



## Epigenetik

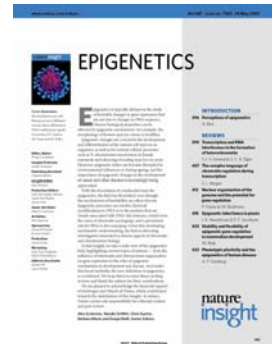
(Mittwoch 08.06.2011, 15:15-16:00 Uhr)

Prof. Dr. Bernhard Zabel  
Sektion Pädiatrische Genetik - ZKJ Freiburg



## Epigenetischer Code

(„zusätzlich“ zum  
Genetischen Code)



- ⊗ Epigenetik bezeichnet die Vererbung von Informationen über chemische Modifikationen des Genoms nicht durch Veränderungen der DNA-Sequenz

## Hereditary information

Cellular inheritance      Transgenerational inheritance

- ⊗ DNA sequence, highly stable
- ⊗ Epigenetic inheritance systems, bistable

## Genetik und Epigenetik

### Genetik

- ⊗ DNA-Sequenz ergibt genetischen Code
- ⊗ Organisation der DNA in Gene und regulatorische Sequenzen
- ⊗ Veränderung der DNA-Sequenz durch Mutationen
- ⊗ Vererbung als Informationsweitergabe an nächste Generationen

## Genetik und Epigenetik

### Epigenetik

- ⊗ Epigenetischer Code (unabhängig von der DNA-Sequenz)
- ⊗ Regulation der Aktivität von Genen über den Organisationszustand der DNA (Chromatinstruktur)
- ⊗ Vererbung von Informationen über chemische Modifikationen des Genoms (nicht durch Veränderungen der DNA-Sequenz)
- ⊗ Dadurch Einfluss u.a. der Umwelt auf vererbte Informationen und die individuelle Ausprägung von Merkmalen (Phänotyp)

**Epigenetik:** vererbare Veränderungen der Genregulation ohne direkte Veränderung der DNA-Sequenz

Betrifft:



**Entwicklung**



**Gewebe-spezifische Genexpression**

**Anpassung an Umweltfaktoren**



**Gedächtnis**

**Altern**

**Krankheiten (Diabetes, Alzheimer)**

**Krebsentstehung**



nach C. Gerhäuser 2010, dkfz.

## Mechanismen der epigenetischen Regulation

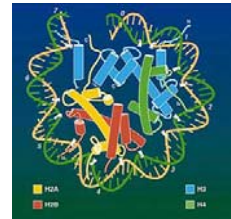
- Regulation der Chromatinstruktur u.a. durch Histon-Modifikationen
- DNA-Methylierung
- Regulation durch DNA-bindende Proteine (z.B. der Polycomb-Gruppe)
- Mikro-RNA gesteuerte Prozesse

## Histon-Modifikationen

### Histon-Acetylierungen

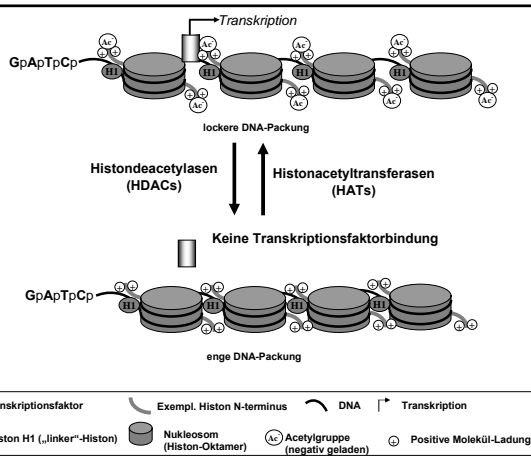
- Gesetzt durch **Histon-Acetyltransferasen (HATs)**.

führt zu gelockter Chromatinstruktur und **transkriptioneller Aktivierung**



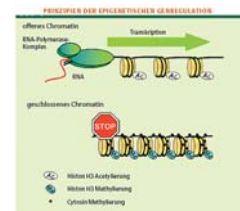
- Entfernt durch **Histon-Deacetylasen (HDACs)**.

Histondeacetylierung führt zu einer positiven Histonladung und damit zur Chromatin-Kondensierung mit **transkriptioneller Inaktivierung** aufgrund geringerer Transkriptionsfaktor-Bindungsmöglichkeiten durch festere Bindung der negativ geladenen DNA an die Histone.



