucije čime bi se objasnio nastanak nekih kompleksnih bioloških sustava.

7. SUMMARY

Epigenetics is the study of changes in phenotype of organisms which are not the result of variability of genetic code, rather the change in gene transription. While human genome contains 25,000 genes, human epigenome contains for now still unkownable number of epigenetic marks and mechanisms, from which the best studied are DNA methylation and covalent modifications of histone proteins. Their effect on cell differentiation and organism development during embriogenesis is indisputable. Epigenetic changes are often result of changes in the environment and in some cases they represent a mechanism of adaptation to enviromental fluctuations.

This paper's main goal is to describe mechanisms and priciples of epigenetics and emphasize its role in evolution. Epigenetics can explain some differences among organisms that have almost identical genome. Moreover, because of its regulatory role, some scientists theorize that it could be responsible for simultaneous appearance of two or more adaptive characteristics in the same organism during the evolution which could explain the rise of specific complex biological systems.