

ANDRZEJ T. WIERZBICKI

Zakład Biologii Molekularnej Roślin
Uniwersytet Warszawski
Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa
e-mail: andw@ibb.waw.pl

DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE

SEKWENCJA DNA NIE JEST JEDYNYM NOŚNIKIEM INFORMACJI DZIEDZICZNEJ

Dokonane w ciągu kilku ostatnich dziesięcioleci poznanie mechanizmów zjawiska dziedziczności było jednym z największych przełomów w historii nauki. Zrozumienie funkcji kwasów nukleinowych oraz procesów ich powielania i wyrażania zawartej w nich informacji pozwoliło nie tylko przewidywać zachowanie organizmów żywych, ale również modyfikować ich działanie. Przekazywanie określonej sekwencji DNA to jednak nie jedyny możliwy mechanizm dziedziczności. Wśród alternatywnych nośników dziedziczonej informacji, takich jak pamięć i przekazywanie wyuczonych umiejętności przez rodziców potomstwu, wyróżnia się niezwykle ciekawy mechanizm umożliwiający dziedziczenie, nie pole-

gający na przekazywaniu zmian w sekwencji DNA, a jednak odgrywający kluczową rolę w regulacji ekspresji genów i wielu innych ważnych procesów. Mechanizm ten określany jest jako dziedziczenie epigenetyczne.

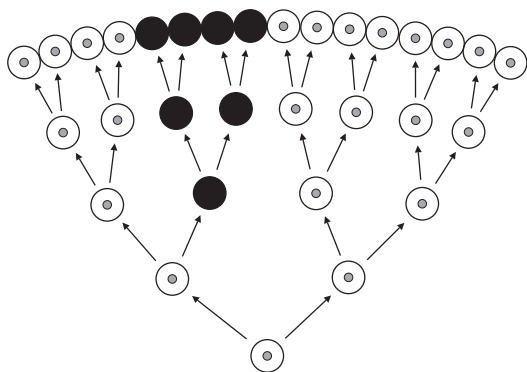
Zjawisko dziedziczenia niezwiązanego ze zmianami w sekwencji DNA zostało zrozumiane bardzo niedawno i nadal jest obiektem intensywnych badań, a szereg jego aspektów pozostaje niewyjaśnionych lub poznanych jedynie fragmentarycznie. Odkrycie przedstawionych w tym artykule mechanizmów doprowadziło do zmiany rozumienia pojęcia dziedziczenia epigenetycznego i objęcia nim wszelkich przejawów dziedziczenia bez zmian w sekwencji DNA.

JAK PRZEJAWIA SIĘ PAMIĘĆ EPIGENETYCZNA

MOZAIKOWE ZABARWIENIE OCZU DROSOPHILA MA PODŁOŻE EPIGENETYCZNE

Po raz pierwszy zjawisko o podłożu epigenetycznym odkrył H. J. Müller w 1930 r. Objawia się ono tym, że u pewnych linii *Drosophila*, oczy zamiast mieć jednolity kolor, są zabarwione w sposób mozaikowy. Okazało się, że u tych much gen odpowiedzialny za produkcję pigmentu co pewien czas ulega spontanicznej inaktywacji, ale bez jakichkolwiek zmian w sekwencji DNA. Co najciekawsze jednak, jeżeli już do inaktywacji dojdzie, gen pigmentu po-

zostaje nieczynny nie tylko w komórce, w której zaszło wyciszenie, ale również we wszystkich jej komórkach potomnych (Ryc. 1). Skutek tego jest taki, że jeśli do wyłączenia genu pigmentu dojdzie podczas rozwoju oka, cały obszar oka powstały z komórki, w której doszło do inaktywacji, ma zmienioną barwę (WAKIMOTO 1998, SCHOTTA i współaut. 2003). Na tym właśnie polega dziedziczenie epigenetyczne – zmiana koloru jest dziedziczona mimo braku zmian w sekwencji DNA.



Ryc. 1. Sposób powstawania mozaikowego zabarwienia oczu u *Drosophila*.

Gen odpowiedzialny za tworzenie barwnika jest normalnie aktywny (białe komórki). Jeżeli dojdzie do wyciszenia jego ekspresji, pozostaje on nieaktywny również w komórkach potomnych (czarne komórki). Cały obszar oka powstały z tej komórki ma zmieniony kolor.

ZABURZENIA SEGMENTACJI U *DROSOPHILA* MAJĄ PODŁOŻE EPIGENETYCZNE

U *Drosophila* odkryto także drugie, równie ciekawe zjawisko o podłożu epigenetycznym. Polega ono na tym, że w początkowym okresie rozwoju zarodka we właściwych obszarach aktywowana jest ekspresja odpowiednich genów. Geny te – zwane homeotycznymi – odpowiadają z kolei za powstanie w danym miejscu odpowiednich struktur. Czynniki inicjujące ekspresję tych genów działają tylko przez krótki okres na wczesnym etapie rozwoju. Później stan aktywności genów homeotycznych jest podtrzymywany pomimo zachodzenia licznych podziałów komórkowych (SIMON 1995, BROCK i VAN LOHUIZEN 2001,

ORLANDO 2003). W tym tkwi epigenetyczna natura tego zjawiska. Poziom ekspresji genów homeotycznych jest dziedziczony w kolejnych podziałach komórkowych bez żadnej ingerencji w sekwencję DNA.