### Histon-Phosphorylierungen

- Gesetzt durch **Histon-Kinasen**
- Entfernt durch **Histon-Phosphatasen**



### Histon-Methylierung

**Stabilste Form der epigenetischen Nucleosomenveränderungen.**

- Gesetzt durch **Methyl-Transferasen** (z.B. SET Domäne Proteine)
- Entfernung nicht ohne weiteres möglich, evtl. durch **Histon-Demethylasen**

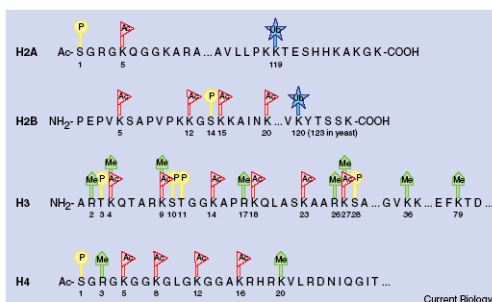
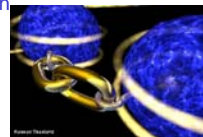
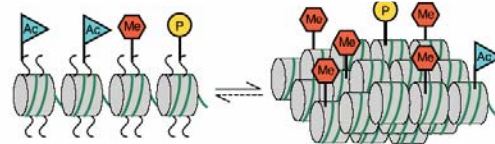


Figure 1. Post-translational modifications of the core histones. The colored shapes represent known post-translational modifications of the core histones. The histone tails can be methylated at lysines and arginines (green pentagons), phosphorylated at serines or threonines (yellow circles), ubiquitylated (blue stars) and acetylated (red triangles) at lysines.

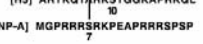
### Euchromatin

### Heterochromatin



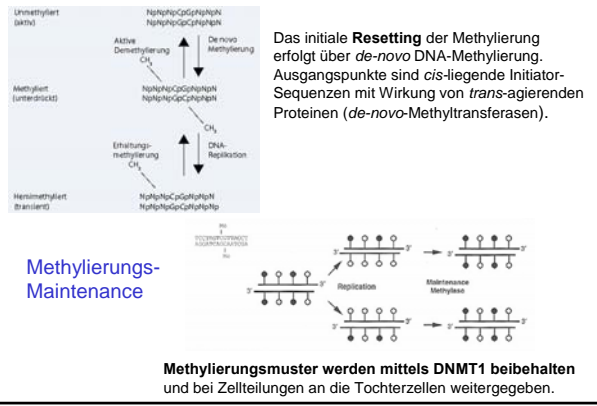
aktiv / zugänglich

inaktiv / kondensiert





## DNA-Methylierung



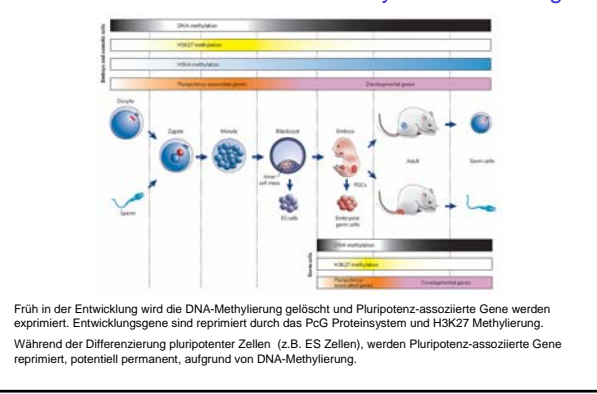
## Methylierungsanalyse mittels Bisulfit

Nicht methyliertes C durch Bisulfit-Behandlung in U umgewandelt, das wie T gelesen wird.

## Bedeutung der DNA-Methylierung

- Bei Säugern vor allem an CpG Dinukleotiden
- Involviert in viele Schlüsselfunktionen des Genoms
  - Imprinting
  - X Chromosom-Inaktivierung
  - Erhaltung der Genomstabilität
  - Silencing von Retrotransposons
  - Inaktivierung von Genen in Tumoren
- Regulation der embryonalen Genexpression

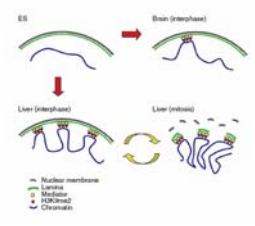
## Methylierungs- / Demethylierungs-Prozesse während der Keimzell- und Embryonalentwicklung



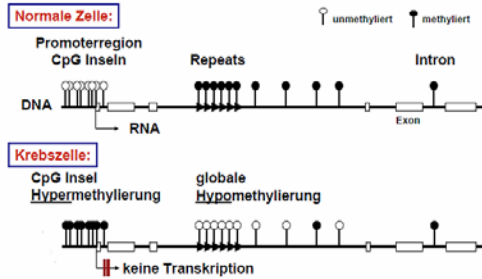
nature genetics Feb.2009

Large histone H3 lysine 9 dimethylated chromatin blocks distinguish differentiated from embryonic stem cells

Bo Wen<sup>1,2</sup>, Hao Wu<sup>1,3</sup>, Yoichi Shinkai<sup>4</sup>, Rafael A Irizarry<sup>1,3</sup> & Andrew P Feinberg<sup>1,2</sup>



# DNA-Methylierung und Krebsentstehung



nach C. Gerhäuser 2010, dkfz.

