

# EPIGENETICA

Nutramin Congres

BAARN

15 november 2014

# Programma

1. Genetica en Epigenetica (de basis)
2. Epigenetische regulatie (voorbeelden)
3. Mogelijkheden voor interventie (discussie)

Prefix - Epi -

*op of bij*

*bijkomend bij of supplementair aan*

***GENETICA***

# Genetica-1

Bestudeert erfelijke eigenschappen  
(van organismen) op basis van de basenvolgorde  
in het DNA

# DNA

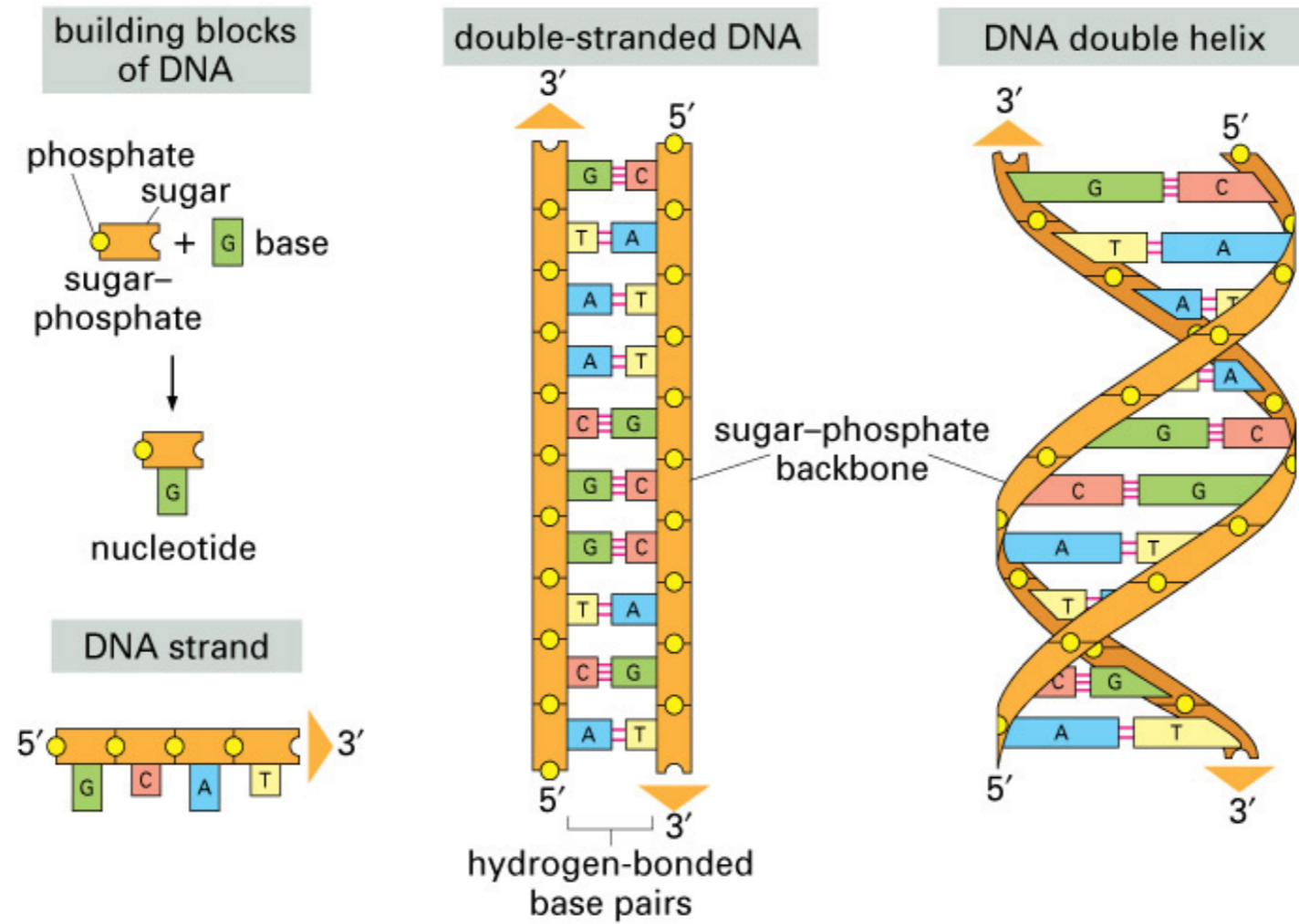
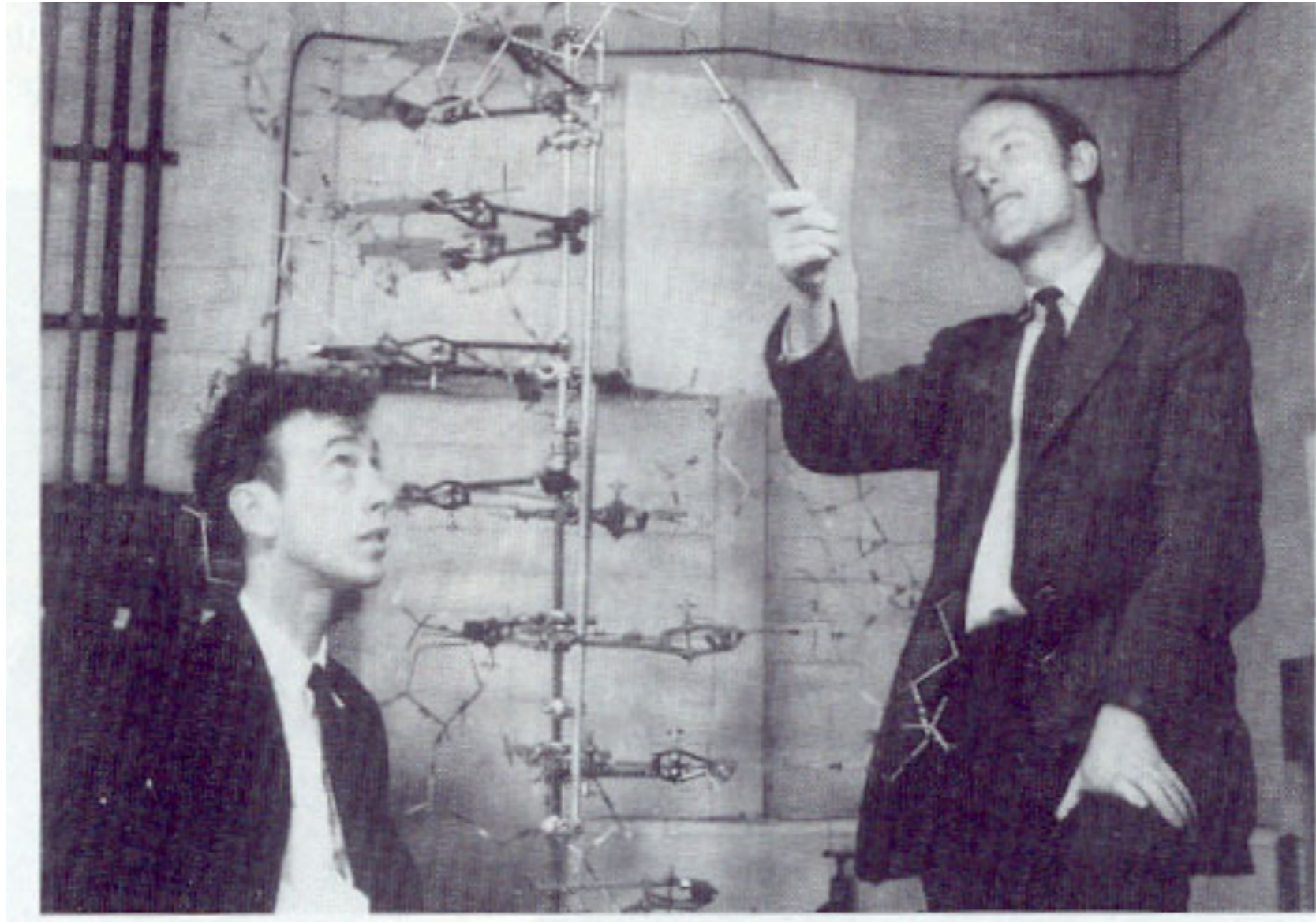
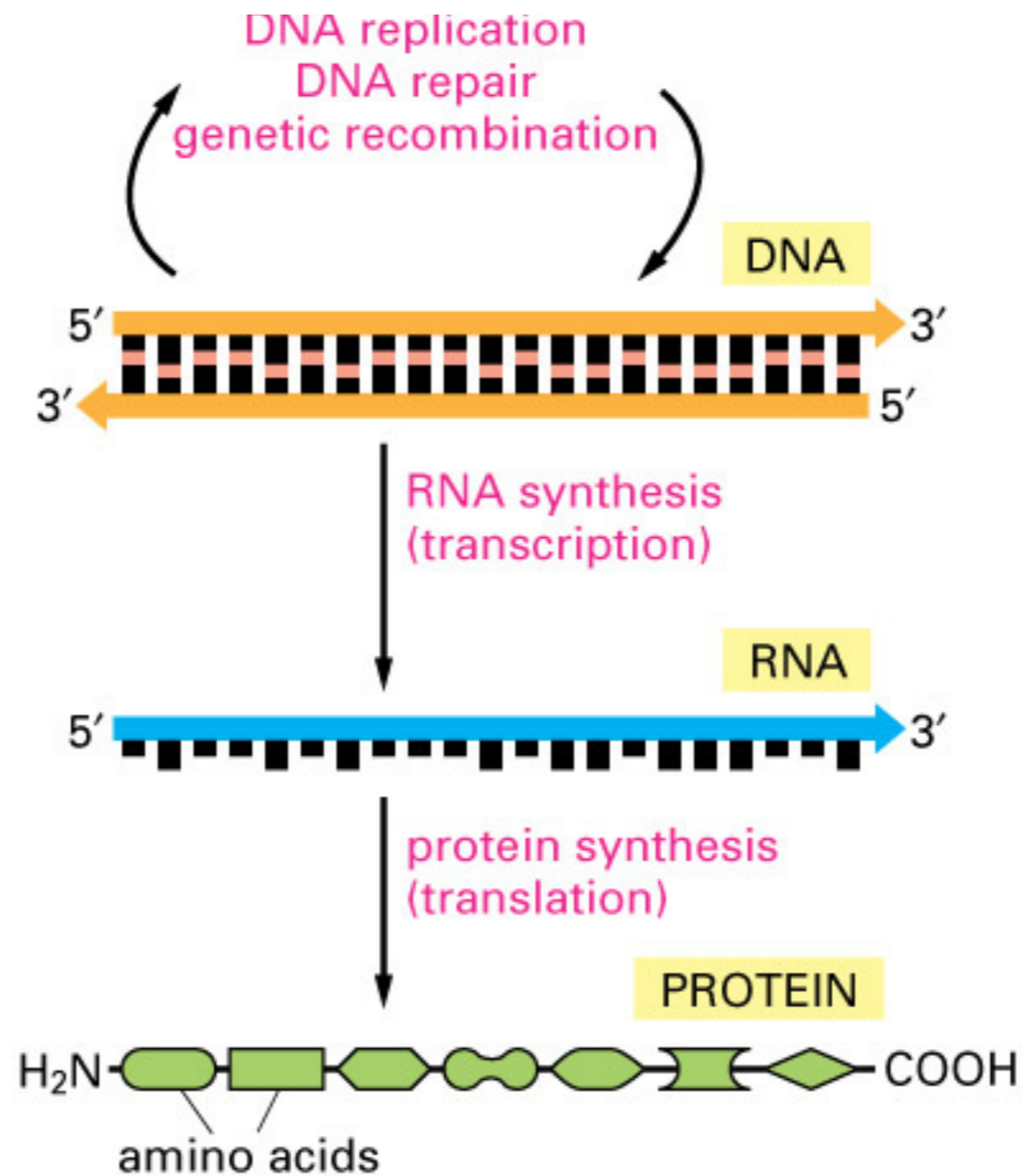


Figure 5-2 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

# Watson en Crick



# Centrale Dogma van de Moleculaire Genetica



# Genetica-2

Bestudeert de erfelijke eigenschappen (van organismen) op basis van de basenvolgorde in het DNA

De eenheid van erfelijke informatie is een gen

Genen kunnen muteren of recombineren wat leidt tot functie verandering of verlies (zichtbaar of meetbaar)



# Mutatie



Wat is Epigenetica?

# Epigenetica-1

"Epigenetica is steeds weer het geheel van al die rare en prachtige dingen die niet kunnen worden verklaard door de genetica."

**Denise Barlow** (*Wenen, Oostenrijk*)

"Er zit ongeveer twee meter DNA in een celkern van slechts enkele micrometers. We proberen meer te weten te komen over de mechanismen waarmee het DNA toegankelijk wordt gemaakt in de zeer beperkte ruimte van de celkern."

**Gunter Reuter** (*Halle, Duitsland*)

"DNA is slechts een bandje met informatie, en aan een bandje heb je niets zonder een afspeelapparaat. Epigenetica gaat over dat afspeelapparaat."

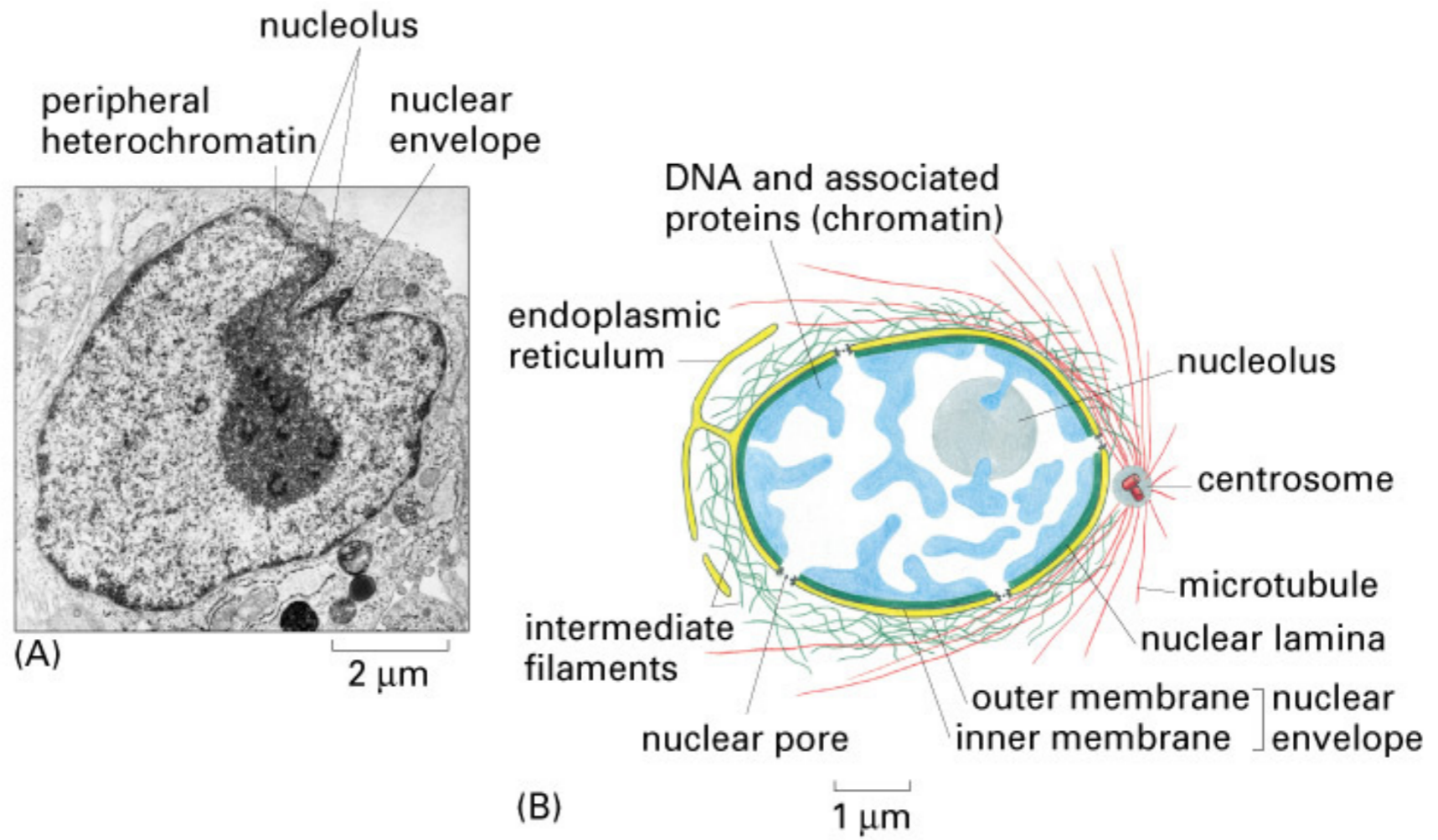
**Bryan Turner** (*Birmingham, Engeland*)

# Epigenetica-2

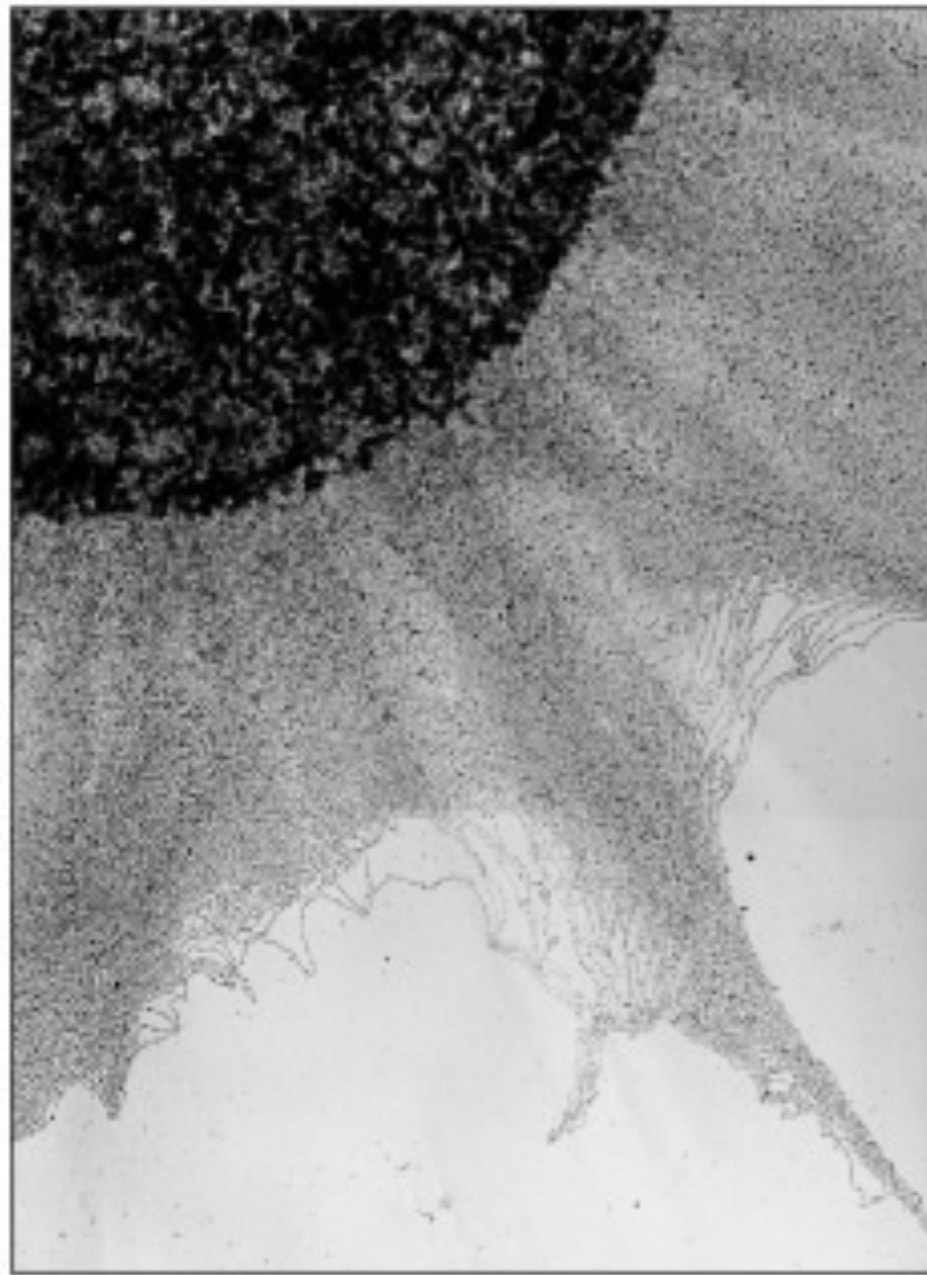
“Het verschil tussen genetica en epigenetica kun je ook wel vergelijken met het verschil tussen het schrijven en het lezen van een boek. Als een boek eenmaal geschreven is, zal de tekst (de genen of de in het DNA opgeslagen informatie) gelijk zijn in alle gedrukte exemplaren. Echter, iedere afzonderlijke lezer van het boek kan het verhaal net iets anders interpreteren, en zijn of haar eigen emoties en beelden ervaren bij elk hoofdstuk. Op een soortgelijke manier kan epigenetica verschillende interpretaties toestaan van vastgelegde informatie (van de genetische code) en dat levert verschillende lezingen op, afhankelijk van de wisselende omstandigheden waaronder die informatie wordt gelezen.”