ZJAWISKO WERNALIZACJI MA PODŁOŻE EPIGENETYCZNE

Trzeci ważny proces o podłożu epigenetycznym zidentyfikowano w roślinach. Wiele z nich, aby zakwitnąć, wymaga przejścia przez okres długotrwałego przechłodzenia. Służy to zabezpieczeniu przed zakwitnięciem jesienią, kiedy na wydanie nasion właściwie nie ma już szans. Między okresem przechłodzenia a inicjacją kwitnienia upływa zwykle wiele tygodni i zajść może bardzo wiele podziałów komórkowych. Mimo to jednak, fakt przejścia przez okres zimna jest przez cały ten czas przez roślinę pamiętany. Okazało się, że poddanie rośliny działaniu chłodu powoduje wyciszenie ekspresji jednego z genów hamujących kwitnienie, jednak bez ingerencji w sekwencję DNA. Po podniesieniu temperatury wyciszenie to jest utrzymywane, co powoduje że jeżeli warunki są sprzyjające, roślina może zakwitnąć (SUNG i AMASINO 2004). Tu również epigenetyczna natura zjawiska polega na utrzymywaniu poziomu ekspresji genu pomimo zachodzenia licznych podziałów komórkowych i bez zmian w sekwencji DNA.

A zatem zjawiska mozaikowego zabarwienia oczu i zaburzeń segmentacji *Drosophila* oraz wernalizacji u roślin są przejawami epigenetycznego utrzymywania poziomu ekspresji genów pomimo zachodzących podziałów komórkowych.

CO JEST NOŚNIKIEM PAMIĘCI EPIGENETYCZNEJ

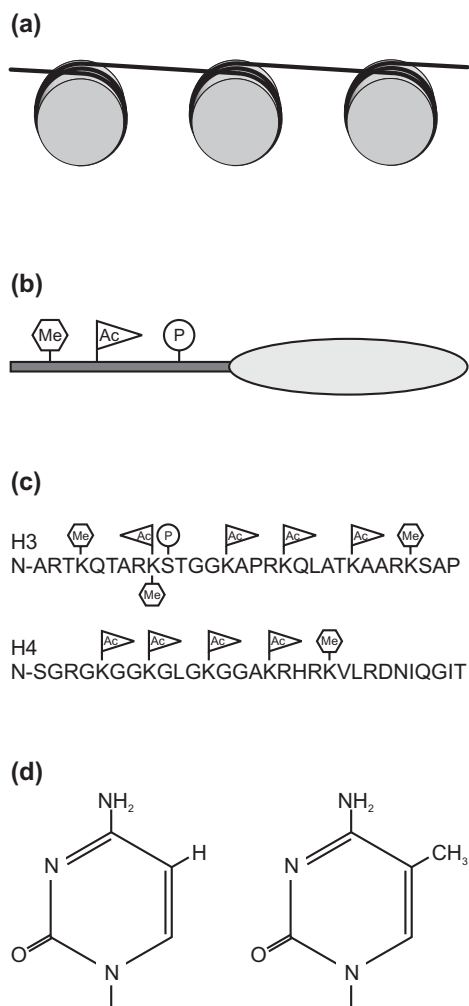
NOŚNIKIEM PAMIĘCI EPIGENETYCZNEJ JEST STRUKTURA CHROMATYNY

Opisanie zjawisk o podłożu epigenetycznym pozwoliło na znalezienie odpowiedzialnych za nie mechanizmów biochemicznych. Kluczem do ich zrozumienia okazała się umiejętność szukania genów niezbędnych do utrzymywania pamięci epigenetycznej. Jeżeli mutacja w danym genie powoduje defekt dziedziczenia epigenetycznego, oznacza to, że kodowane przez ten gen białko uczestniczy w biochemicznym procesie pamięci epigenetycznej. Udało się uzyskać szereg mutantów, w których

pamięć ta nie funkcjonuje prawidłowo. Najciekawsze to mutacje w genach *Su(var)* i *E(var)* (ang. suppressor of variegation i enhancer of variegation) modyfikujące mozaikowe zabarwienie oczu (SCHOTTA i współaut. 2003) a także mutacje w genach *PcG* i *TrxG* (ang. polycomb group i trithorax group) powodujące specyficzne zaburzenia rozwojowe u *Drosophila* (BROCK i VAN LOHUIZEN 2001). Jaka w takim razie jest funkcja genów niezbędnych dla prawidłowego dziedziczenia epigenetycznego? Jaki jest biochemiczny mechanizm tej pamięci?

Nośnikiem pamięci epigenetycznej okazała się być struktura chromatyny, czyli DNA i oddziałujących z nim białek (JAENISCH i BIRD 2003). W chromatynie DNA jest nawinięty na rdzenie zbudowane z białek histonowych i tworzy tak zwane nukleosomy (Ryc 2a). Nukleosomy, z kolei, stanowią przeszkodę dla białek odpowiedzialnych za procesy, w których uczestniczy DNA, w szczególności za ekspresję genów. Aby mogły zajść reakcje wy-

magające dostępu do DNA, niezbędne jest wcześniejsze usunięcie nukleosomów z odpowiedniego obszaru DNA (KORNBERG i LORCH 1999, KHORASANIZADEH 2004). Okazuje się, że zmiany struktury chromatyny często utrzymują się z zadziwiającą stabilnością nawet wtedy, gdy mają miejsce podziały komórkowe. To właśnie stanowi mechanizm dziedziczenia epigenetycznego. Na czym jednak polegają dziedziczne modyfikacje chromatyny?



Ryc. 2. Struktura nukleosomowa chromatyny i jej modyfikacje odpowiedzialne za pamięć epigenetyczną.

(a) Struktura nukleosomowa polega na nawinięciu DNA na rdzenie zbudowane z białek histonowych. (b) Domeny N-końcowe (ogony) histonów nie biorą udziału w tworzeniu rdzenia, tylko wystają na zewnątrz i ulegają modyfikacjom posttranslacyjnym. Me – metylacja, Ac – acetylowanie i P – fosforylowanie (wg STRAHLA i ALLISA 2000). (c) Modyfikacje, którym mogą ulegać poszczególne aminokwasy w ogonach histonów H3 i H4. Me – metylacja, Ac – acetylowanie i P – fosforylowanie (wg STRAHLA i ALLISA 2000). (d) cytozyna (po lewej) i 5'-metylocytozyna (po prawej).