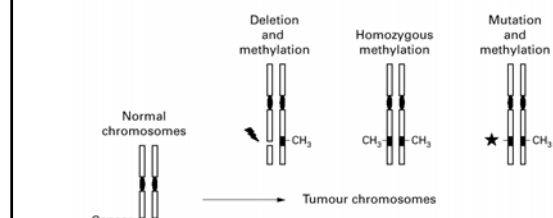
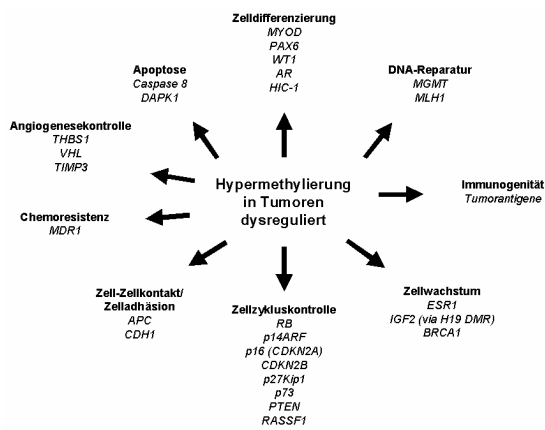
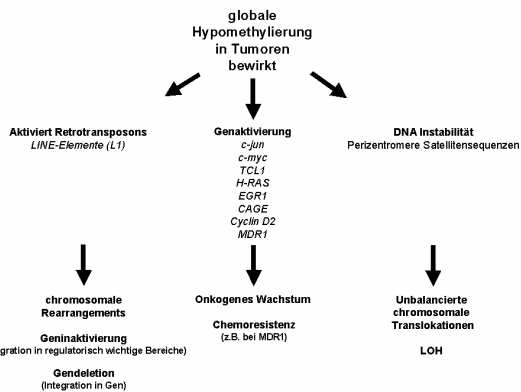
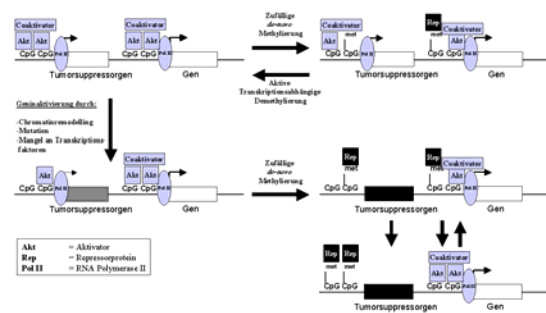


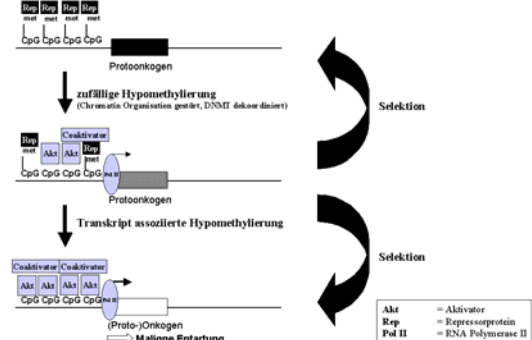
Figure 1 Genetic and epigenetic mechanisms that inactivate cancer genes. The mechanisms can act alone or in various combinations to cause biallelic inactivation of a cancer gene.