**Thomas Jenuwein** (*Wenen, Oostenrijk*)

# De Celkern



# Chromatine



(A)

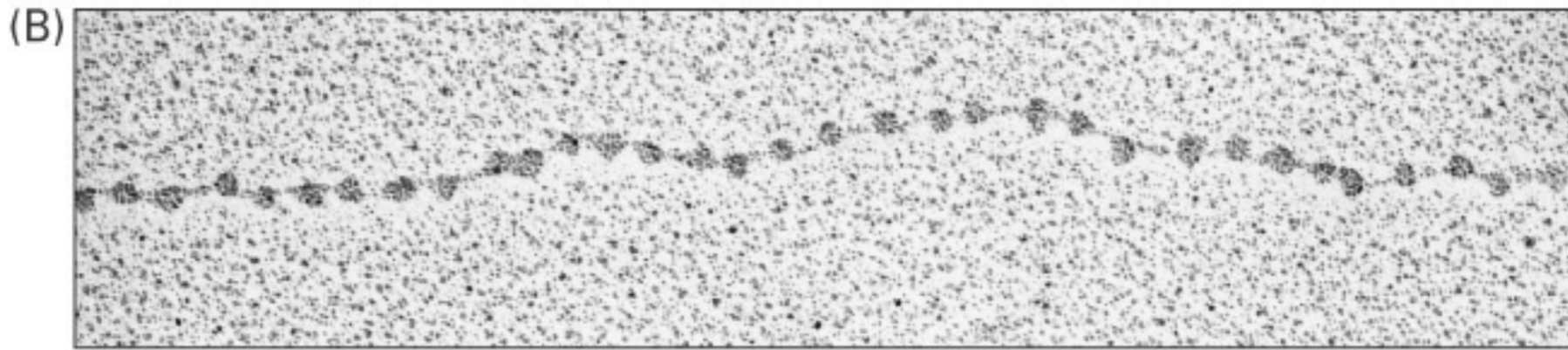
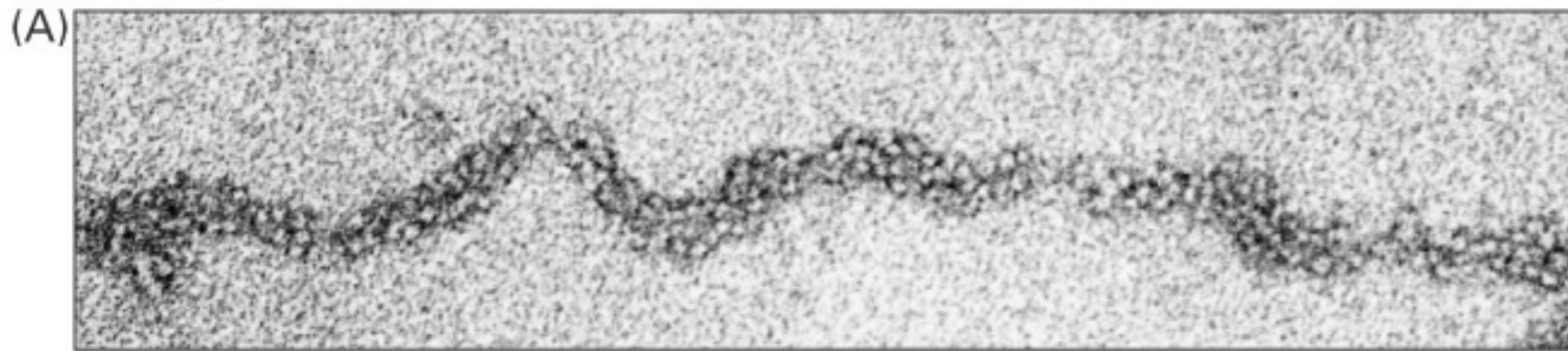
10  $\mu\text{m}$



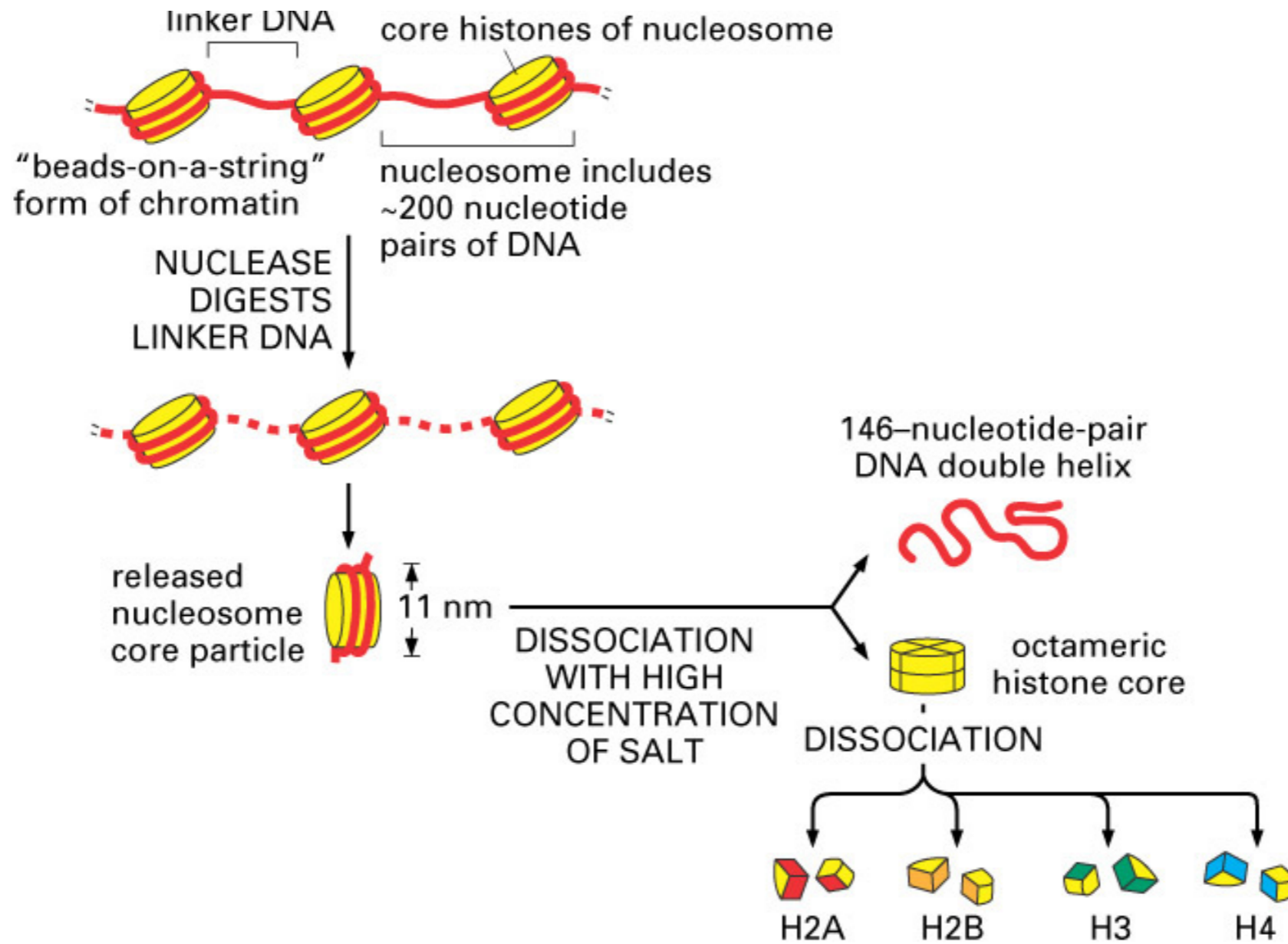
(B)

1  $\mu\text{m}$

# Kralensnoer

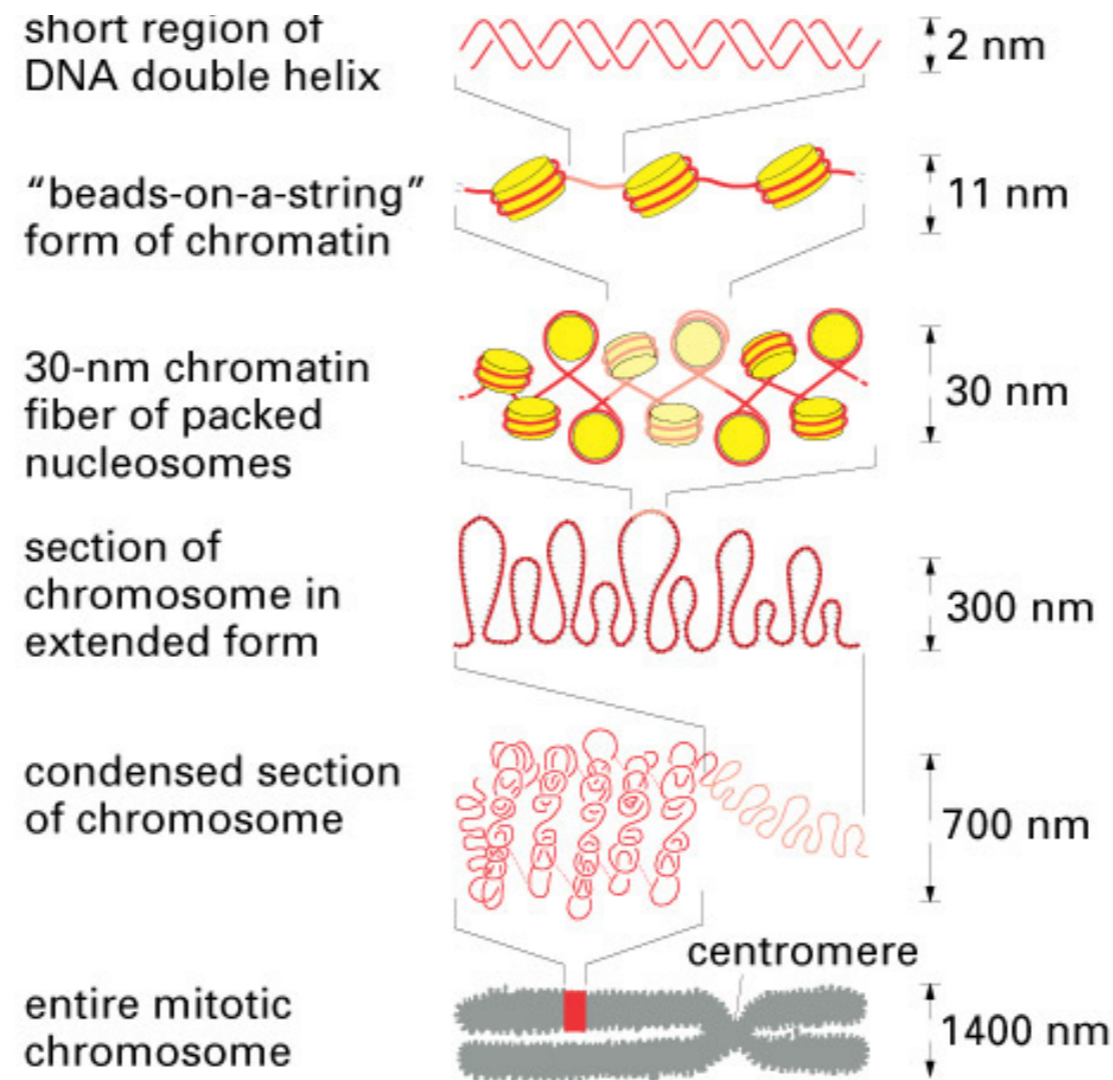


# Nucleosomen





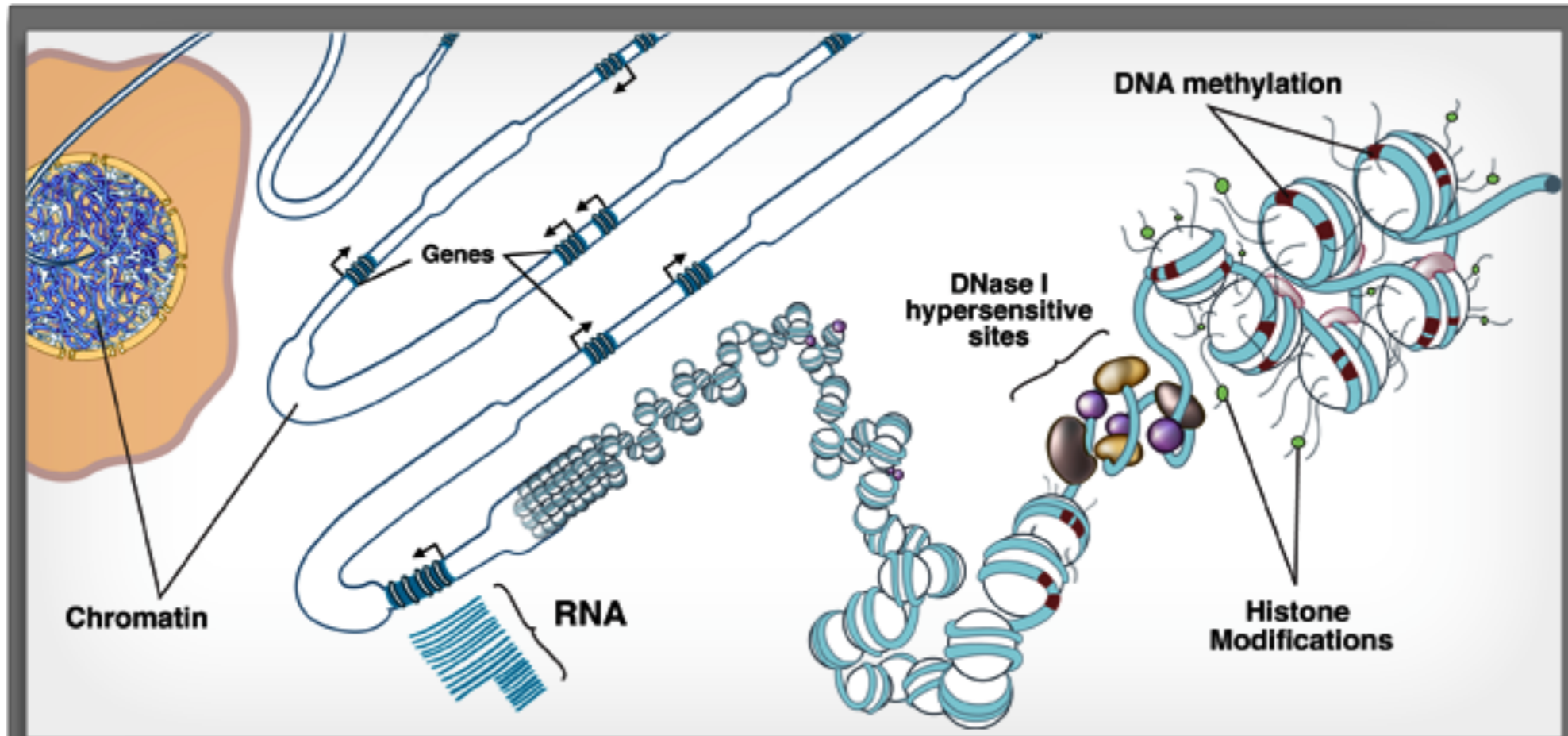
# Chromosome Condensation



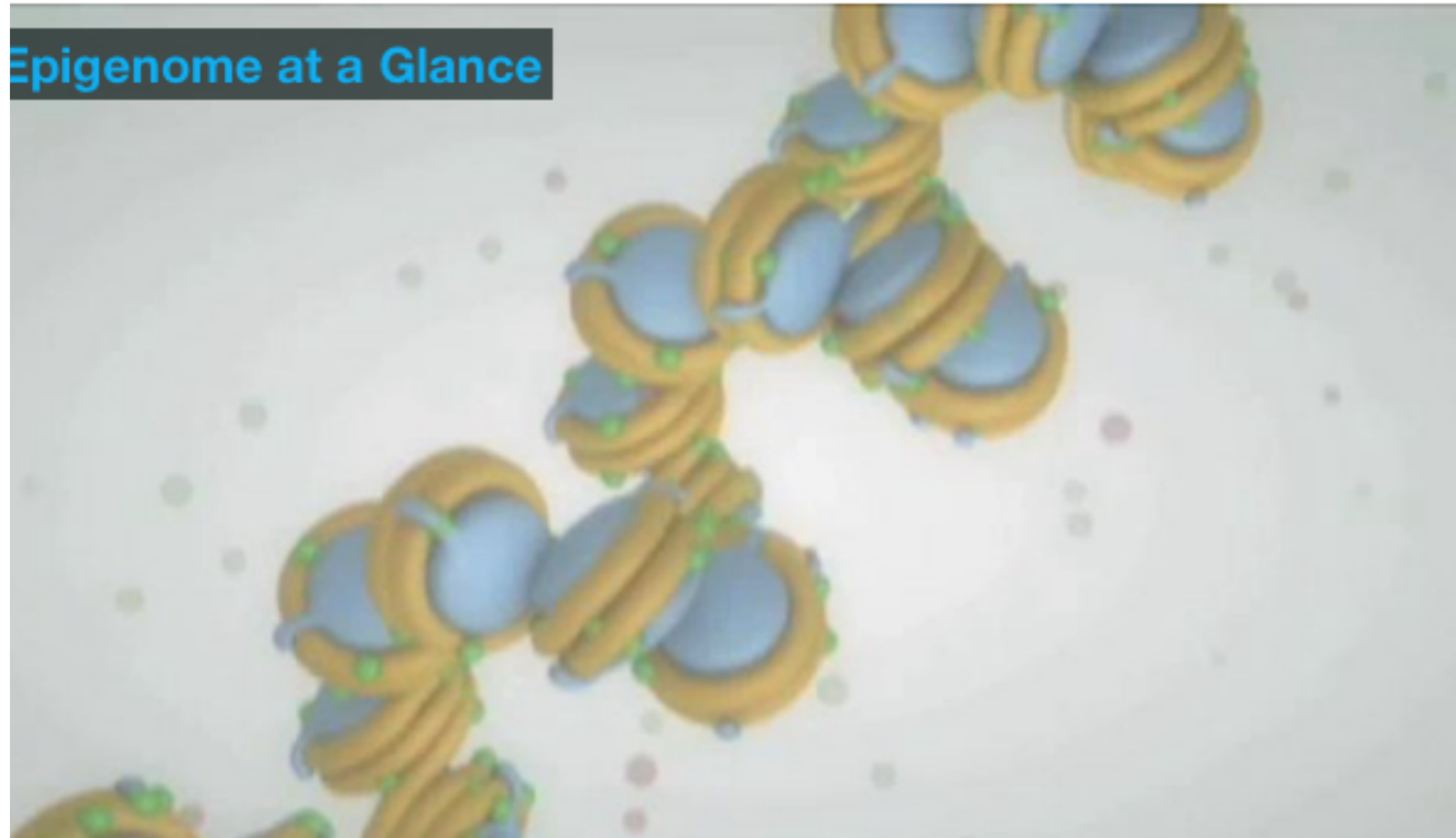
NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

# Chromatine

## Actief/Niet Actief



# Epigenome-1



<http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/intro/>

# Epigenoom

Het DNA bevat de volledige instructie voor alle delen van het lichaam (het boek)

DNA is in de celkern aanwezig aanwezig in de vorm van chromatine: 2 DNA windingen van in totaal 147 bp om het his octameer deeltje.