STRUKTURĘ CHROMATYNY KONTROLUJĄ MODYFIKACJE HISTONÓW RDZENIOWYCH

Pierwsza grupa dziedzicznych modyfikacji chromatyny to modyfikacje białek histonowych polegające na dołączeniu do nich określonych grup chemicznych. Histony tworzą rdzenie nukleosomów. Jednak każde z białek histonowych ma tak zwany ogon – domenę wystającą poza nukleosom i nie zaangażowaną bezpośrednio w jego strukturę (Ryc. 2b). Właśnie te ogony najczęściej ulegają modyfikacjom, czyli fosforylowaniu, ubikwitynowaniu, acetylowaniu lub metylacji (Ryc. 2c).

Modyfikacje histonów mogą mieć znaczenie strukturalne. Przyłączona grupa chemiczna modyfikuje wtedy oddziaływania histonów z DNA. Jednak ważniejsza wydaje się ich funkcja informacyjna. Modyfikowane histony rozpoznawane są przez odpowiednie białka, które mogą dokonywać dalszych modyfikacji chromatyny. Tak jest z metylacją lizyny 9 histonu H3 przez metylotransferazy histonowe grupy Su(var)3-9. Modyfikowany w ten sposób histon H3 jest rozpoznawany przez białka posiadające chromodomenę, takie jak HP1 (ang. heterochromatin protein 1). Białka z chromodomeną, z kolei, powodują zamknięcie struktury chromatyny w danym obszarze. Podobnie białka zawierające bromodomenę rozpoznają acetylowane ogony histonów. W ten sposób mogą być nakierowywane w odpowiednie miejsce enzymy przesuwające nukleosomy należące do grupy SWI/SNF (ZHANG i REINBERG 2001, SCHREIBER i BERNSTEIN 2002).

Podczas gdy acetylowanie i fosforylowanie są modyfikacjami mało stabilnymi i dla efektu dziedzicznego pełnią funkcję raczej pomocniczą, to metylacja histonów jest utrzymywana z dużą stabilnością nawet w czasie podziałów komórkowych. Dziedziczenie metylacji histonów możliwe jest dzięki temu, że podczas replikacji rdzenie nukleosomów z macierzystej cząsteczki DNA przekazywane są równomiernie do

obu cząsteczek potomnych. Brakujące nukleosomy są uzupełniane z syntetyzowanych de novo histonów, które ulegają metylacji przez metylotransferazy wykrywające istnienie obok histonów metylowanych.

Odkrycie znaczenia modyfikacji histonów doprowadziło do postawienia hipotezy kodu histonowego. Proponuje ona, że układ różnych modyfikacji histonów niesie w sobie dużą porcję informacji sterujących różnymi aspektami aktywności danego obszaru genomu (STRAHL i ALLIS 2000, JENUWEIN i ALLIS 2001). Obecnie wydaje się, że funkcja tych modyfikacji nie idzie aż tak daleko (SCHREIBER i BERNSTEIN 2002).

STRUKTURĘ CHROMATYNY KONTROLUJE METYLACJA DNA

Inny proces biochemiczny odpowiedzialny za dziedziczenie epigenetyczne, to metylacja DNA (Ryc. 2d). Przyłączenie grupy metylowej do cytozyny w DNA nie zmienia znacząco jej właściwości biochemicznych, dlatego metylowany DNA funkcjonuje w zasadzie normalnie. Jednak metylacja jest rozpoznawana przez białka klasy MBD, które mogą modyfikować strukturę chromatyny wokół metylowanego DNA. Metylacja DNA, podobnie jak metylacja histonów, jest trwała i ulega skutecznemu dziedziczeniu podczas replikacji. Nowopowstałe cząsteczki DNA zmetylowane tylko w jednej nici są rozpoznawane przez metylotransferazy podtrzymujące Dnmt1 i metylacja w drugiej nici jest uzupełniana (JAENISCH i BIRD 2003).

MECHANIZMY CHROMATYNOWE DZIAŁAJĄ W UKŁADZIE SPRĘŻENIA ZWROTNEGO

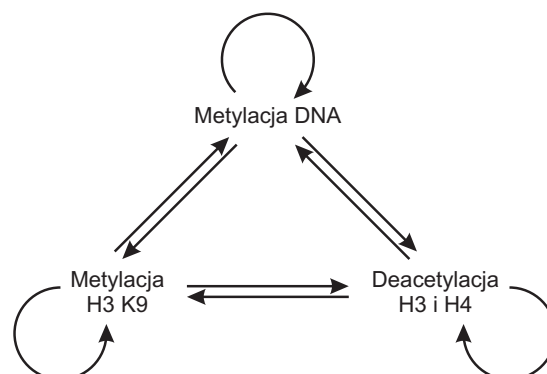
Skoro istnieje szereg modyfikacji chromatyny odpowiedzialnych za pamięć epigenetyczną, powstaje pytanie, jakie łączą je zależności.

PROCESY EPIGENETYCZNE REGULUJĄ RÓWNIEŻ FUNKCJONOWANIE CHROMOSOMÓW

FUNKCJONOWANIE CHROMOSOMÓW PŁCIOWYCH JEST KONTROLOWANE EPIGENETYCZNIE

Wraz z postępem badań nad dziedziczeniem epigenetycznym okazało się, że jego znaczenie wykracza daleko poza klasyczne, opisane wyżej zjawiska. Mechanizmy epigenetyczne są w szczególności istotnie zaangażowane w kontrolę funkcjonowania chromosomów.

Liczne dane wskazują, że różnorodne mechanizmy biochemiczne odpowiedzialne za pamięć epigenetyczną są ze sobą ściśle połączone i na danym fragmencie chromosomu działają w układzie sprzężeń zwrotnych dodatnich (Ryc. 3). Tak więc metylacja lizyny 9 histonu H3 powoduje deacetylację histonów i metylację DNA, deacetylacja histonów powoduje metylację DNA i metylację lizyny 9 histonu H3, a me-



Ryc. 3. Układ sprzężeń zwrotnych dodatnich łączących trzy główne mechanizmy wyciszania epigenetycznego (wg RICHARDSA i ELGINA 2002).

tylacja DNA pociąga za sobą deacetylację histonów i metylację lizyny 9 histonu H3 (RICHARDS i ELGIN 2002). Taka zależność ma daleko idące konsekwencje. Po pierwsze, wynika z niej, że jeżeli epigenetyczne wyciszenie danego obszaru chromatyny zostanie raz ustanowione, będzie ono dalej utrzymywane z wielką skutecznością. Po drugie, pozwala rozumieć, dlaczego nie wszystkie organizmy korzystają z kompletnego zestawu mechanizmów epigenetycznych (np. *Caenorhabditis elegans* nie ma metylacji DNA). Pozostałe mechanizmy są wtedy w stanie przejąć funkcję brakującego.

A zatem za dziedziczenie epigenetyczne odpowiedzialna jest struktura chromatyny regulowana przez modyfikacje histonów i metylację DNA.

Do tej kategorii procesów należy wyrównywanie poziomu ekspresji genów z chromosomów płciowych. Ponieważ u wielu gatunków samice posiadają dwa chromosomy X, a samce jeden chromosom X i jeden Y, konieczne jest utrzymanie podobnego poziomu ekspresji genów kodowanych przez chromosom X u samic i samców. Osiągane jest to albo przez inaktywację jednego z chromosomów X

u samic, albo przez zwiększenie aktywności jedynego chromosomu X u samców. Zarówno zmniejszenie, jak i zwiększenie aktywności chromosomu X osiągnęte jest za pośrednictwem mechanizmu epigenetycznego. U ssaków, gdzie u samic zachodzi inaktywacja jednego z chromosomów X, podlega on silnej hipermetylacji lizyny 9 histonu H3, deacetylacji histonów oraz metylacji DNA. Natomiast u *Drosophila*, gdzie chromosom X jest u samców aktywowany, histony są acetylowane, a lizyna 9 histonu H3 zdemetylowana. Tak więc, wyrównanie poziomu ekspresji z chromosomów płciowych ma podłoże epigenetyczne (AVNER i HEARD 2001, ANDERSEN i PANNING 2003).

USTANAWIANIE CENTROMERU JEST KONTROLOWANE EPIGENETYCZNIE

Innym przykładem znaczenia pamięci epigenetycznej dla funkcjonowania chromosomów jest ustanawianie lokalizacji centromeru. Centromer to miejsce na chromosomie, do którego przyłącza się aparat rozdzielający siostrzane chromatydy podczas podziału komórkowego. Ponieważ centromer znajduje się zwykle w stałym punkcie chromosomu, wydawałoby się, że miejsce to powinno być wyznaczone przez sekwencję DNA. Okazało się jednak, że u większości organizmów tak nie jest. Gdy usunie się fragment chromosomu, w którym zwykle jest centromer, tworzy się on w innym miejscu. Wykazano, że lokalizacja centromeru wyznaczana jest i utrzymywana nie przez sekwencję DNA, ale epigenetycznie. W obszarze centromerowym typowy histon H3 w nukleosomach wymieniany jest na specyficzny wariant tego

białka, silnie metylowany na lizynie 9, czemu towarzyszy deacetylacja histonów. Właśnie te modyfikacje chromatyny decydują o dziedziczeniu lokalizacji centromeru, co oznacza, że centromery są determinowane epigenetycznie (CLEVELAND i współaut. 2003).

SEKWENCJE REPETYTYWNE SĄ KONTROLOWANE EPIGENETYCZNIE

Mechanizm epigenetyczny reguluje jeszcze jeden ważny aspekt funkcjonowania chromosomów: aktywność sekwencji repetytywnych, a zwłaszcza transpozonów i retrotranspozonów. Sekwencje te są zdolne do przemieszczania lub powielania się i stanowią znaczną część genomu u większości organizmów eukariotycznych. Aby nie doszło do takiego przemieszczenia lub zwielokrotnienia liczby tych sekwencji, które zagroziłoby dalszemu funkcjonowaniu organizmu, muszą być one stale kontrolowane. Dzieje się to w ten sposób, że sekwencje repetytywne są wykrywane i podlegają silnej metylacji DNA, metylacji lizyny 9 histonu H3 oraz deacetylacji histonów. Uniemożliwia to ekspresję genów znajdujących się w sekwencjach repetytywnych, a także ich przemieszczanie i powielanie w genomie. Tak więc, kontrolę nad sekwencjami mobilnymi i repetytywnymi sprawuje system epigenetyczny (OKAMOTO i HIROCHIKA 2001).

Fakty te świadczą o tym, że mechanizmy epigenetyczne współuczestniczą w wielu zjawiskach biologicznych, od regulacji ekspresji genów w rozwoju do kontroli sekwencji repetytywnych.

CO INICJUJE DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE

INICJACJA JEST RÓWNIE WAŻNA JAK PODTRZYMYWANIE

Mechanizmy odpowiedzialne za utrzymywanie stanu epigenetycznego chromatyny są dobrze poznane. W jaki sposób jednak dochodzi do zapoczątkowania pamiętanego później stanu epigenetycznego? W momencie tym musi być podjęta istotna decyzja, czy aktywność jest zmieniana przejściowo i dziedzicznie epigenetyczne nie powinno być inicjowa-

ne, czy też zmiana powinna zostać w sposób epigenetyczny utrwalona.