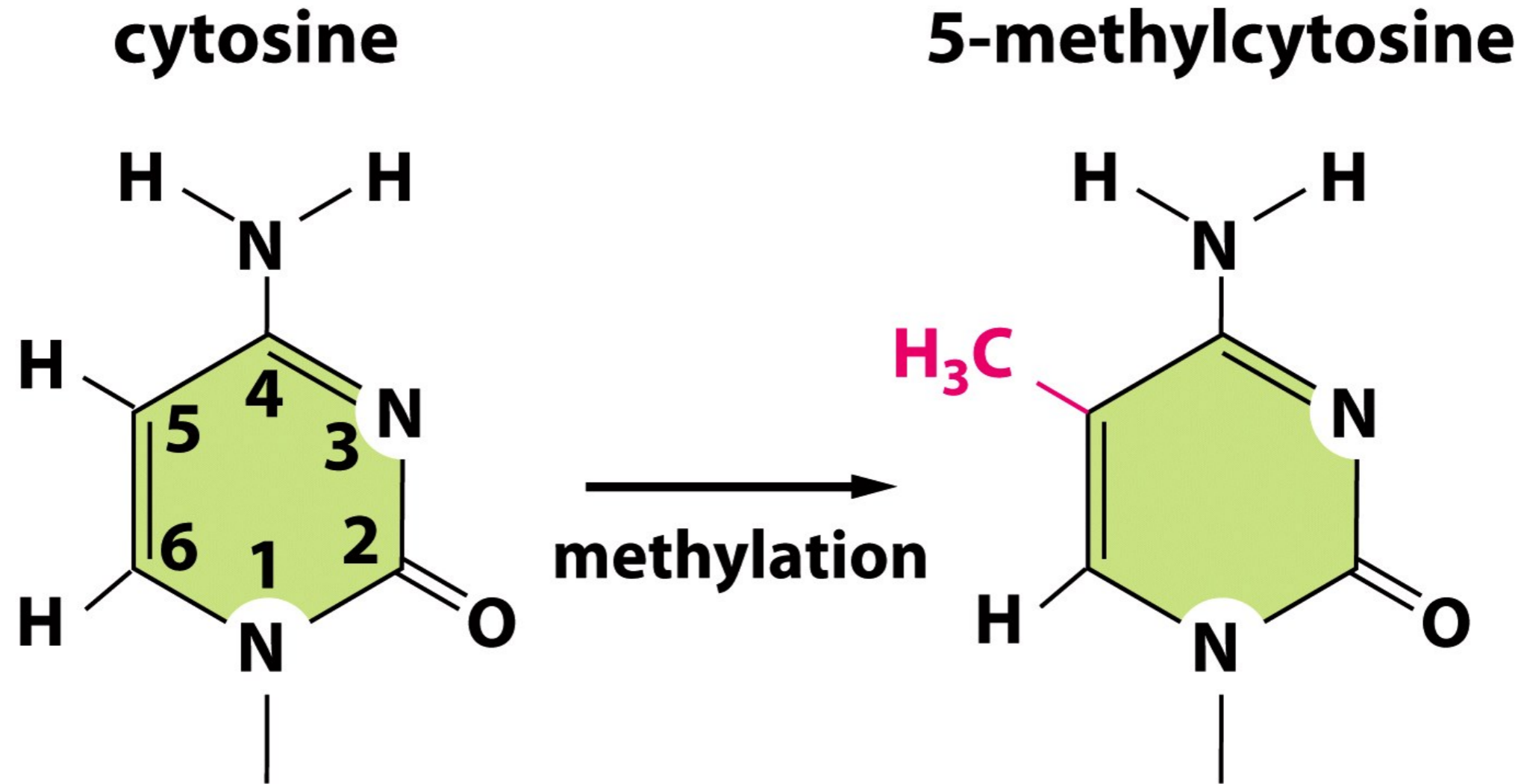
DNA en histonen zijn bedekt met chemische labels die de expressie van genen in de vorm chromatine reguleren (de interpretatie)

# Epigenetische Labels

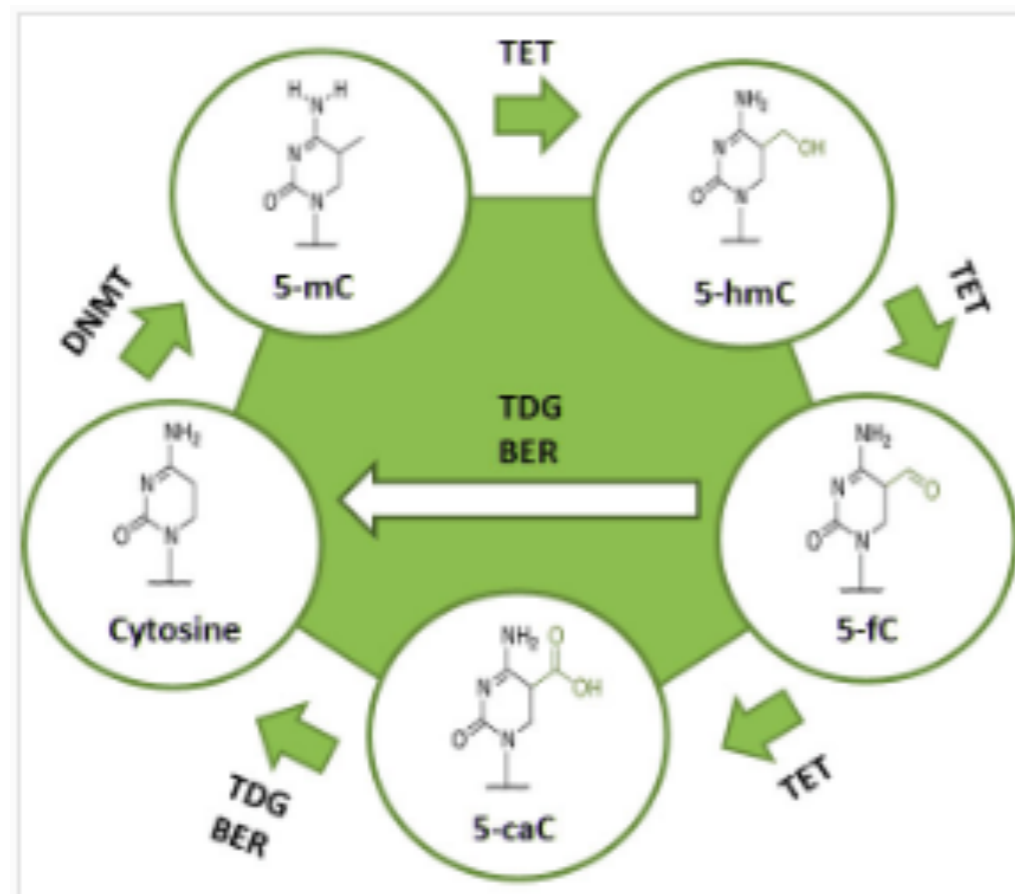
## **1. Methylering van DNA**

## 2. Modificatie van histon eiwitten

# Methylation of Cytosine



# Cytosine methyleringscyclus



Methylering van Cytosine door DNA MethylTransferase (DNMT)

Drie varianten: DNMT 1, 2, 3

Demethylering van 5<sup>Me</sup>-Cytosine door TET enzymen (TET 1,2,3) en excisie repair

# 5<sup>me</sup>Cytosine

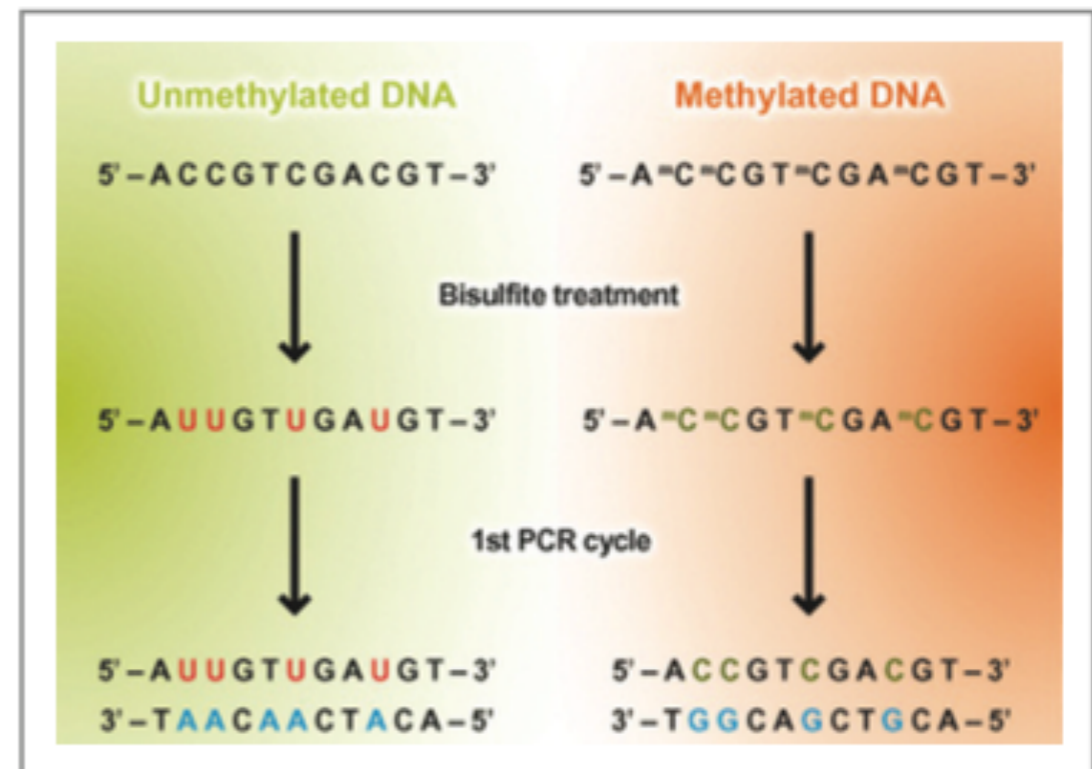
Methylering CpG dinucleotide

Methylering van met name promoter regio's

Verlaagde expressie door verhinderd van binding van transcriptie factoren

Condensatie van chromatine na binding methyl DNA binding protein

5<sup>Me</sup>Methylcytosine in DNA is op verschillende manieren eenvoudig te meten, bijvoorbeeld via bisulfit conversie en PCR (zie rechts)





# Cellulaire effecten van DNA (de)methylering

De-methylering van groei-stimulerende genen in kanker cellen (stimuleert de celgroei)

Paternale en/of maternale overervende expressie patronen (Imprinting)

X-chromosoom in-activatie (inactivatie van 1 van de twee X chromosomen door hypercondensatie)

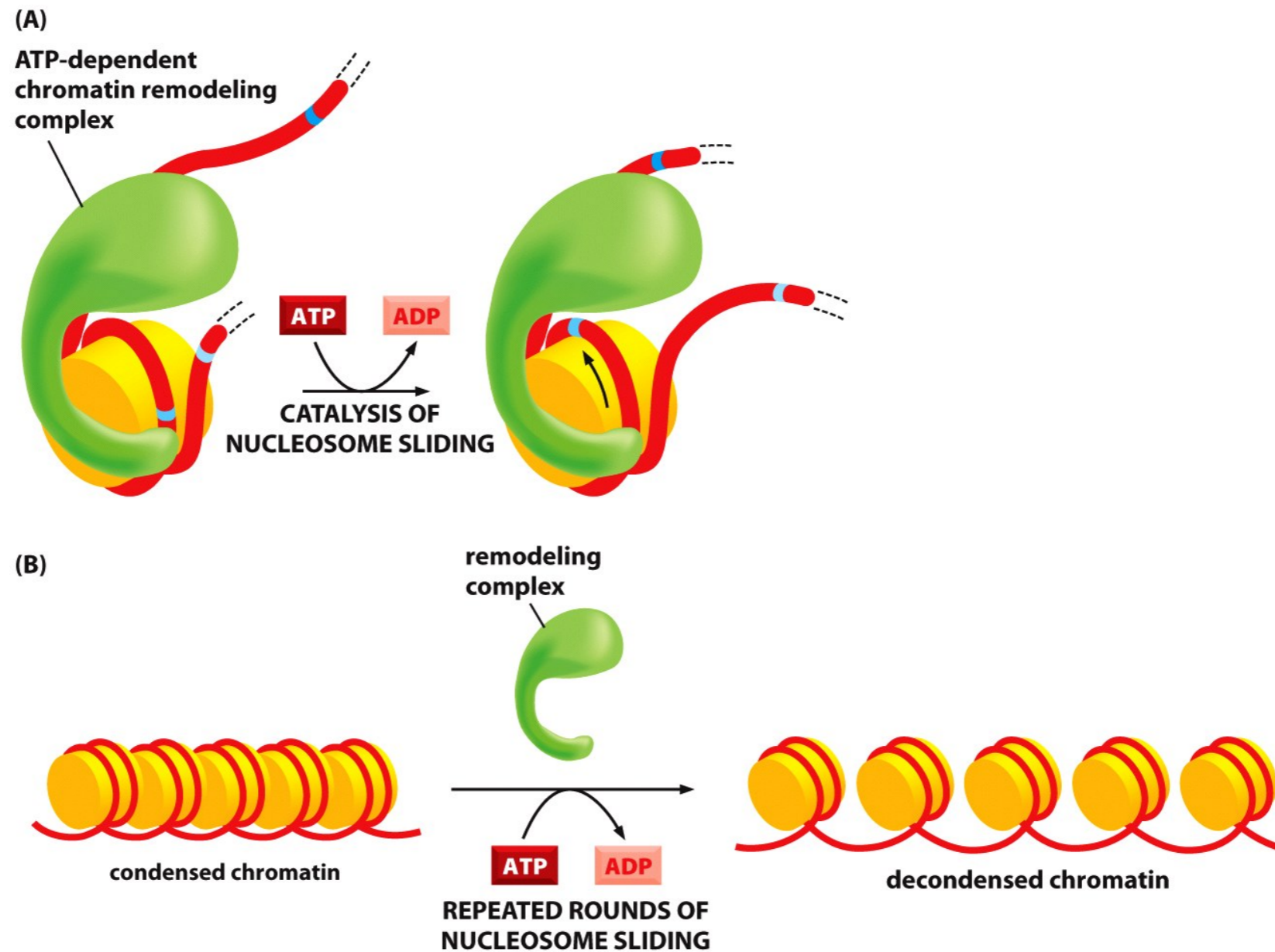
Reprogramming (resetten van epigenetische markeringen naar de embryologische grondtoestand)