Mechanizm odpowiedzialny za podejmowanie tej decyzji nie jest dobrze poznany. Nie wiadomo zatem, dlaczego stan ekspresji genów homeotycznych w rozwoju jest epigenetycznie utrwalany, podczas gdy ekspresja genów indukowanych przez warunki środowiska może się szybko zmieniać. Wiadomo natomiast, że za epigenetyczną inicjację regulacji funkcjonowania chromosomów odpowiada RNA.

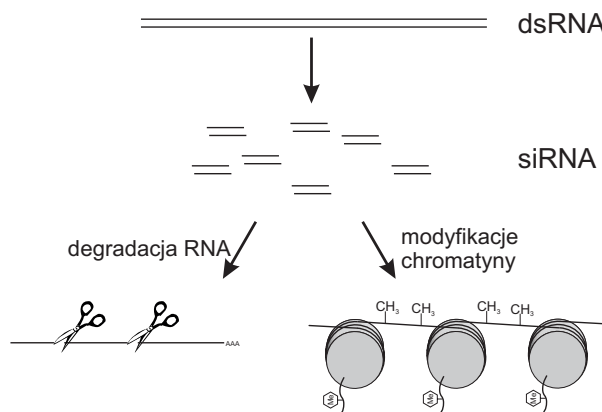
ZJAWISKO INTERFERENCJI RNA INICJUJE EPIGENETYCZNĄ REGULACJĘ FUNKCJONOWANIA CHROMOSOMÓW

W wielu wypadkach o zainicjowaniu stanu epigenetycznego decydują cząsteczki RNA powstałe w procesie zwanym interferencją RNA (ang. RNA interference, RNAi). Proces ten ma na celu wykrycie i inaktywację kwasów nukleinowych, których aktywność może w jakiś sposób zagrozić komórce. Inaktywacja może polegać na zniszczeniu odpowiedniego RNA bądź na epigenetycznej inaktywacji kodującego go DNA. Czynnikiem inicjującym RNAi jest RNA o szczególnej strukturze często występującej w transkryptach powstałych z wirusów, transpozonów lub sekwencji repetytywnych – strukturze dwuniciowej. Dwuniciowy RNA jest rozpoznawany przez specjalny aparat enzymatyczny i cięty na krótkie, 21-25 nukleotydowe fragmenty (ang. small interfering RNA, siRNA). One z kolei nadają specyficzność sekwencyjną czynnikom trawiącym RNA lub modyfikującym histony rdzeniowe. A zatem, jeżeli w komórce pojawi się dwuniciowy RNA, to on sam zostanie zniszczony i inne cząsteczki RNA o identycznej sekwencji również zostaną zniszczone, a obszary w genomie o komplementarnej sekwencji zostaną epigenetycznie wyciszone (Ryc. 4). Ponieważ zarówno z sekwencji centromerowych, jak i większości sekwencji mobilnych powstaje RNA o strukturze dwuniciowej, inicjacja ich epigenetycznego wyciszenia jest powodowana przez krótkie cząsteczki RNA (OKAMOTO i HIROCHIKA 2001, HANNON 2002, CLEVELAND i współaut. 2003).

SPECJALNE RNA INICJUJĄ KOMPENSACJĘ DAWKI CHROMOSOMÓW PŁCIOWYCH

Inny rodzaj cząsteczek RNA odpowiada za inicjację wyrównywania poziomu ekspresji z chromosomów X. U samic ssaków, u których zachodzi inaktywacja jednego z dwóch chromosomów X, inaktywowany chromosom jest pokrywany przez specjalnie w tym celu produkowane cząsteczki RNA zwane Xist (ang. X

inactive specific transcript). One z kolei inicjują metylację DNA, metylację lizyny 9 histonu H3 i deacetylację histonów, zaczynając w ten sposób wyciszenie epigenetyczne. U *Drosophila* z kolei, gdzie dochodzi do podwyższenia aktywności jedyne go chromosomu X u samic, czynnikiem inicjującym jest RNA roX (ang. RNA on the X chromosome), który powoduje metylację lizyny 4 histonu H3 i acetylację histonów i w ten sposób inicjuje aktywację epigenetyczną. A zatem, za inicjację wyrównywania poziomu ekspresji z chromosomów X również odpowiadają specjalne cząsteczki



Ryc. 4. Mechanizm zjawiska interferencji RNA (RNAi).

Dwuniciowy RNA jest rozpoznawany i cięty na krótkie kawałki, które następnie nadają specyficzność sekwencyjną czynnikom degradującym RNA (po lewej) lub modyfikującym chromatynę (po prawej). dsRNA – dwuniciowy RNA, siRNA – krótkie RNA, CH₃ – metylacja DNA, Me – metylacja lizyny 9 histonu H3.

RNA (AVNER i HEARD 2001, ANDERSEN i PANING 2003).

Można więc stwierdzić, że jedynym jak dotąd poznanym czynnikiem inicjującym dziedziczenie epigenetyczne i odróżniającym sekwencje, które mają zostać wyciszone lub aktywowane, jest RNA.

CO ELIMINUJE DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE

ELIMINACJA MOŻE BYĆ RÓWNIE WAŻNA JAK INICJACJA I PODTRZYMYWANIE

Obok inicjacji i podtrzymywania stanów epigenetycznych niezbędny jest jeszcze jeden

element: wymazywanie. W niektórych sytuacjach raz ustanowione wyciszenie epigenetyczne powinno mieć charakter nieodwracalny. Jest tak w przypadku sekwencji repetytywnych, centromerowych i transpozonowych.