# Epigenetische Labels-2

1. Methylering van DNA

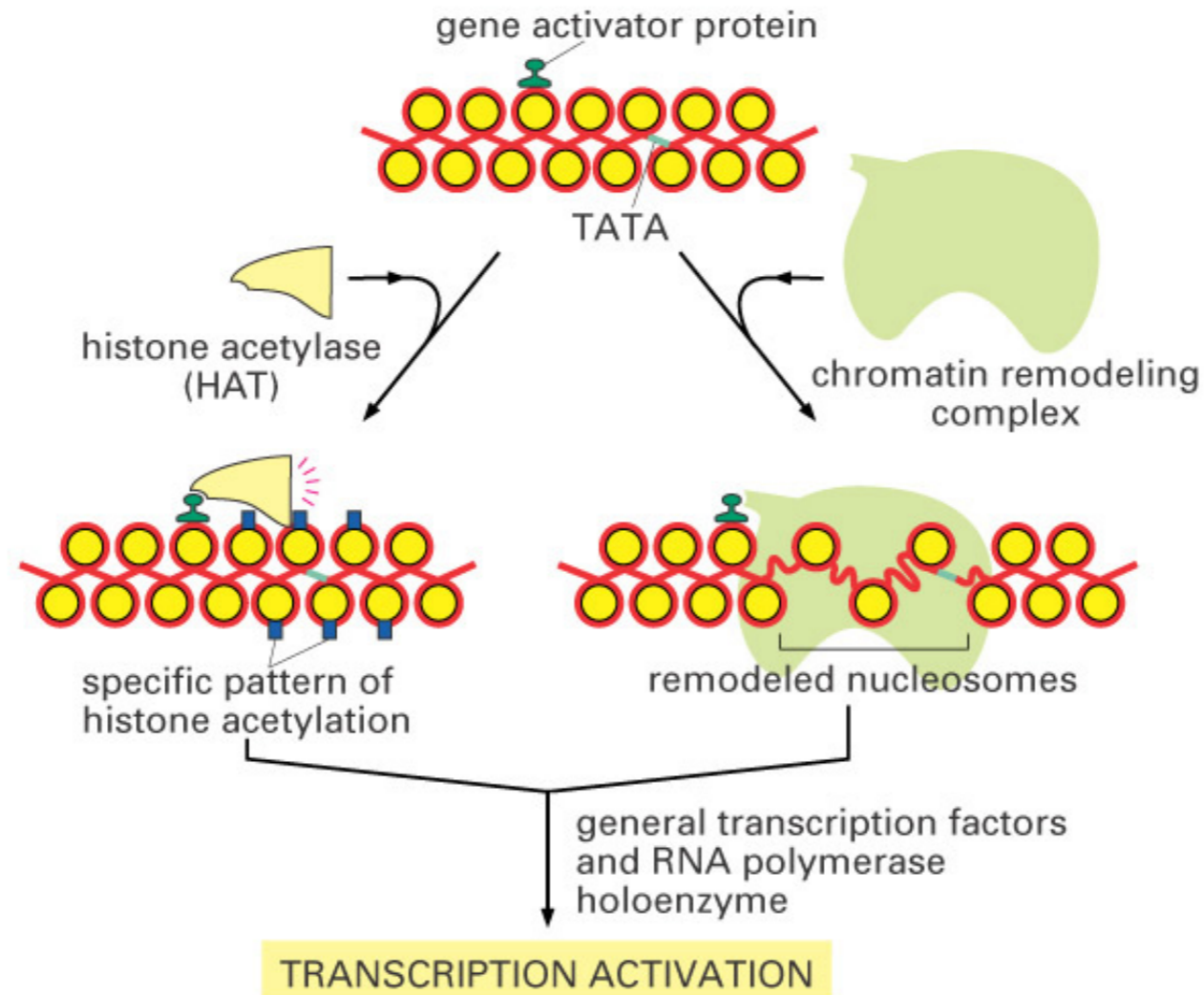
**2. Modificatie van histon eiwitten**

# Nucleosoom sliding

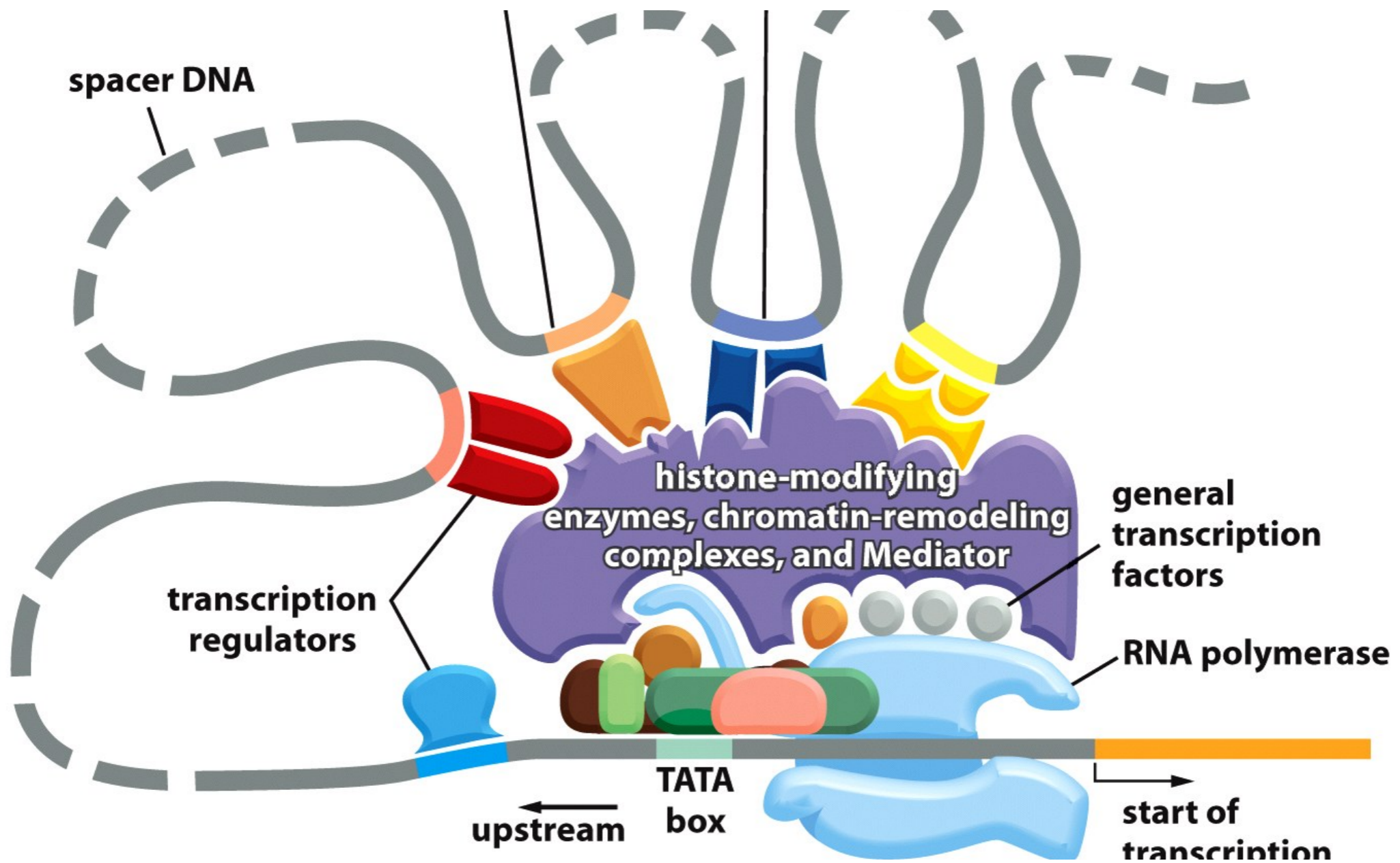


Faciliteert expressie van genetische informatie in chromatine

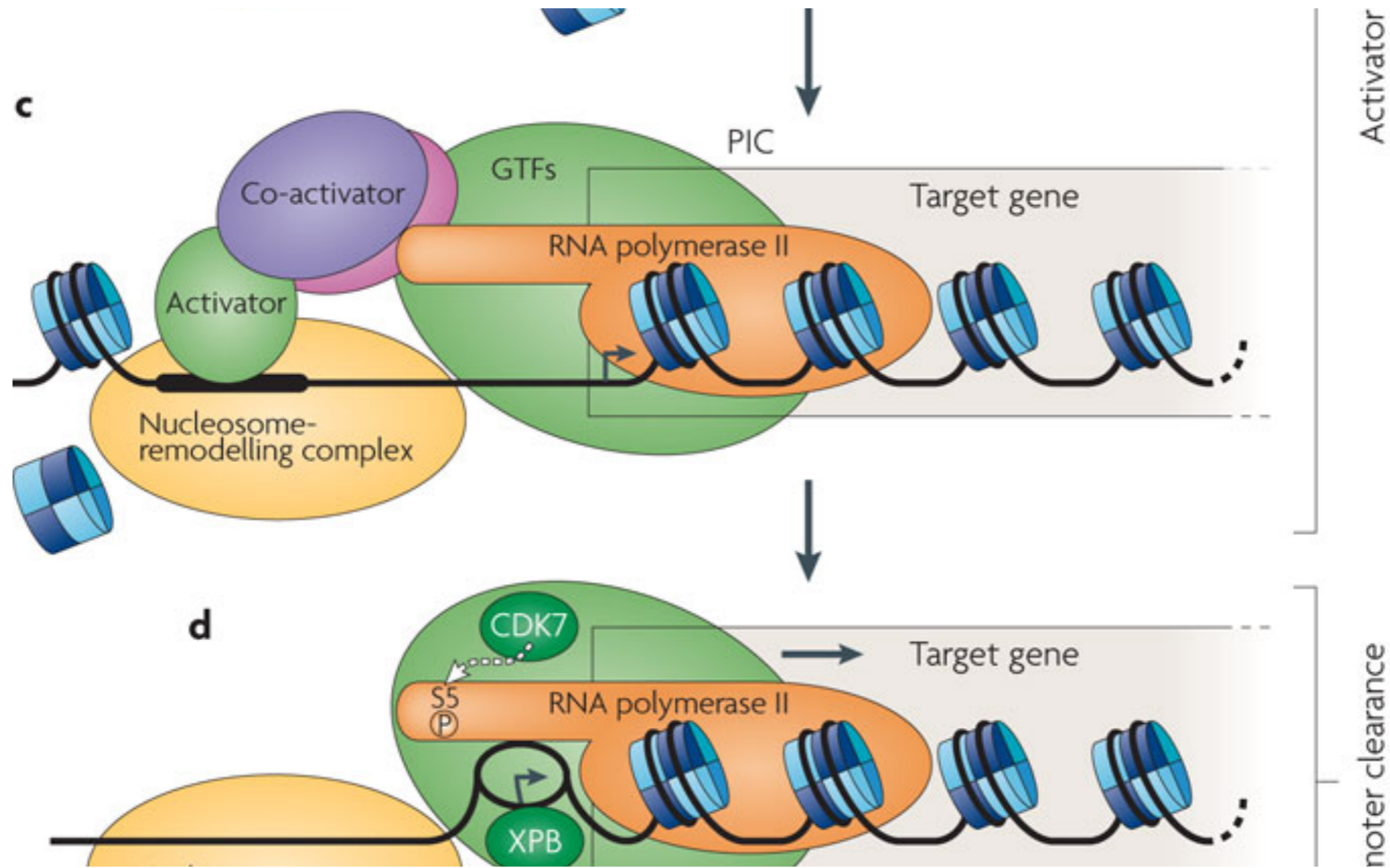
# Transcriptie Activatie



# Transcription Initiation

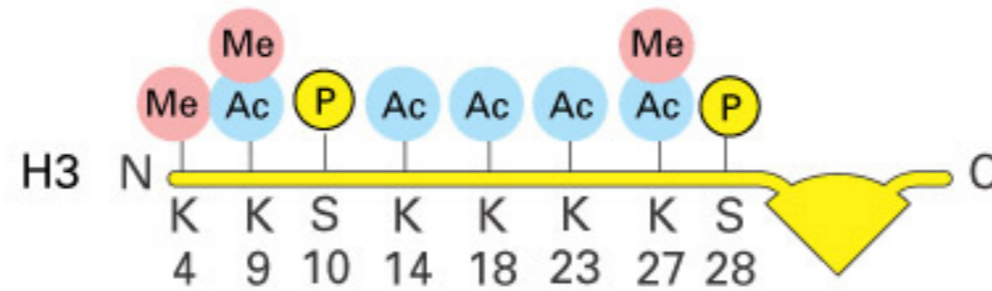


# Transcriptie initiatie in Chromatine

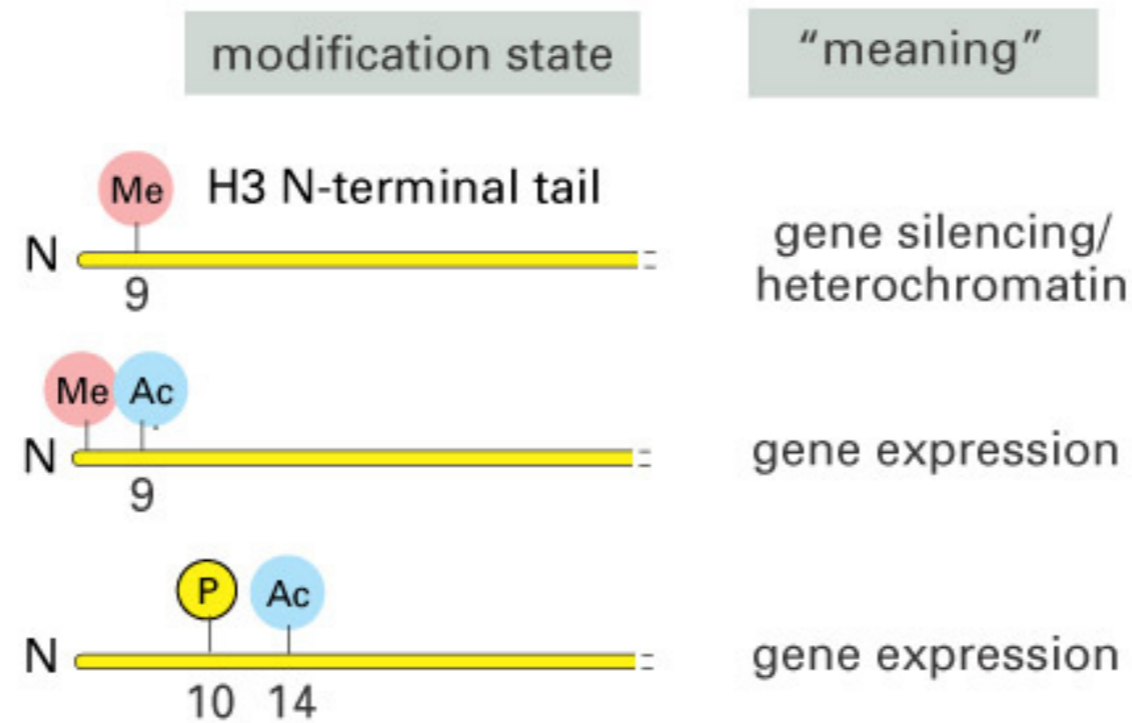


# Histon Code

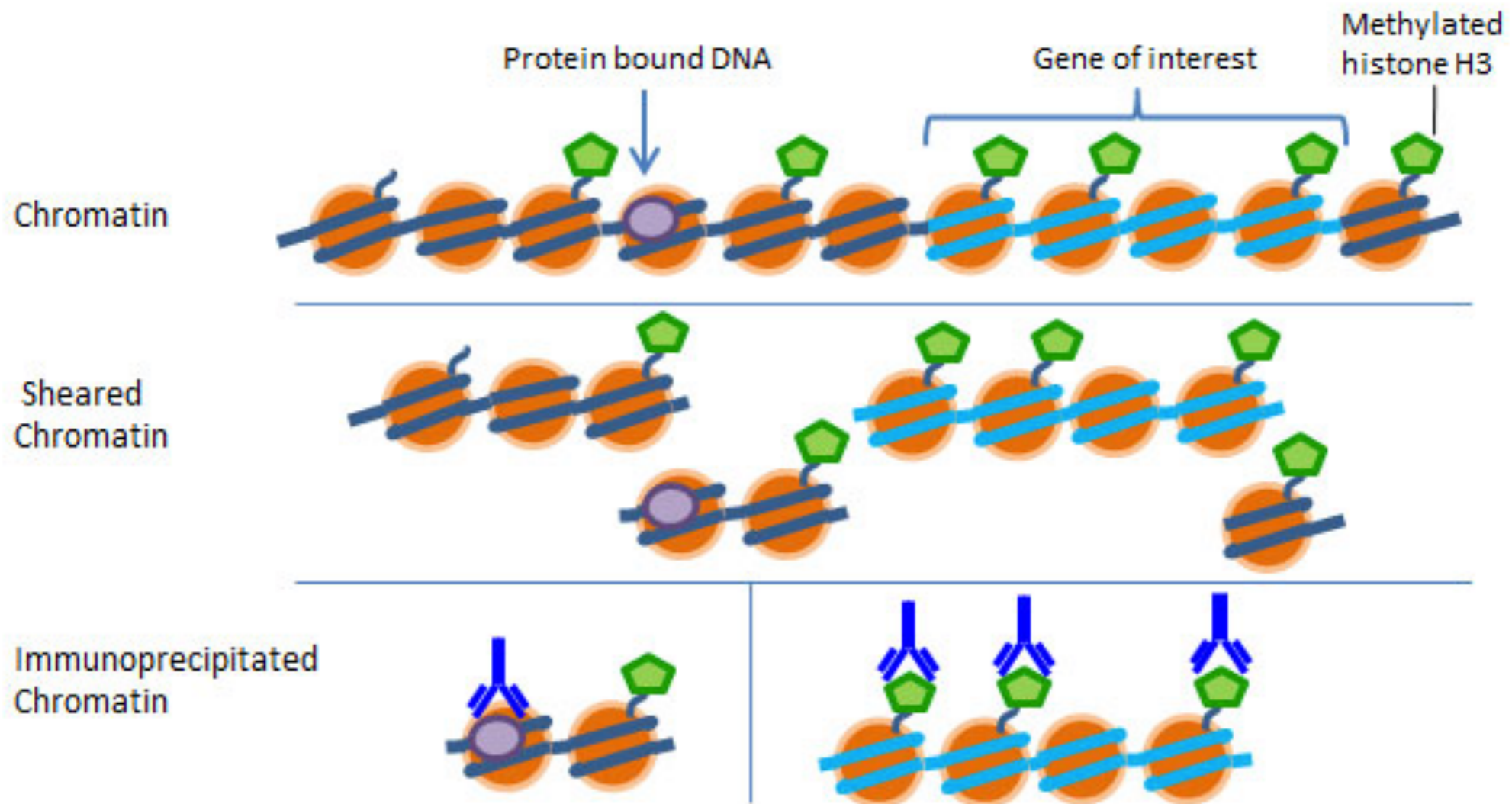
(A)



(B)



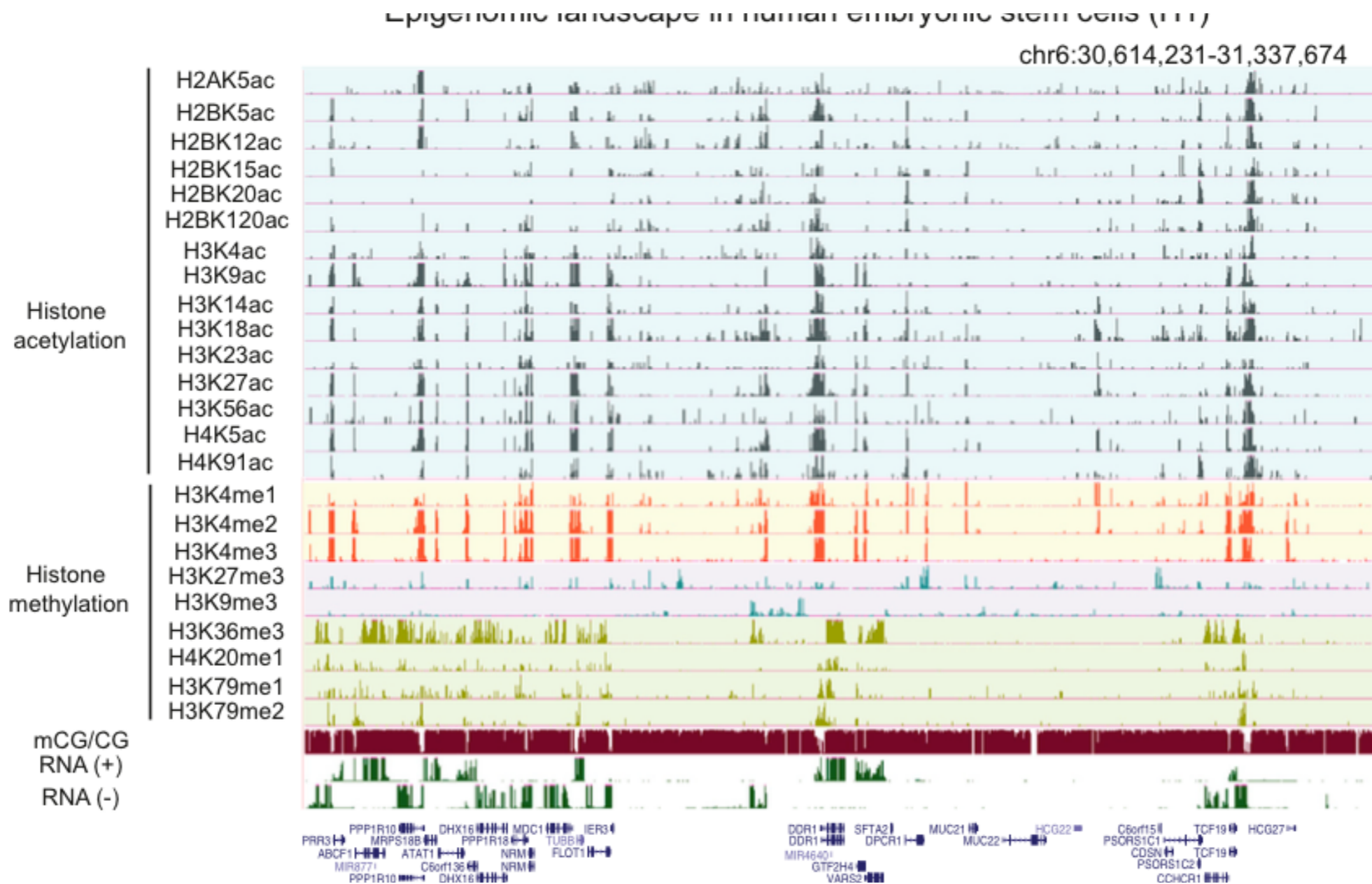
# ChIP-Seq



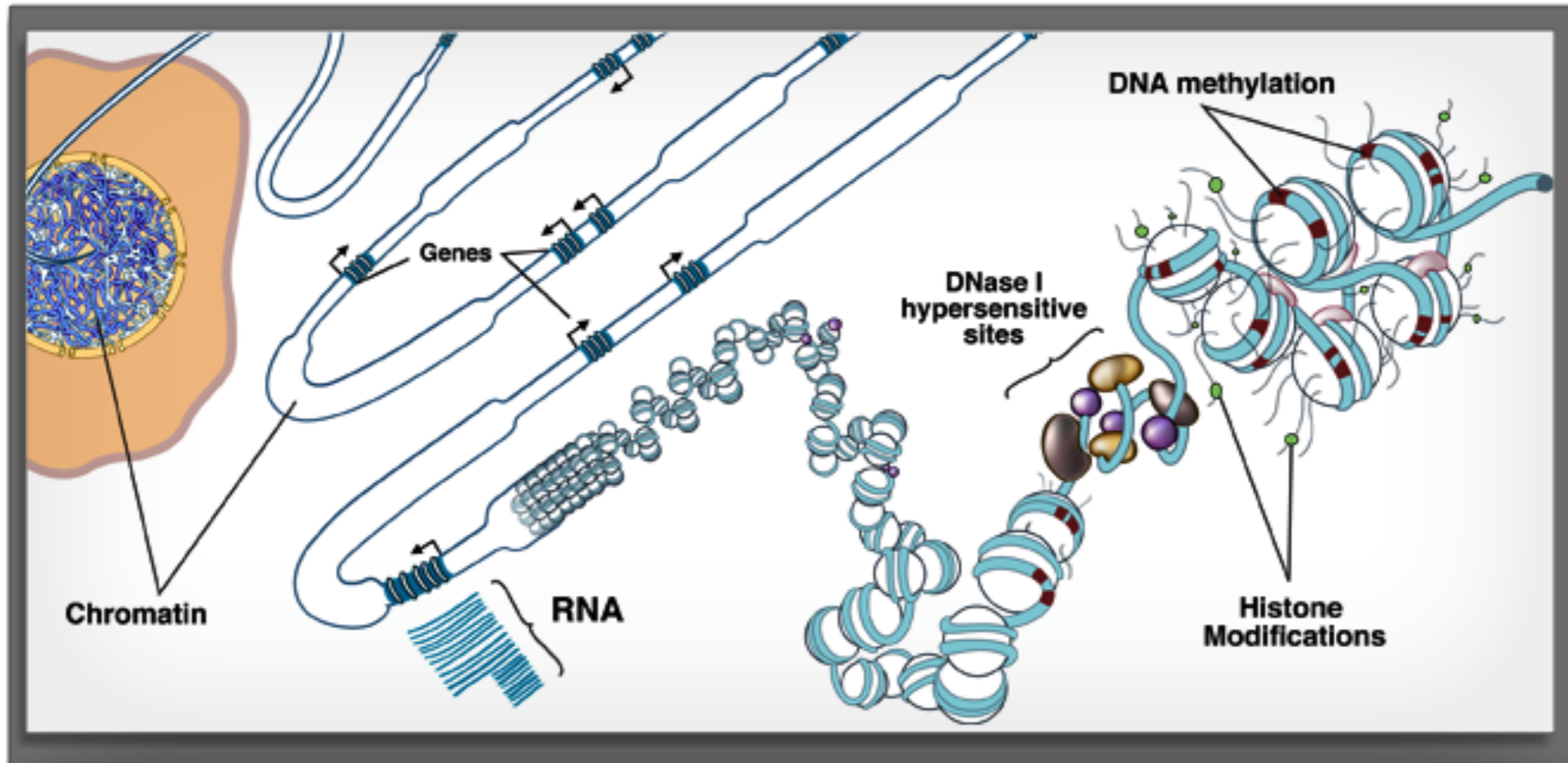
Immunoprecipitated DNA can be used for ChIP-PCR, ChIP-on-chip or ChIP-seq



# Histon modificaties op Chromatin niveau

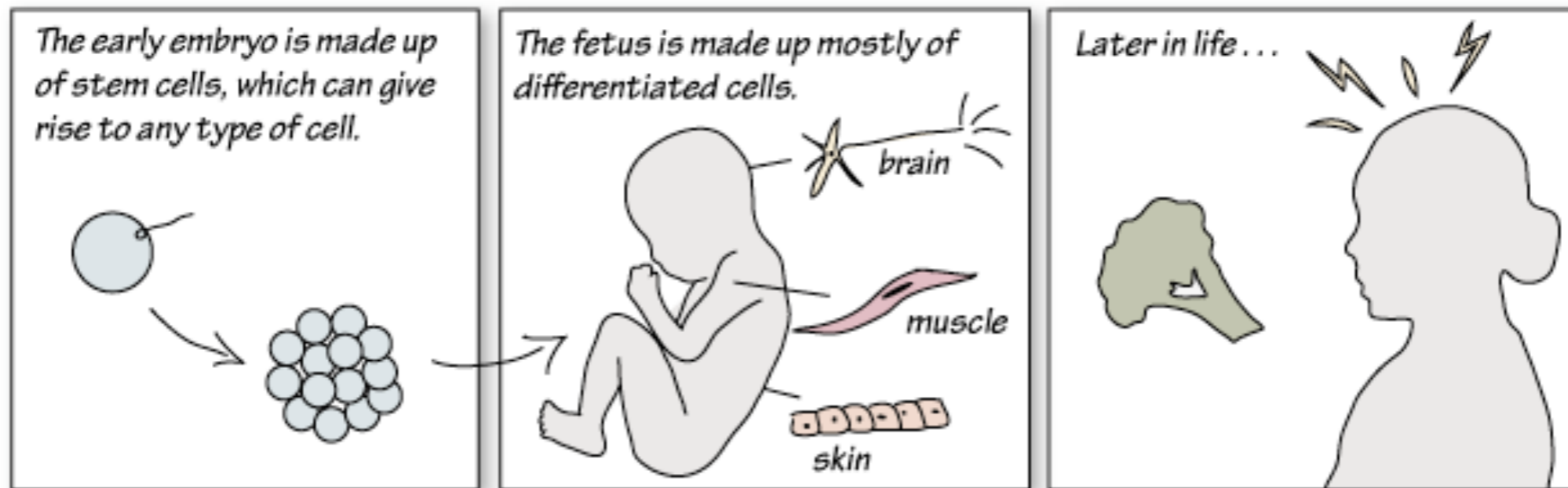


# Epigenomics Today



<http://www.roadmapepigenomics.org>

# Genoom en Genexpressie

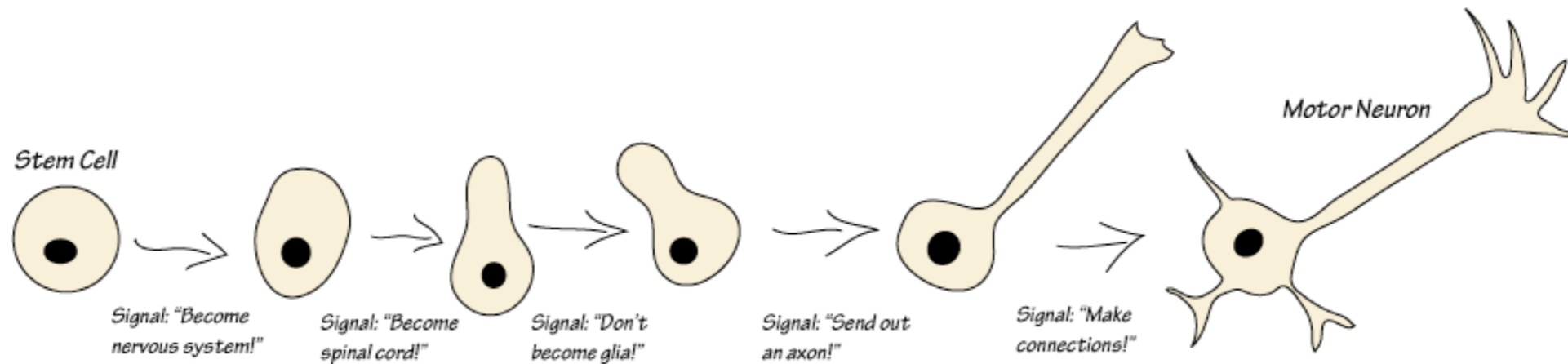


Early in development, genes are "poised" like runners in the starting blocks, ready to jump to action.

In a differentiated cell, only 10 to 20% of the genes are active. Different sets of active genes make a skin cell different from a brain cell.

Environmental signals such as diet and stress can trigger changes in gene expression. Epigenetic flexibility is also important for forming new memories.

# Genexpressie

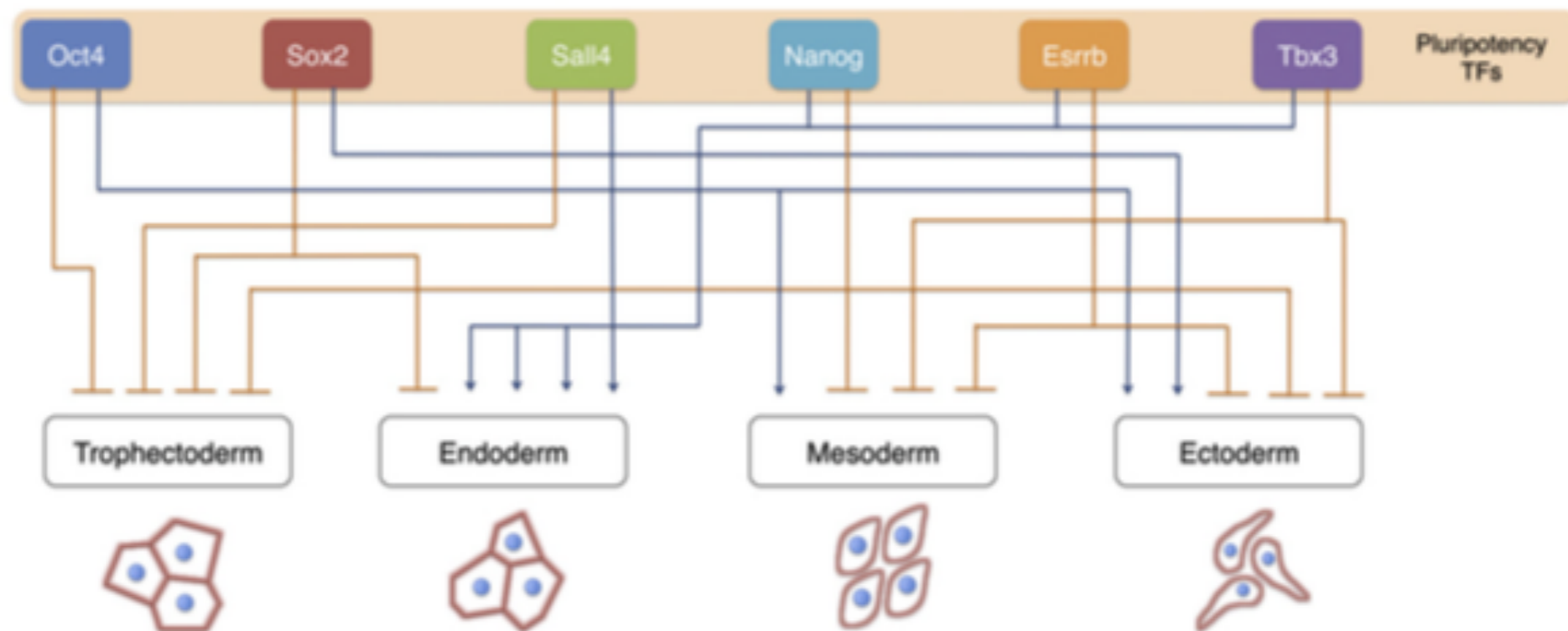


Epigenetische "labels" specificeren "cell memory"

Wijziging van de "labels" door stimuli verandert  
eenexpressie en celidentiteit

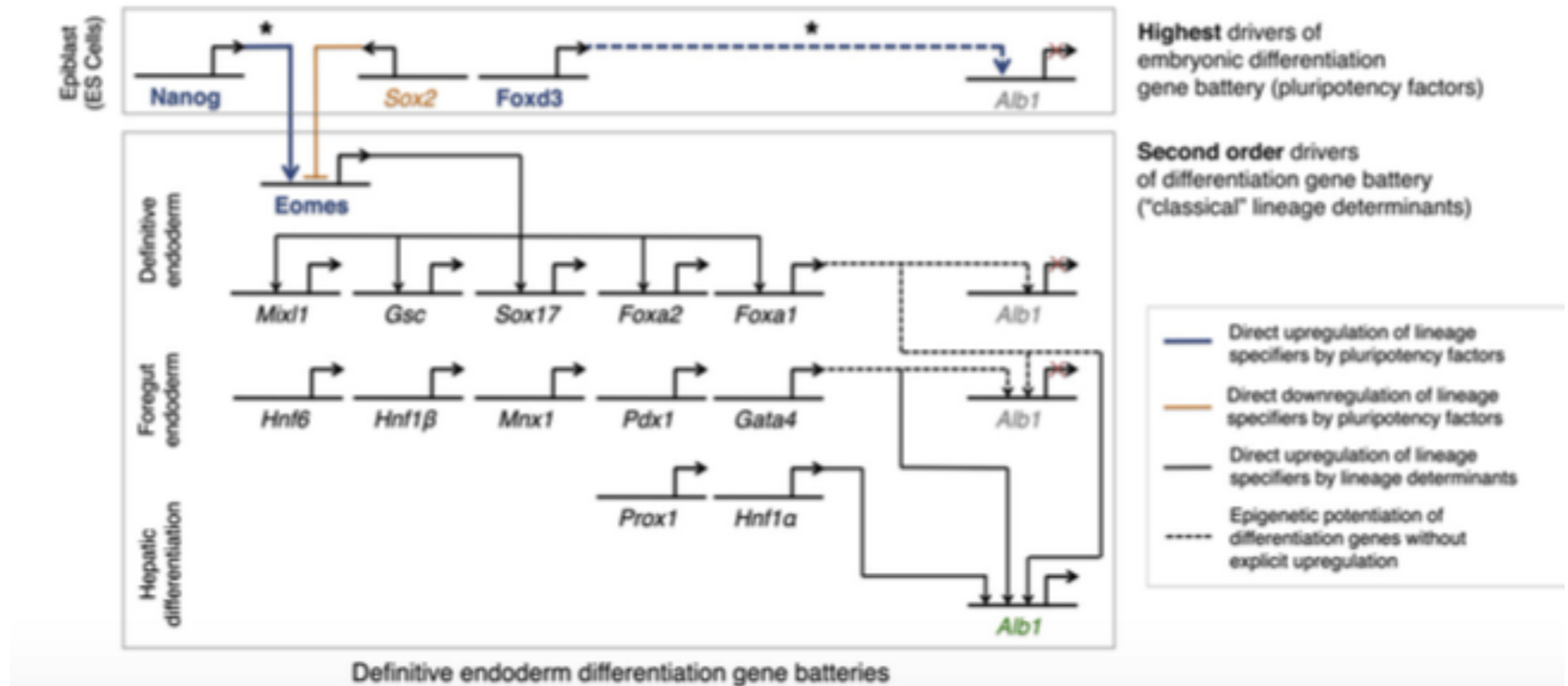
# A Precarious Balance

**A** A self-conflicted coalition of transcription factors supervises pluripotent cells



Onderzoek:WK

# Genregulatie gedurende de Embryonale Ontwikkeling



Creatie van een open genstructuur voor (in dit voorbeeld) het albumine gen in levercellen



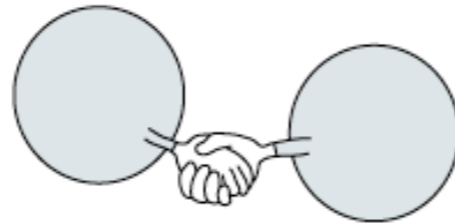
# Signalen

The epigenome changes in response to signals. Signals come from inside the cell, from neighboring cells, or from the outside world (environment).





# Typen Signalen



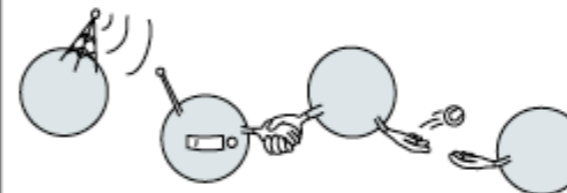
Cells can signal to their neighbors through direct contact. These signals are aimed with precision, like a hand shake. Signaling through direct contact is especially important during early embryonic development - for example, during early nervous system formation.



Some cells release factors that are taken in by nearby cells (or even by themselves). This kind of signaling is like tossing a ball. Many cells of the nervous system work this way, as do blood clotting signals.

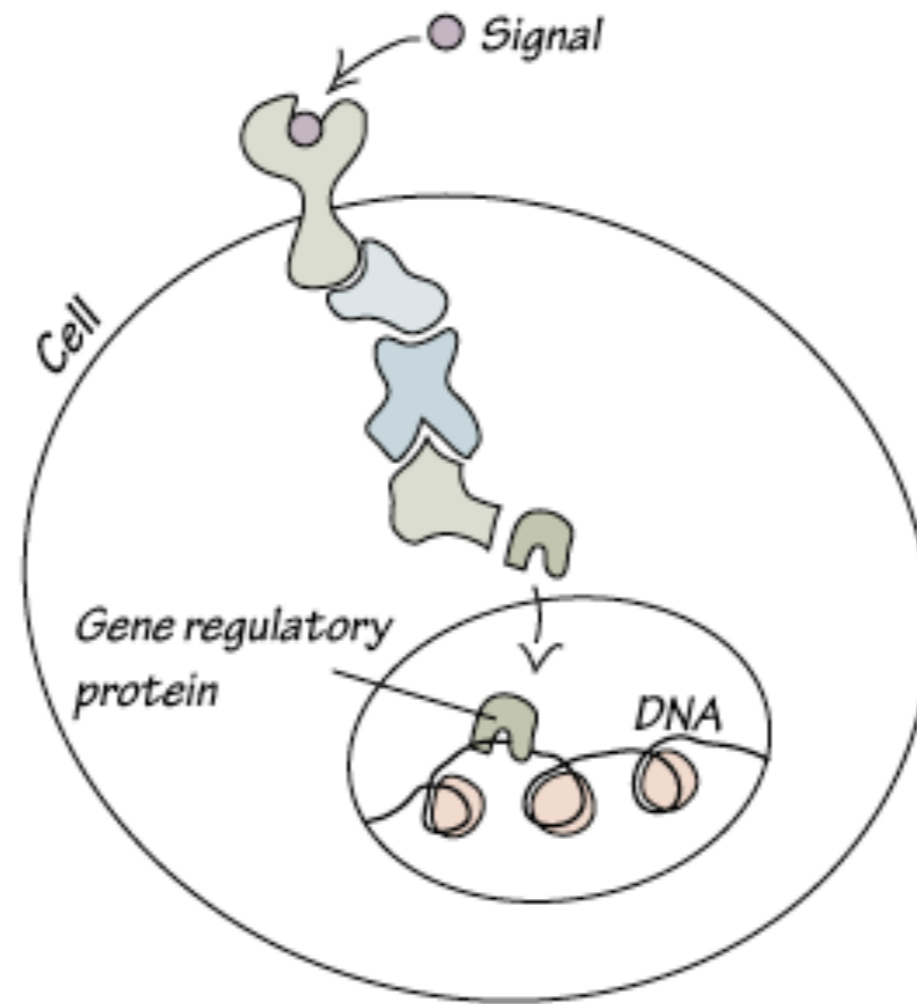


Hormone signals are released in one part of the body, then they travel through the blood stream to affect multiple cell types. Hormones are like radio signals. They are broadcast widely, and any cells that are tuned in can pick them up. Sex hormones and stress hormones work this way.