Jednak epigenetycznie wyciszone geny odpowiedzialne za spełnianie istotnych funkcji w rozwoju mogą podlegać późniejszej reaktywacji.

ISTNIEJĄ TRZY SPOSOBY WYMAZYWANIA PAMIĘCI EPIGENETYCZNEJ

Najprostszym sposobem wymazania znaków epigenetycznych jest po prostu zaprzestanie ich odtwarzania. Jeżeli metylacja DNA lub modyfikacje histonów rdzeniowych nie są odtwarzane podczas podziałów komórkowych, to po pewnym czasie zanikają. Zjawisko to występuje w początkowym okresie rozwoju zarodkowego ssaków, kiedy część genomu pochodząca z komórki jajowej ulega stopniowej biernej demetylacji DNA podczas kolejnych podziałów komórkowych (REIK i współaut. 2001). Podobne zjawisko opisano w mutantach pozbawionych podtrzymujących metylotransferaz DNA, niezdolnych do utrzymywania pamięci epigenetycznej, która z czasem w nich znika (BOURCHIS i BESTOR 2002).

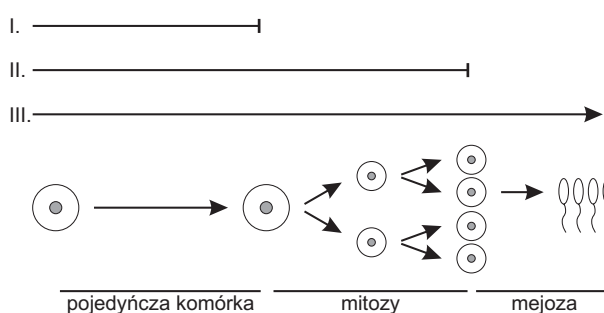
Dużo szybszy jest inny mechanizm wymazywania stanów epigenetycznych, polegający na aktywnym usuwaniu modyfikacji histonów lub metylacji DNA. Niektóre modyfikacje histonów, jak fosforylacja i acetylacja, są całkowicie odwracalne. Deacetylacja przez deacetylazy histonowe (HDAC) zachodzi równie łatwo jak acetylacja, a jej znaczenie dla inaktywacji obszarów chromatyny jest dobrze udokumentowane (KURDISTANI i GRUNSTEIN 2003). Stabilność metylacji DNA jest znacznie większa i dlatego jej usunięcie jest trudniejsze. W pewnych sytuacjach ma jednak miejsce aktywna demetylacja DNA. Tak się dzieje w początkowym etapie rozwoju zarodkowego ssaków, kiedy gwałtownej aktywnej demetylacji ulega część genomu pochodząca z komórki plemnikowej (REIK i współaut. 2001). Również w rozwoju roślin niektóre geny ulegają specyficznej demetylacji przez glikozylazę DNA DEMETER (KINOSHITA i współaut. 2004). Białka demetylujące najczęściej usuwają całą metylowaną cytozynę, a powstała luka jest później uzupełniana. Możliwe jest także usuwanie samej reszty metylowej (WOLFFE i współaut. 1999).

Jeszcze inaczej jest w przypadku metylacji histonów, która wydaje się być modyfikacją całkowicie nieodwracalną. Jedynym sposobem na usunięcie metylacji jest usunięcie całych metylowanych histonów. Dzieje się tak podczas aktywacji transkrypcyjnej obszarów geno-

mu związanych z histonem H3 metylowanym na lizynie 9. Histony są usuwane z nukleosomów, a na ich miejsce wstawiane są nowo zsyntetyzowane histony, w tym H3 pozbawiony metylacji lizyny 9 (HENIKOFF 2004).

TRWAŁOŚĆ PAMIĘCI EPIGENETYCZNEJ DECYDUJE O JEJ ZNACZENIU BIOLOGICZNYM

Czas, po jakim może nastąpić wymazanie pamięci epigenetycznej, ma duże znaczenie dla biologicznej funkcji tego procesu. Można wyróżnić trzy poziomy trwałości tej pamięci (Ryc. 5). Pierwszy poziom występuje, gdy stan



Ryc. 5. Trzy poziomy trwałości dziedziczenia epigenetycznego.

I. Stan chromatyny utrzymywany przez pewien czas, ale nie przekazywany przez mitozę. II. Stan chromatyny dziedziczony przez mitozę, ale nie przez mejozę. III. Stan chromatyny dziedziczony przez mejozę, czyli z pokolenia na pokolenie.

chromatyny utrzymywany jest przez pewien czas, ale nie jest przekazywany podczas podziałów mitotycznych. Dziedziczenie epigenetyczne ma wtedy wyłącznie znaczenie pomocnicze wobec mechanizmów aktywacji i represji transkrypcji. Drugi poziom dotyczy sytuacji, gdy pamięć epigenetyczna jest przekazywana przez podziały mitotyczne, ale nie przez podziały mejotyczne. Dziedziczenie epigenetyczne może wtedy mieć istotne znaczenie w rozwoju i różnicowaniu. Trzeci poziom to przekazywanie znaków epigenetycznych z pokolenia na pokolenie. Wtedy dziedziczone epigenetycznie cechy stają się istotne z punktu widzenia ewolucji.

A zatem pamięć epigenetyczna może być w odpowiednich momentach wymazywana, a trwałość pamięci ma istotny wpływ na jej funkcję biologiczną.

DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE MA ZNACZENIE W EWOLUCJI

ISTOTNE CECHY MOGĄ BYĆ DZIEDZICZONE EPIGENETYCZNIE

Dotychczas największe zainteresowanie budziło znaczenie dziedziczenia epigenetycznego dla regulacji ekspresji genów w rozwoju i różnicowaniu. Jednak jeżeli rzeczywiście znaki epigenetyczne mogą być dziedziczone z pokolenia na pokolenie, to znaczenie interesujących nas mechanizmów może okazać się dużo większe.