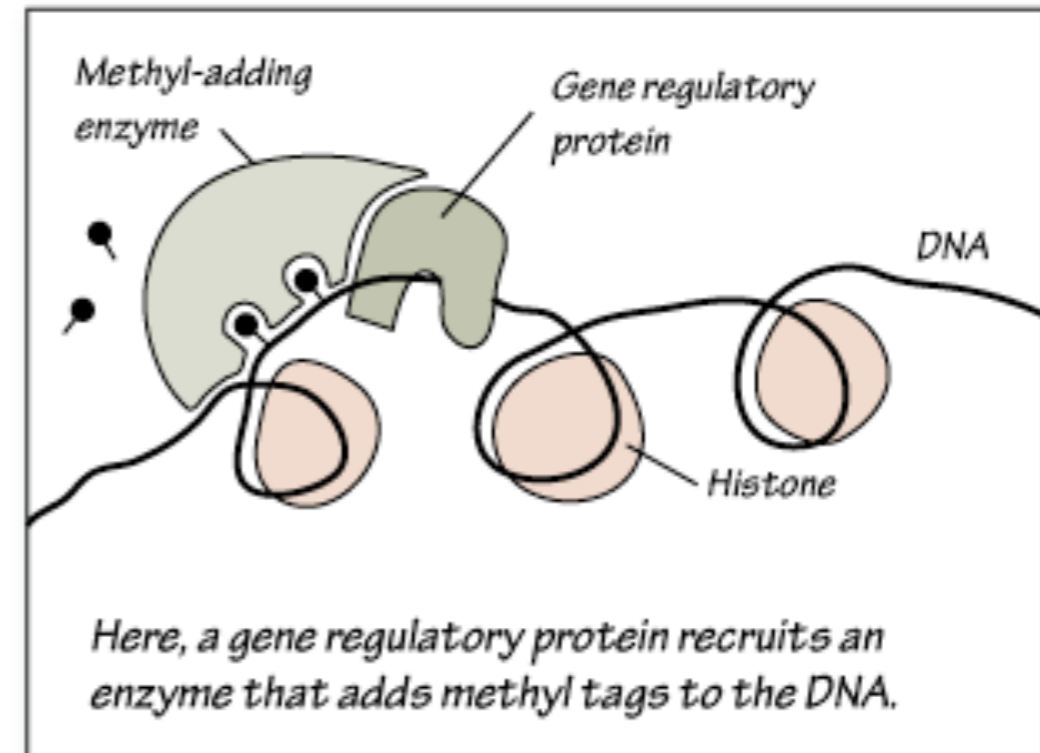
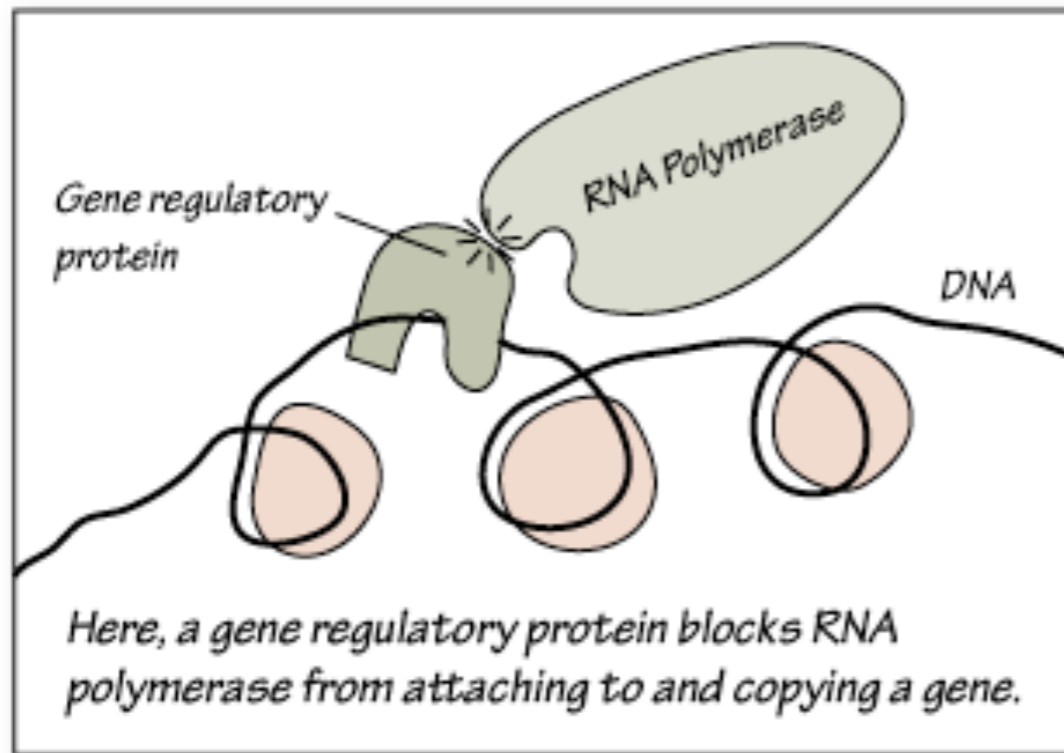
Environmental factors also reach the epigenome through cell signaling. Some signals are direct - things we eat are broken down and circulate through the body. Some are indirect - stress triggers an array of signals that move from cell to cell through the release of brain chemicals and hormones.

# Signaalverwerking

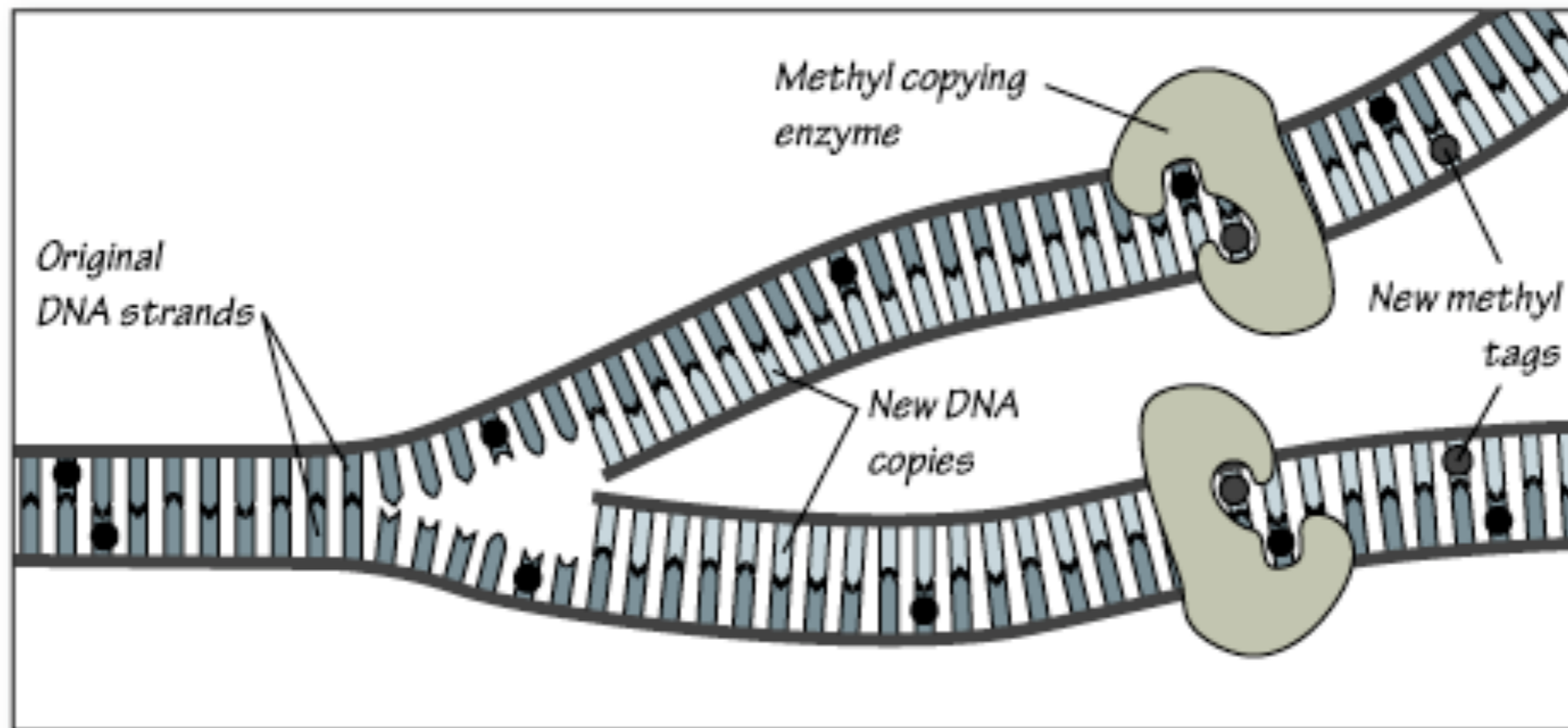


vgl estafette

# Transcriptie activatie



# Epigenetica en DNA replicatie



# The Epigenetics of Identical Twins

<http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/twins/>

# Conclusie

Het epigenoom wordt beïnvloed door  
omgevingsinvloeden zoals

Dieet

Toxinen

Inspanning

Stress

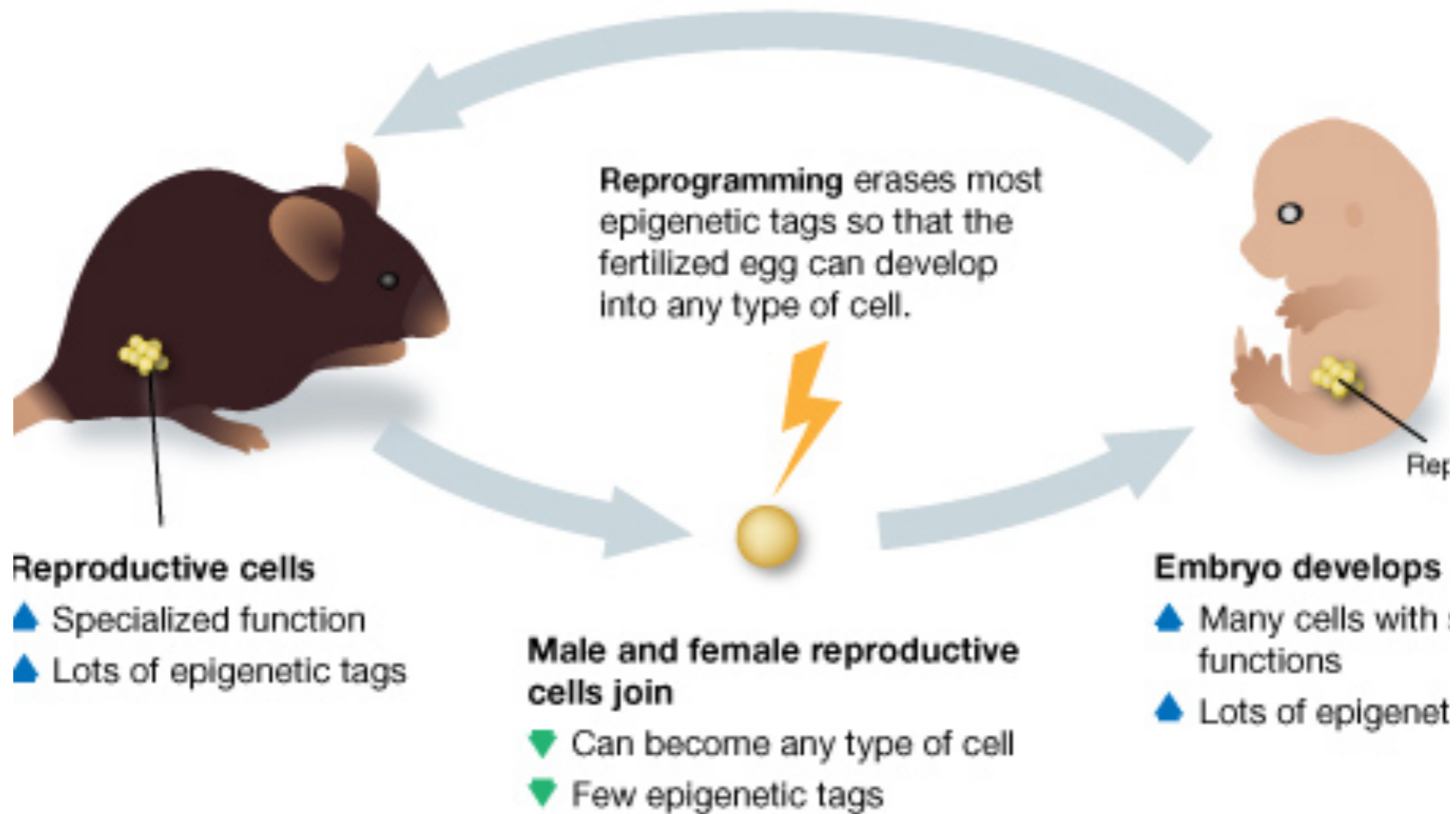
# Epigenetische Erfelijkheid

- In de klassieke **Mendeliaanse** genetica worden fenotypische kenmerken **alleen op basis van coderende eigenschappen van het DNA** aan volgende generaties doorgegeven
- Het veronderstelt dat **alle epigenetische labels worden gewist** bij doorgifte van het DNA aan de volgende generatie gewist.

**Echter,**

- Dit blijkt in een aantal gevallen niet zo te zijn en impliceert dat **bepaalde ervaringen aan een volgende generatie kunnen worden doorgegeven** op basis van **epigenetische modificaties**

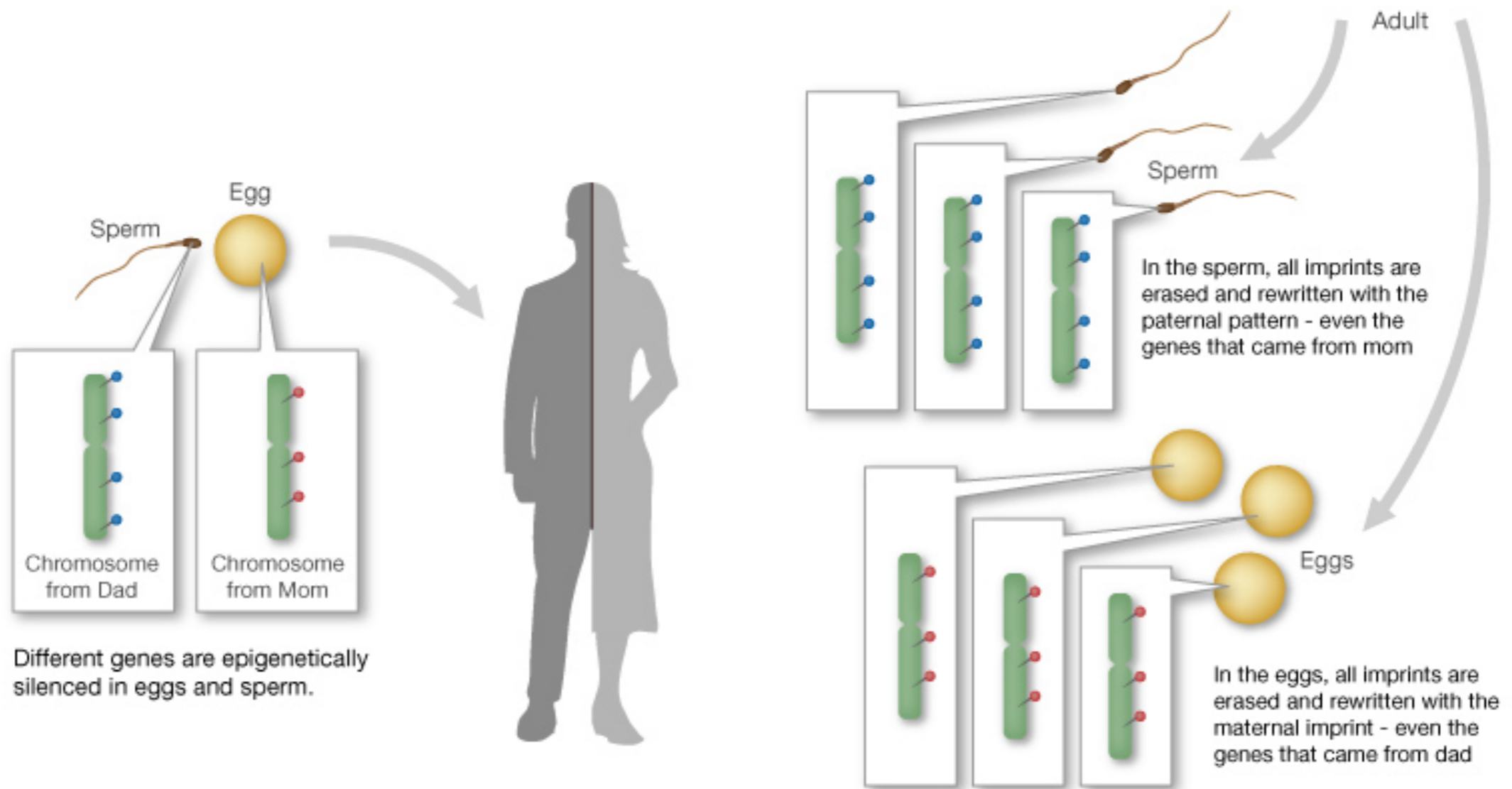
# Epigenetische Resetting



Bij ongeveer 1% van de genen worden de epigenetische labels niet volledig verwijderd  
Heet: Imprinting



# Imprinting



# Epigenetische Erfelijkheid

## Een aantal voorbeelden

IGF-2 imprinting en Beckwith-Wiedeman syndroom

Agressie en imprinting van Glucocorticoid Receptor

Imprintingi Agouti gen in muize embryo's door methyleren activerende voeding van de zwangere moeder

Opheffen demethylering van Agouti gen na blootstelling van aan bisphenolA

Toename diabetes en hartfalen gedurende meerdere generaties na een periode van paternale voedselschaarste

# Beckwith-Wiedeman Syndrome

Het IGF-2 gen wordt in eicellen materiaal geïnactiveerd door DNA methylering. In sperma is het IGF-2 gen niet gemethyleerd.

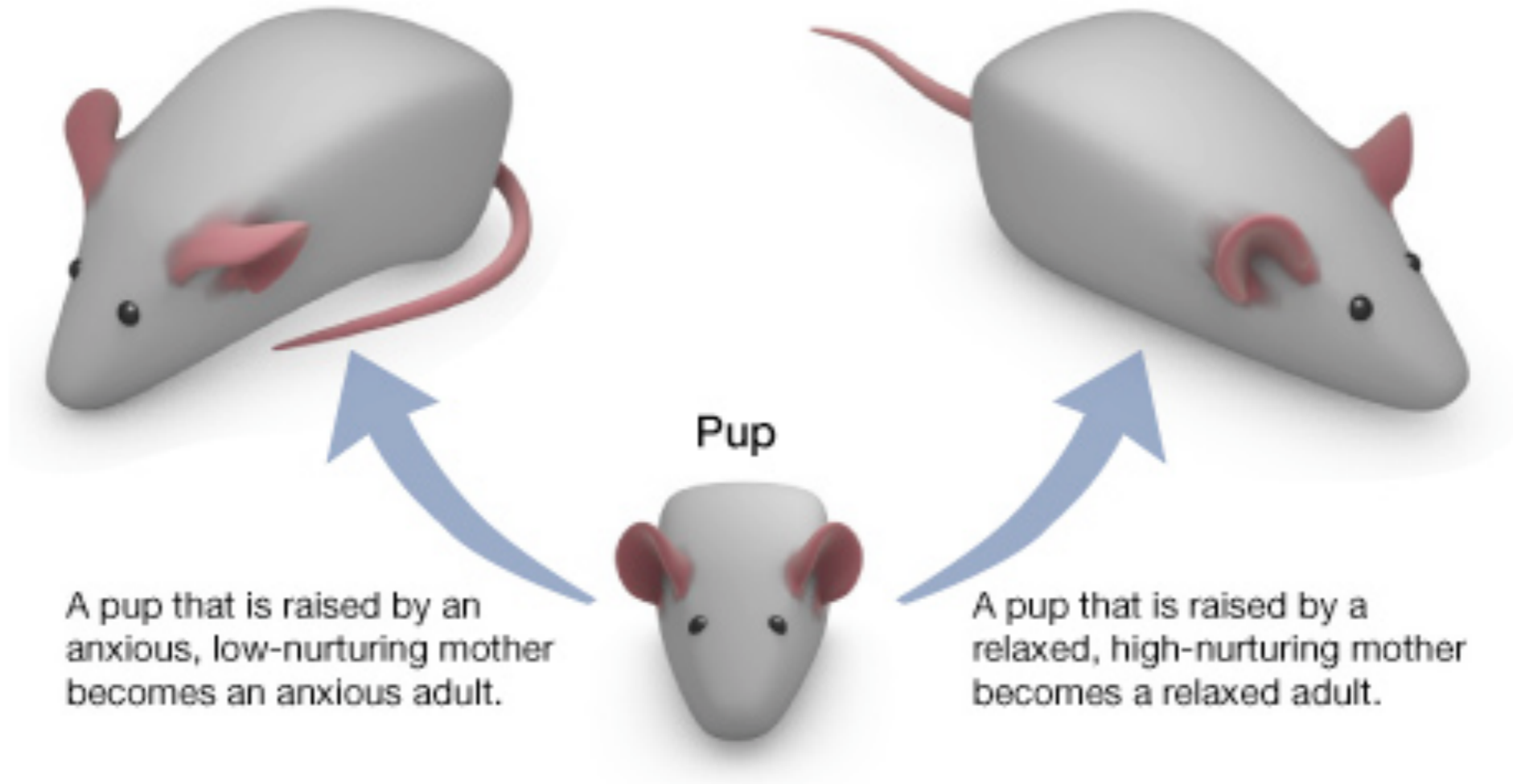
DNA mutatie of Epimutatie kan het IGF2 gen in eicellen activeren. Resultaat: 2 active IGF2 genen,.

Het extra IGF-2 resulteert in groeistoornissen van de foetus en een verhoogde gevoeligheid voor kanker in volwassenen.

Voorkomen: 1 op 15000 geboorten.

*Imprinted genes* zijn in principe single copy en derhalve meer gevoelig voor externe factoren zoals dieet, hormonen, toxinen en stress.

# Epigenetica van Gedrag

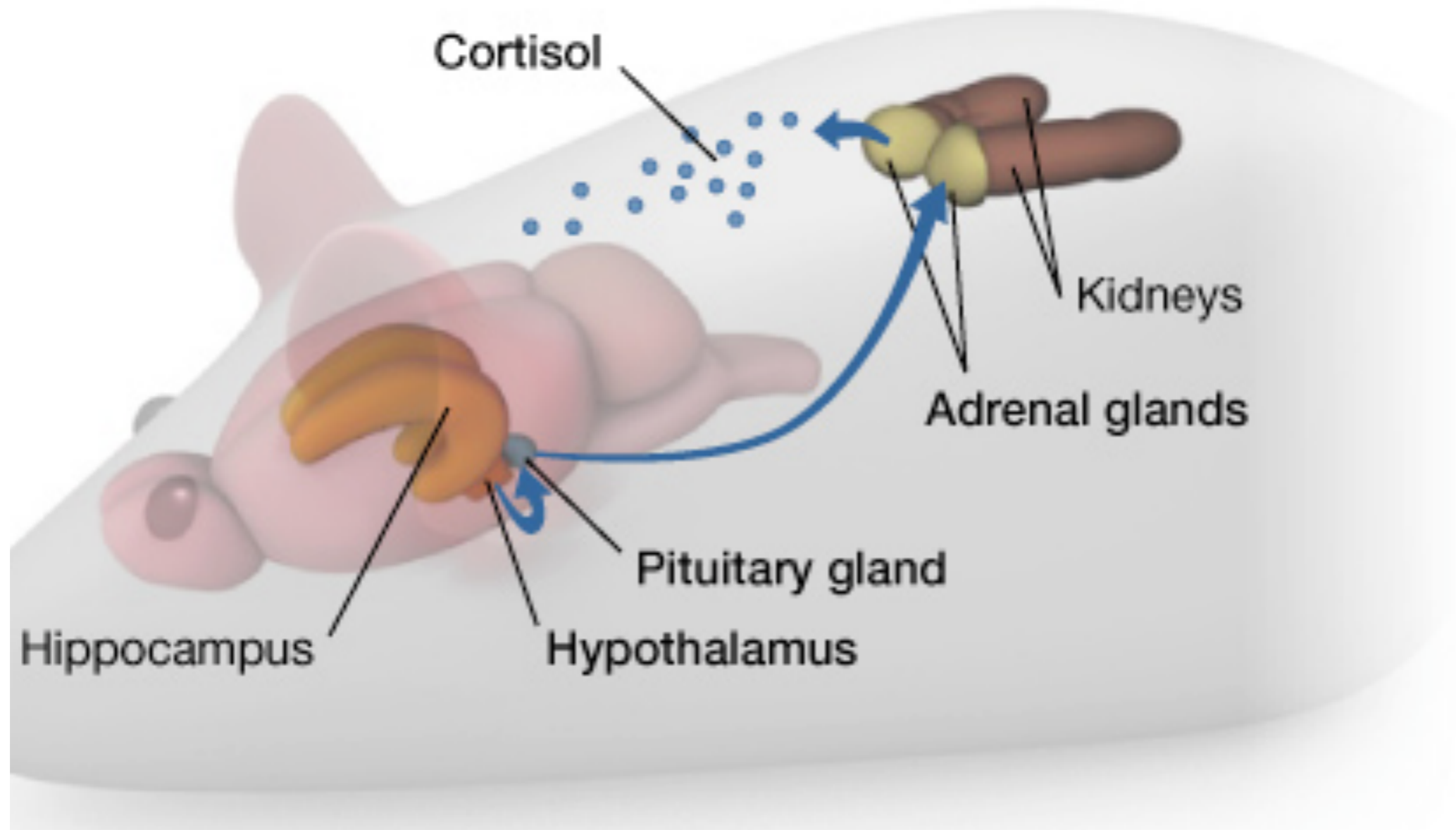


# Prof. Moshe Szyf



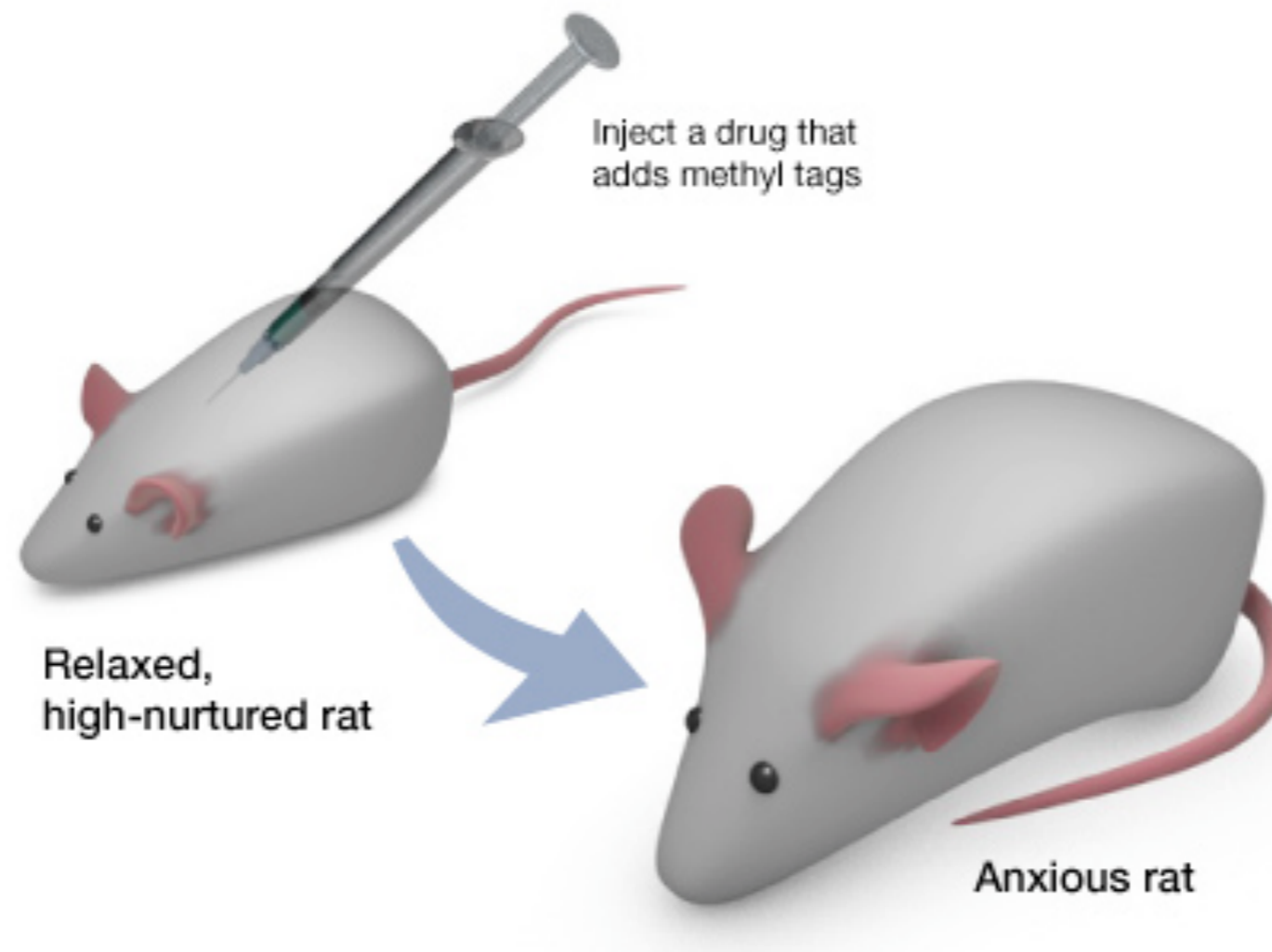
<http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/rats/szyf.mp4>

# HPA as



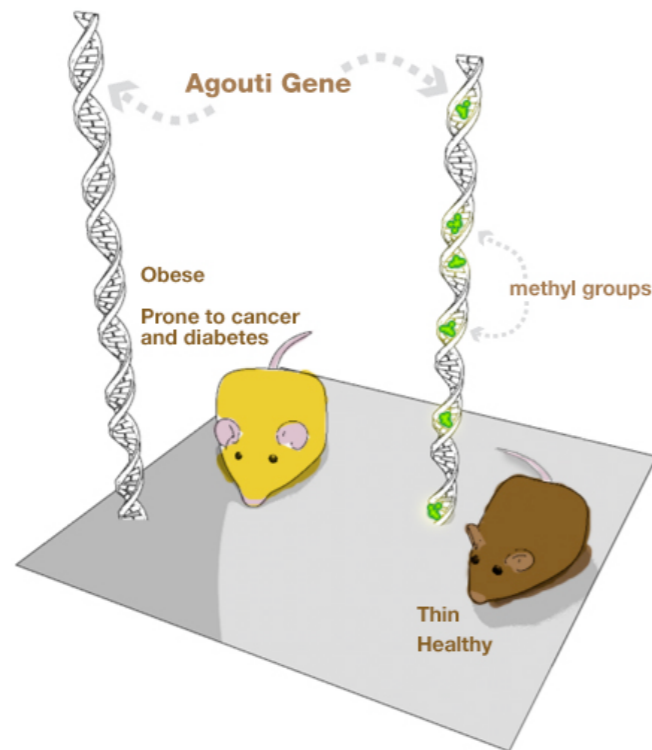
Cortisol

# Epigenetisch Patroon is Reversibel



Methylgroepen verwijderd\_GR expressie up\_Rat is relaxed!  
GR *de novo* gemethyleerd\_GR expressie down\_Rat is anxious

# Epigenoom en Voeding



Agouti muizen hebben een epigenetische mutatie waardoor het agouti gen niet wordt gemethyleerd

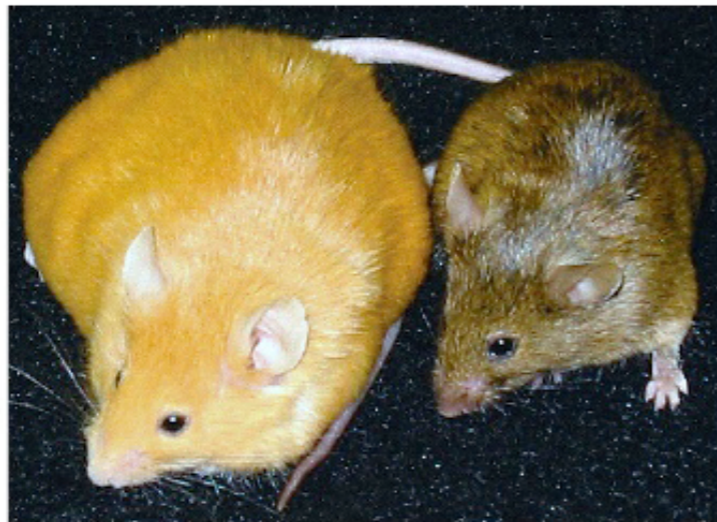
Zwangere agouti muizen op een methyl-groep rijk dieet krijgen nakomelingen met een donkere vacht en een normaal gewicht

Voeding beïnvloedt het epigenoom van de nakomelingen via de baarmoeder



# Toxinen, Supplementen en Epigenoom

These Two Mice are Genetically Identical and the Same Age



While pregnant, both of their mothers were fed Bisphenol A (BPA) but DIFFERENT DIETS:

The mother of this mouse received a **normal mouse diet**

The mother of this mouse received a diet **supplemented** with choline, folic acid, betaine and vitamin B12

Nutrient	Food Origin	Epigenetic Role
<b>Methionine</b>	Sesame seeds, brazil nuts, fish, peppers, spinach	SAM synthesis
<b>Folic Acid</b>	Leafy vegetables, sunflower seeds, baker's yeast, liver	Methionine synthesis
<b>Vitamin B12</b>	Meat, liver, shellfish, milk	Methionine synthesis
<b>Vitamin B6</b>	Meats, whole grain products, vegetables, nuts	Methionine synthesis
<b>SAM-e (SAM)</b>	Popular dietary supplement pill; unstable in food	Enzymes transfer methyl groups from SAM directly to the DNA
<b>Choline</b>	Egg yolks, liver, soy, cooked beef, chicken, veal and turkey	Methyl donor to SAM
<b>Betaine</b>	Wheat, spinach, shellfish, and sugar beets	Break down the toxic byproducts of SAM synthesis
<b>Resveratrol</b>	Red wine	Removes acetyl groups from histones, improving health (shown in lab mice)
<b>Genistein</b>	Soy, soy products	Increased methylation, cancer prevention, unknown mechanism
<b>Sulforaphane</b>	Broccoli	Increased histone acetylation turning on anti-cancer genes
<b>Butyrate</b>	A compound produced in the intestine when dietary fiber is fermented	Increased histone acetylation turning on 'protective' genes, increased lifespan (shown in the lab in flies)
<b>Diallyl sulphide (DADS)</b>	Garlic	Increased histone acetylation turning on anti-cancer genes

BP-A verhindert methylering van pups tijdens de zwangerschap

Voedingssupplementen die methylering stimuleren ingenomen tijdens de zwangerschap resulteren in een normale ontwikkeling

# Voedselschaarste en Paternale Epigenetische Effecten

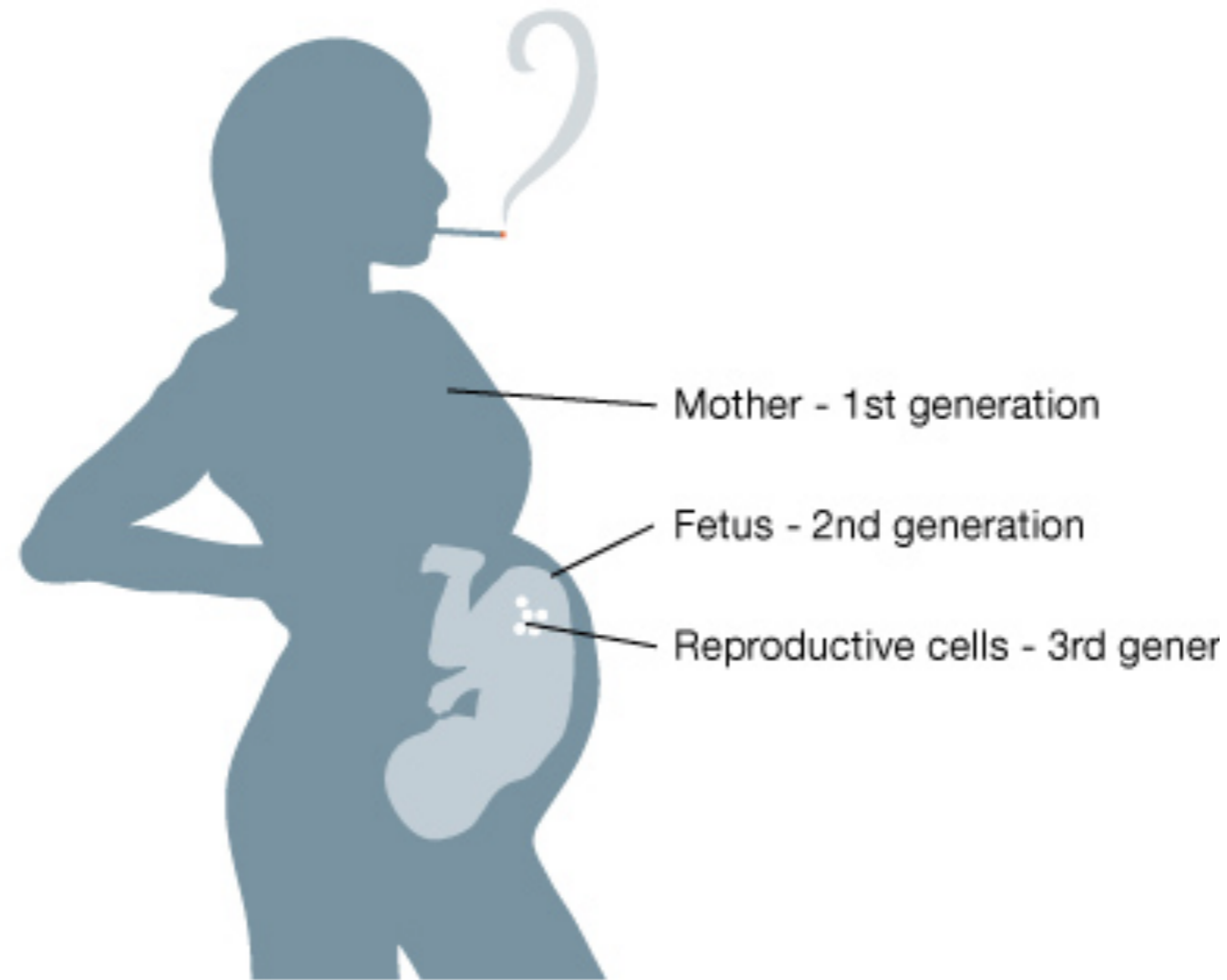


Food abundance for the grandfather was associated with a reduced lifespan for his grandchildren.

Een periode van voedselschaarste bij mannen is gekoppeld met een toegenomen levensverwachting van de nakomelingen in volgende generaties

Voedsel overvloed is gekoppeld een verlaagde levensverwachting ten gevolge van een toename van diabetes en hartziekten

# Epigenetische Erfelijkheid-2



Drie generaties worden tegelijkertijd blootgesteld aan omgevingsfactoren (dieet, toxines, hormonen, stress)

# Complexe bewijsvoering

De effecten moeten over meerdere (minimaal 4) generaties worden bekeken.