Wykazano, że cechy istotne z punktu widzenia doboru naturalnego rzeczywiście mogą być dziedziczone epigenetycznie z pokolenia na pokolenie. Jedną z takich cech jest symetria kwiatu *Linum*. Normalnie kwiaty *Linum* mają budowę niesymetryczną, jednak znaleziono rośliny, u których kwiaty są symetryczne. Okazało się, że przyczyną tej zmiany jest inaktywacja jednego z genów rozwojowych. Jednak dzieje się to nie w wyniku mutacji, lecz w wyniku wyciszenia epigenetycznego dziedziczonego z pokolenia na pokolenie (CUBAS i współaut. 1999). Podobne zjawisko występuje u myszy, gdzie epigenetycznie utrzymywane jest wyciszenie jednego z genów odpowiedzialnych za syntezę pigmentu (RAKYAN i WHITELAW 2003, RAKYAN i współaut. 2002) (zobacz ilustrację na okładce zeszytu).

DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE DAJE MOŻLIWOŚĆ POWROTU DO STANU WYJŚCIOWEGO

Dziedziczenie epigenetyczne z pokolenia na pokolenie ma szereg cech odróżniających je od dziedziczenia zmian w sekwencji DNA. Po pierwsze dziedziczone stany chromatyny są dużo mniej stabilne od sekwencji DNA. Jeżeli dochodzi do mutacji, prawdopodobieństwo powrotu do stanu wyjściowego jest bardzo niskie. Jednak w przypadku dziedzicznej zmiany epigenetycznej (epimutacji) rewersja może zajść z prawdopodobieństwem dużo większym, wynoszącym od około trzech procent dla niektórych genów roślinnych do kilkudziesięciu procent u ssaków (JACOBSEN i MEYEROWITZ 1997, RAKYAN i współaut. 2002). Duża częstość rewersji może mieć istotne znaczenie dla procesu ewolucji. Warunki środowiska często ulegają oscylacjom, czyli zmieniają się, ale potem wracają do poziomu wyjściowego. Zmiany środowiska pociągają za sobą zmiany ewolucyjne, które są jednak dużo trudniejsze do odwróce-

nia ze względu na niskie prawdopodobieństwo rewersji. W sytuacji, gdy przystosowanie ewolucyjne polega na zmianie częstości epialleli, powrót do stanu wyjściowego jest dużo prostszy. Dziedziczenie epigenetyczne może zatem znacząco modyfikować przebieg ewolucji w warunkach oscylującego środowiska.

DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE MOŻE BYĆ REGULOWANE

Drugą szczególną cechą dziedziczenia epigenetycznego jest potencjalna możliwość regulacji w odpowiedzi na warunki środowiska. W normalnych warunkach preferowane jest utrzymywanie stałego, zoptymalizowanego fenotypu. Jednak, gdy warunki ulegają zmianie, pożądane jest zwiększenie zmienności fenotypowej, która staje się podstawą adaptacji do nowych warunków (WADDINGTON 1942). Wydaje się, że w warunkach stresowych może dochodzić do znacznego zwiększenia częstości zmian epigenetycznych, które mogą zwiększać zmienność fenotypową i przyspieszać proces adaptacji. Zwiększenie zmienności może następować przez czasowe upośledzenie mechanizmów epigenetycznych. Może też być inicjowane przez inny mechanizm, a tylko utrzymywane epigenetycznie (FINNEGAN 2001, SOLLARS i współaut. 2003).

DZIEDZICZENIE EPIGENETYCZNE MOŻE UMOŻLIWIAĆ UTRWALANIE CECH NABYTYCH

Trzecią cechą wyróżniającą dziedziczenie epigenetyczne jest potencjalna możliwość utrwalania cech nabytych. W wielu sytuacjach mechanizmy epigenetyczne utrwalają stan ekspresji genów zainicjowany przez inne czynniki (SIMON 1995, JOHNSON i współaut. 2002). Może zatem dochodzić do sytuacji, kiedy w odpowiedzi na stan środowiska ustanawiany jest pewien wzór ekspresji genów odpowiedzialny za określone przystosowania fizjologiczne lub rozwojowe. Ten wzór ekspresji genów może następnie zostać epigenetycznie utrwalony. Jeżeli utrwalenie to jest dziedziczone przez mejozy i dotyczy również komórek, z których powstaną gamety, oznacza ono utrwalenie cech nabytych.

A zatem dziedziczenie epigenetyczne posiada szczególne cechy różniące je od dziedziczenia związanego z utrzymywaniem sekwen-

cji DNA i przez to może mieć istotne znaczenie dla procesu ewolucji.

PODSUMOWANIE

Odkrycie znaczenia pamięci epigenetycznej oraz mechanizmów za nią odpowiedzialnych miało wartość nie tylko poznawczą, ale i praktyczną. Okazało się, że procesy epigenetyczne mają duże znaczenie przy klonowaniu ssaków oraz dla procesu transformacji nowotworowej (RIDEOUT i współaut. 2001, HAKE i

współaut. 2004). Ważne będzie dokładniejsze zrozumienie mechanizmów tej pamięci, a w szczególności czynników ją inicjujących oraz przerywających. Najciekawsze jednak wydaje się obecnie dokładne wyjaśnienie roli dziedziczenia epigenetycznego w ewolucji.

EPIGENETIC INHERITANCE

S u m m a r y

Epigenetic inheritance means the maintaining activity of specific loci during cell divisions, without any changes in the DNA sequence. This phenomenon plays an important role in several biological processes including cell development and cellular differentiation. Epigenetic inheritance is based on the structure

of chromatin, which determines gene activity and may be maintained even during cell division. Epigenetic inheritance may be actively regulated and its stability is important for its biological function. Probably, epigenetic inheritance may be an important factor in the course of evolution.

LITERATURA

- ANDERSEN A. A., PANNING B., 2003. *Epigenetic gene regulation by noncoding RNAs*. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15, 281–289.
- AVNER P., HEARD E., 2001. *X-chromosome inactivation: counting, choice and initiation*. *Nat. Rev. Genet.* 2, 59–67.
- BOURCHIS D., BESTOR T. H., 2002. *Helicase homologues maintain cytosine methylation in plants and mammals*. *Bioessays* 24, 297–299.
- BROCK H. W., VAN LOHUIZEN M., 2001. *The polycomb group – no longer an exclusive club?* *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11, 175–181.
- CLEVELAND D. W., MAO Y., SULLIVAN K. F., 2003. *Centromeres and kinetochores: from epigenetics to mitotic checkpoint signaling*. *Cell* 112, 407–421.
- CUBAS P., VINCENT C., COEN E., 1999. *An epigenetic mutation responsible for natural variation in floral symmetry*. *Nature* 401, 157–161.
- FINNEGAN E. J., 2001. *Epialleles – a source of random variation in times of stress*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5, 101–106.
- HAKE S. B., XIAO A., ALLIS C. D., 2004. *Linking the epigenetic 'language' of covalent histone modifications to cancer*. *Br. J. Cancer* 90, 761–769.
- HANNON G. J., 2002. *RNA interference*. *Nature* 418, 244–251.
- HENIKOFF S., 2004. *Visualizing gene expression: an unfolding story*. *Cell* 116, 633–634.
- JACOBSEN S. E., MEYEROWITZ E. M., 1997. *Hypermethylated SUPERMAN Epigenetic Alleles in Arabidopsis*. *Science* 277, 1100–1103.
- JAENISCH R., BIRD A., 2003. *Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals*. *Nat. Genet.* 33, 245–254.
- JENUWEIN T., ALLIS C. D., 2001. *Translating the histone code*. *Science* 293, 1074–1080.
- JOHNSON L. M., CAO X., JACOBSEN S. E., 2002. *Interplay between two epigenetic marks: DNA methylation and histone H3 lysine 9 methylation*. *Curr. Biol.* 12, 1360–1367.
- KHORASANIZADEH S., 2004. *The nucleosome: from genomic organization to genomic regulation*. *Cell* 116, 259–272.
- KINOSHITA T., MIURA A., CHOI Y., KINOSHITA Y., CAO X., JACOBSEN S. E., FISCHER R. L., KAKUTANI T., 2004. *One-way control of FWA imprinting in Arabidopsis endosperm by DNA methylation*. *Science* 303, 521–523.
- KORNBERG R. D., LORCH Y., 1999. *Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome*. *Cell* 98, 285–294.
- KURDISTANI S. K., GRUNSTEIN M., 2003. *Histone acetylation and deacetylation in yeast*. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 4, 276–284.
- OKAMOTO H., HIROCHIKA H., 2001. *Silencing of transposable elements in plants*. *Trends Plant Sci.* 6, 527–534.
- ORLANDO V., 2003. *Polycomb, epigenomes and control of cell identity*. *Cell* 112, 599–606.
- RAKYAN V., WHITELAW E., 2003. *Transgenerational epigenetic inheritance*. *Curr. Biol.* 13, R6.

- RAKYAN V., BLEWITT M. E., DRUKER R., PREIS J. I., WHITE-LAW E., 2002. *Metastable epialleles in mammals*. Trends Genet. 18, 348-531.
- REIK W., DEAN W., WALTER J., 2001. *Epigenetic reprogramming in mammalian development*. Science 293, 1089-1093.
- RIDEOUT W. M., EGGAN K., JAENISCH R., 2001. *Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome*. Science 293, 1093-1098.
- RICHARDS E. J., ELGIN S. C. R., 2002. *Epigenetic codes for heterochromatin formation and silencing: rounding up the usual suspects*. Cell 108, 489-500.
- SCHOTTA G., EBERT A., DORN R., REUTER G., 2003. *Position-effect variegation and the genetic dissection of chromatin regulation in Drosophila*. Semin. Cell Dev. Biol. 14, 67-75.
- SCHREIBER S. L., BERNSTEIN B. E., 2002. *Signaling network model of chromatin*. Cell 111, 771-778.
- SIMON J., 1995. *Locking in stable states of gene expression: transcriptional control during Drosophila development*. Curr. Opin. Cell Biol. 7, 376-385.
- SOLLARS V., LU X., XIAO L., WANG X., GARFINKEL M. D., RUDEN D. M., 2003. *Evidence for an epigenetic mechanism by which Hsp90 acts as a capacitor for morphological evolution*. Nat. Genet. 33, 70-74.
- STRAHL B. D., ALLIS C. D., 2000. *The language of covalent histone modifications*. Nature 403, 41-45.
- SUNG S., AMASINO R. M., 2004. *Vernalization and epigenetics: how plants remember winter*. Curr. Opin. Plant Biol. 7, 4-10.
- WADDINGTON C. H., 1942. *Canalization of development and the inheritance of acquired characters*. Nature 150, 563-565.
- WAKIMOTO B. T., 1998. *Beyond the nucleosome: epigenetic aspects of position-effect variegation in Drosophila*. Cell 93, 321-324.
- WOLFFE A. P., JONES P. L., WADE P. A., 1999. *DNA demethylation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 5894-5896.
- ZHANG Y., REINBERG D., 2001. *Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails*. Genes Dev. 15, 2343-2360.