Als de omstandigheden wijzigen kunnen de epigenetische effecten ongedaan worden gemaakt.

De effecten van (stille) mutaties in DNA moeten worden uitgesloten.

# De Toekomst is Nu

## The Emerging Field of Nutrigenomics

As we better understand the connections between diet and the epigenome, the opportunity arises for clinical applications. Just as mapping our gene variations gives us a window into our personalized medical needs, so might a profile of one's unique epigenome.

Formed through a lifetime of experiences beginning in the womb, our epigenome may provide a wealth of information about how to eat better. Enter the future field of nutrigenomics, where nutritionists take a look at your methylation pattern and design a personalized nutrition plan. While we're not quite to that point yet, your doctor can already tell a lot about your disease risk by looking at your [family health history](#).

# Royal Jelly



In a series of experiments, scientists determined that royal jelly silences a key gene (*Dnmt3*), which codes for an enzyme that silences a group of queen genes. When *Dnmt3* is turned "on," the queen genes are epigenetically silenced, and the larvae develop into the default "worker" variety. But when royal jelly turns *Dnmt3* "off," the queen genes jump into action, turning the larvae into queens.

# Referenties

## References

- McGowan P.O., Meaney M.J., Szyf M. (2008). Diet and the epigenetic (re)programming of phenotypic differences in behavior. *Brain Research*, 1237: 12-24 (subscription required).
- Kaati G., Bygren L.O., Pembrey M., Sjöström M. (2007). Transgenerational response to nutrition, early life circumstances and longevity. *European Journal of Human Genetics*, 15: 784-790.
- Dolinoy D.C., Weidman J.R., Waterland R.A., Jirtle R.L. (2006). Maternal Genistein Alters Coat Color and Protects Avy Mouse Offspring from Obesity by Modifying the Fetal Epigenome. *Environmental Health Perspectives*, 114:567-572.
- Dolinoy D.C., Huang D., Jirtle R.L. (2007). Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *PNAS*, 104: 13056-13061.
- Kucharski R., Maleszka J., Foret S., Maleszka R. Nutritional Control of Reproductive Status in Honeybees via DNA Methylation (2008). *Science*, 319: 1827-1830 (registration required).

# Samenvatting

Omgevingsfactoren (dieet, toxinen, stress, voeding) beïnvloeden cellulaire processen via epigenetische modulatie van genexpressie. De effecten zijn in principe reversibel.

Onder invloed van dezelfde als bovengenoemde omgevingsinvloeden kunnen epigenetisch vastgelegde expressie patronen worden doorgegeven aan volgende generaties.



# Mogelijkheden voor Interventie?

Kunnen gerichte epigenetische interventies  
therapeutisch worden gebruikt?

Voor welke ziektebeelden/aandoeningen zijn gerichte  
interventies mogelijk?

Op beïnvloeding van welk(e) mechanism(en) zouden de  
interventies gericht kunnen/moeten zijn?

Welke onderzoeksmethoden zijn toepasbaar en kunnen  
de resultaten via de empirische cyclus worden getoetst?

# Mogelijke Targets

**Modificatie van DNA** door DNA methyl transferase (DNMTs)

**Modificatie van histonen** door methylering, acetylering, fosforylering, ubiquitylering

# DNMT's

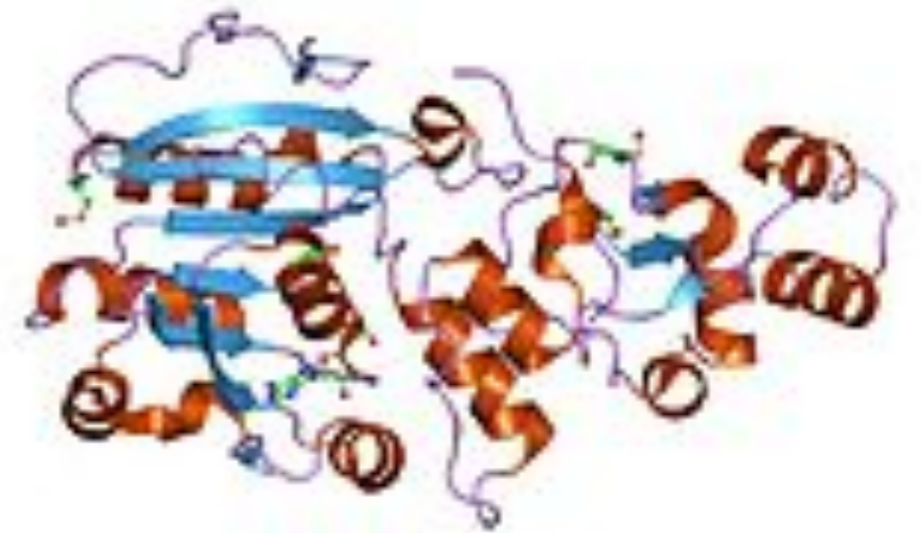
DNA methyl transferase (1,2,3)

Werkzaam als maintenance en/of *de novo* methylase

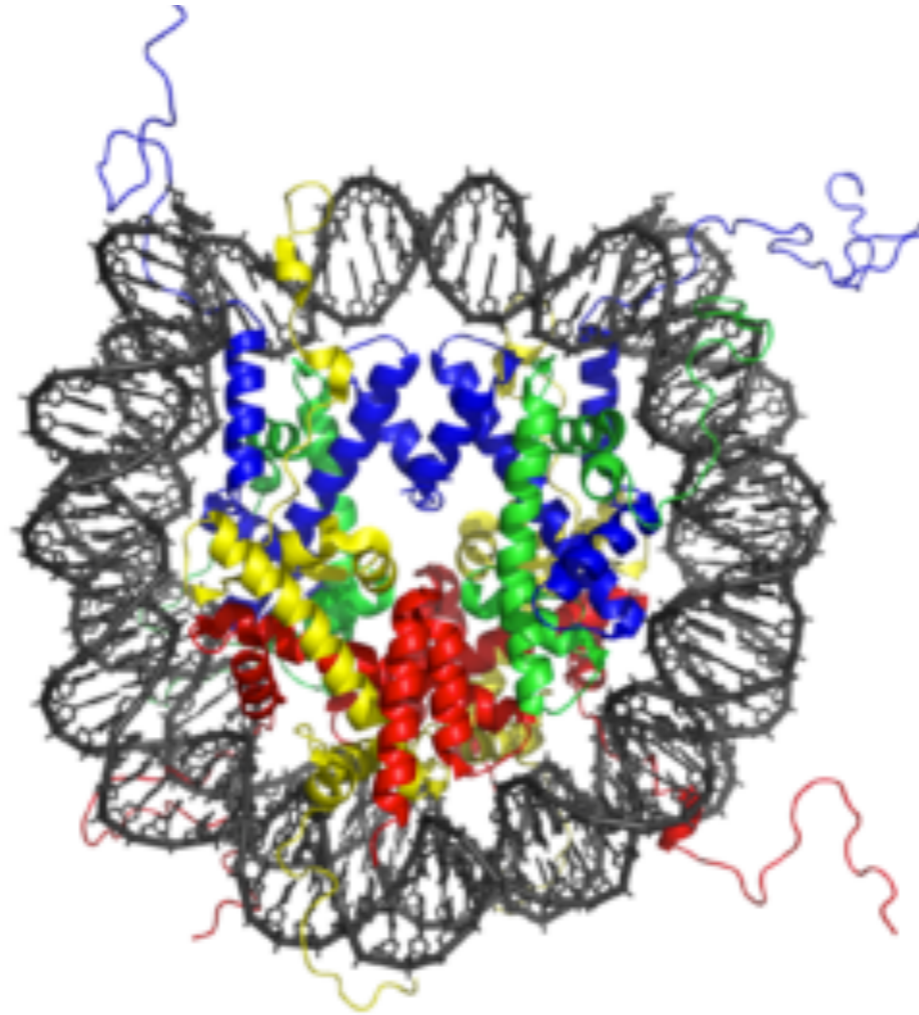
S-adenosylmethionine fungeert als co-factor

Choline, vitB6, vitB12 en foliumzuur spelen een rol bij de biosynthese

Inhibitoren van DNMTs worden getest bij leukemie (AML, CML, myelodysplasie)



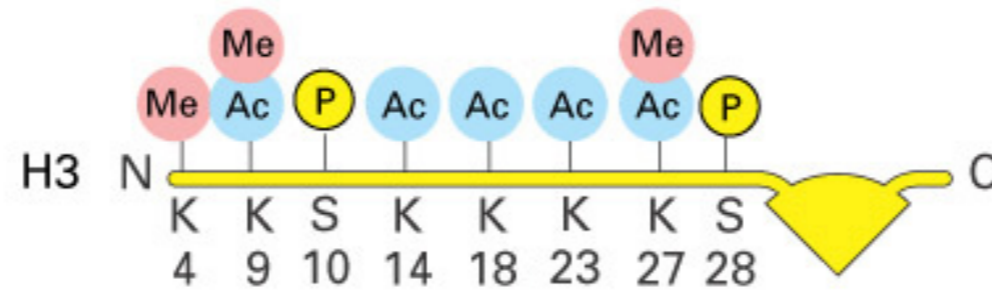
# Histon “Tails”



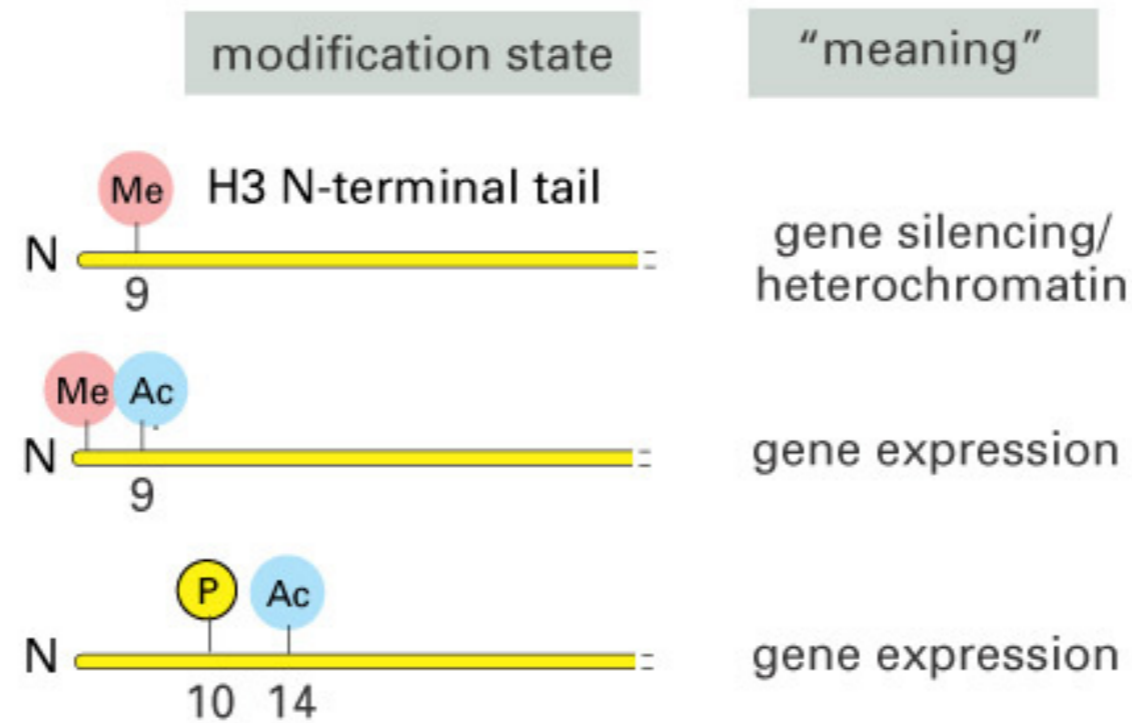
N-terminale aminozuren kunnen reversibel worden gemodificeerd volgens de histon code

# Histon Code

(A)



(B)



# Histon modificerende eiwitten

Acetylering en de-acetylering: HAT (histon acetyltransferase) en HDAC (histon deacetylase) / Sirtuins. Remmers waarvan reeds enkele klinisch in gebruik.

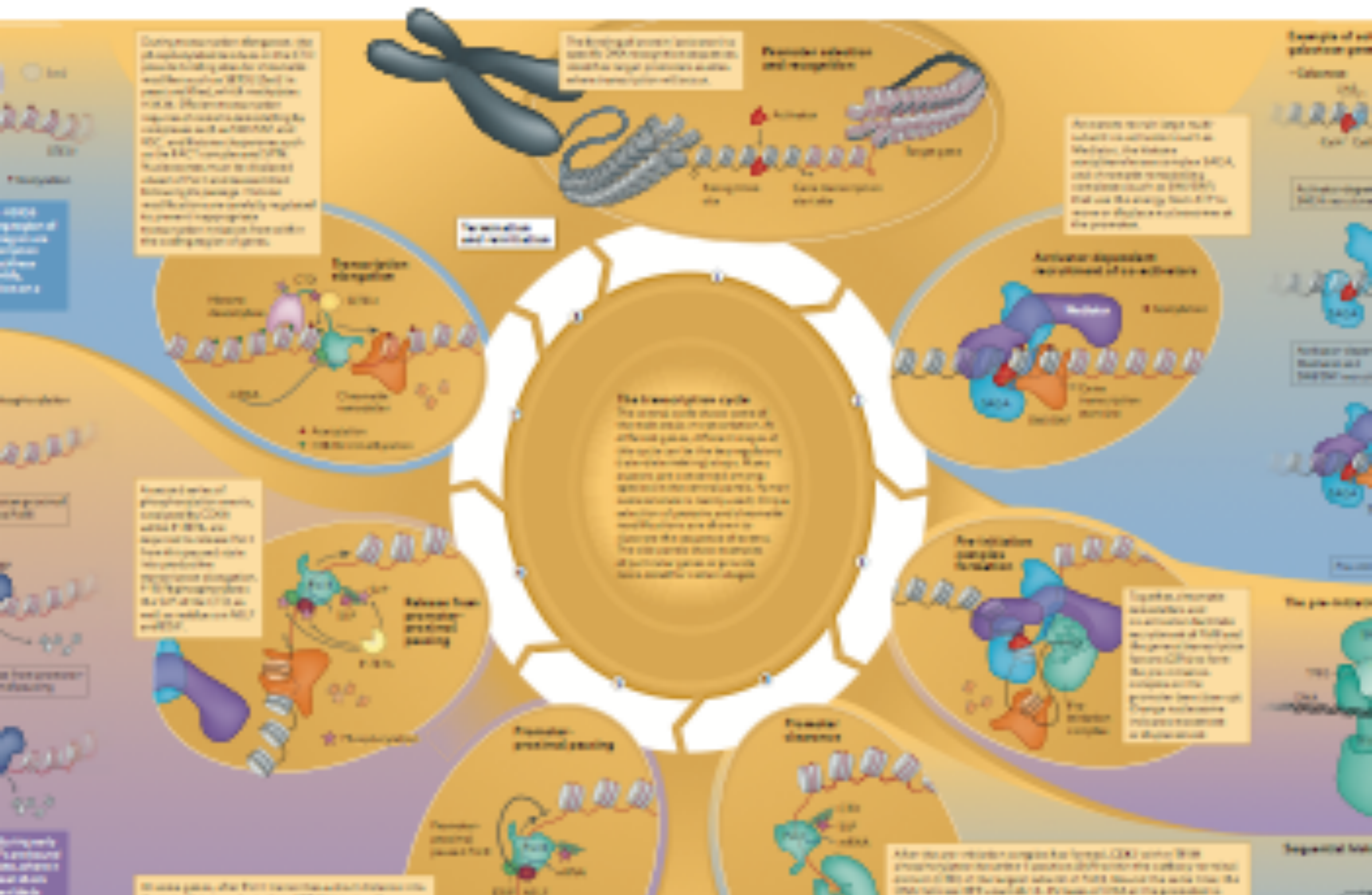
Methylering: Set protein complex. Remmers in ontwikkeling

Fosforylering: verschillende kinasen waaronder CCK7. Onderzoek lopend

Ubiquitylering: Rd6 en Bre1. Onderzoek lopend

Transcription by RNA polymerase II (Pol II) occurs in the context of chromatin within a eukaryotic cell. Chromatin is generally inhibitory to transcription, so a variety of mechanisms are required to activate transcription from a nucleosomal template. One of the first steps is that large co-activator complexes interact with small activator proteins to identify gene promoters that are ready to be transcribed. Nucleosome remodeling complexes that use energy from ATP to move or displace

nucleosomes from DNA facilitate the recruitment and assembly of these complexes on the promoter and enable rapid gene activation. Even during transcription elongation, nucleosomes must be removed for efficient passage of the polymerase. Furthermore, these same nucleosomes must be reassembled rapidly and modified appropriately following passage of the polymerase to prevent inappropriate initiation of transcription from promoter-like elements within the coding region.



Example of galactose promoter  
Galactose  
Gal4

Activator-dependent recruitment of co-activators  
Mediator

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Transcription elongation  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

Basal transcription machinery  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Activator-dependent recruitment of co-activators  
Mediator  
p300  
CBP

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

During transcription elongation, the RNA polymerase II (Pol II) moves along the DNA template, synthesizing RNA. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription. The basal transcription machinery includes RNA polymerase II, TFIID, TFIIB, TFIIE, TFIIH, and TFIIA. Co-activators include Mediator, p300, and CBP. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription.

The binding of protein complexes to the DNA template is essential for transcription initiation. These complexes include the basal transcription machinery and co-activators. The basal transcription machinery includes RNA polymerase II, TFIID, TFIIB, TFIIE, TFIIH, and TFIIA. Co-activators include Mediator, p300, and CBP. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription.

Activator proteins bind to enhancer elements and interact with the basal transcription machinery and co-activators to initiate transcription. Activator proteins include MyoD, MyoE, and MyoF. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription.

The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription. The basal transcription machinery includes RNA polymerase II, TFIID, TFIIB, TFIIE, TFIIH, and TFIIA. Co-activators include Mediator, p300, and CBP. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription.

Activator-dependent recruitment of co-activators  
Mediator  
p300  
CBP

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Transcription elongation  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

Transcription elongation  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

Transcription and initiation  
The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription. The basal transcription machinery includes RNA polymerase II, TFIID, TFIIB, TFIIE, TFIIH, and TFIIA. Co-activators include Mediator, p300, and CBP. The basal transcription machinery and co-activators interact with the promoter to initiate transcription.

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

The transcription cycle  
The central cycle shows some of the main steps in transcription. In addition to the steps shown in the diagram, many factors are involved in many steps. Some factors are involved in many steps. Some factors are involved in many steps.

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

Activator-dependent recruitment of co-activators  
Mediator  
p300  
CBP

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Sequential steps

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

Activation complex formation  
TFIID  
TFIIB  
TFIIE  
TFIIH  
TFIIA

Promoter clearance  
RNA polymerase II  
TFIID  
TFIIB

Sequential steps

# The Future is Now

Vele mogelijke targets voor interventie voor een groot aantal mogelijke condities via epigenetische modulatie van genexpressie

Analyse van het epigenoom kan worden ingezet om de effectiviteit van nieuwe middelen op werkzaamheid te analyseren



# Samenvatting en Discussie

Deel III

# Vragen en Discussie

Deel III

Epigenetics makes you unique: Courtney Griffin @ TEDxOU

**TEDx**



<http://blog.tedx.com/post/24637051324/epigenetics-makes-you-unique-courtney-griffin>

Einde