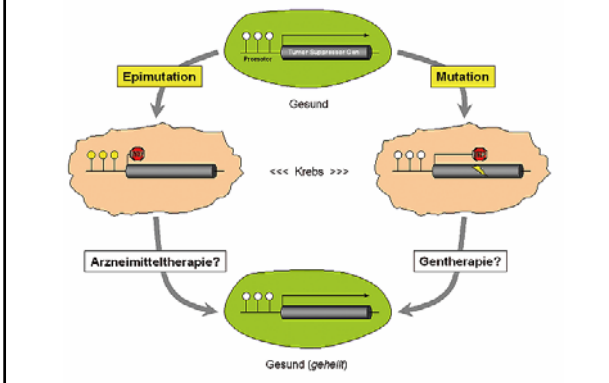
## Hypermethylierungsmodell



## Hypomethylierungsmodell

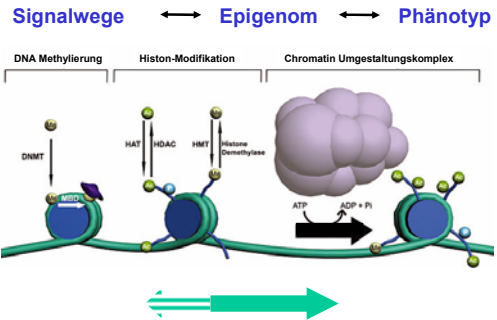


## DNA-Methylierung und Krebsentstehung

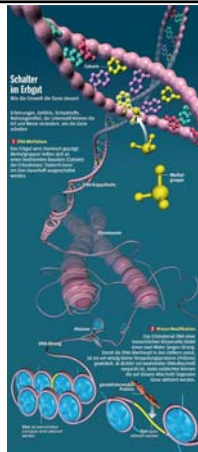


## Auswirkungen eines dynamischen Epigenoms

Hereditäre Faktoren / Soziale und Physikalische Umwelt



## Wie die Umwelt die Gene steuert



### Das Gedächtnis des Körpers

Sind Gelassenheit, Übergewicht, Intelligenz und Langlebigkeit angeboren? Genbefunde nähren den Glauben an die Allmacht der Biologie. Doch nun zeigt sich, wie sehr Umwelteinflüsse die Erbanlagen verändern: Die Gene steuern uns – aber auch wir steuern die Gene, durch unseren Lebensstil



## Einfluss auf DNA-Methylierung

Agouti Maus  
mutiertes Agouti Gen ( $A^{vy}$ )

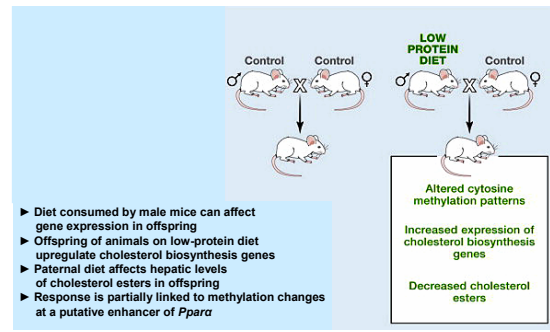


- mutierte Version des Agouti Gens ( $A^{vy}$ ):
- gelbe Fellfarbe
  - Veranlagung für Adipositas und Diabetes
  - erhöhte Krebsanfälligkeit
  - Expression wird durch DNA Methylierung gesteuert



Cell 2010

## Paternally Induced Transgenerational Environmental Reprogramming of Metabolic Gene Expression in Mammals



## Epigenetik- / Imprinting-Störungen

Ein überlieferter Witz von Sir Bernard Shaw:

He is reported to have encountered a young starlet who coos:  
"My looks and your brains, we could make wonderful children"

Sir Bernard Shaw responds:

"What if they had my looks and your brains?"

→ Die beiden elterlichen Allele sind nicht gleichwertig



**Mauesel**                      **Maultier**  
Esel x Hengst              Stute x Esel  
Anm: Diese Hybriden sind steril

## Genomisches Imprinting

### Definition:

Genomisches Imprinting ist die epigenetische Modifikation (z.B. via DNA-Methylierung), die zur Inaktivierung einer Kopie eines Gens in somatischen Zellen führt und die damit die monoallelische Expression eines Gens aufgrund seiner elterlichen Herkunft beschreibt (Surani, 1984).

Imprintete Gene finden sich in Gruppen/Clustern

## Genomisches Imprinting

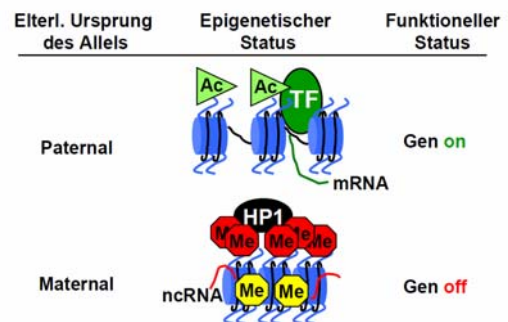
### Imprinting ist nicht gleichzusetzen mit Epigenetik!

In imprintenten Genombereichen (ca. 50-100) werden Gene – in bestimmten Geweben und zu definierten Zeiten- nur von einem definierten elterlichen Allel transkribiert.

Ein **Allel-spezifisches Imprinting** wird dabei mittels **cis regulatorischer Elemente** vermittelt.

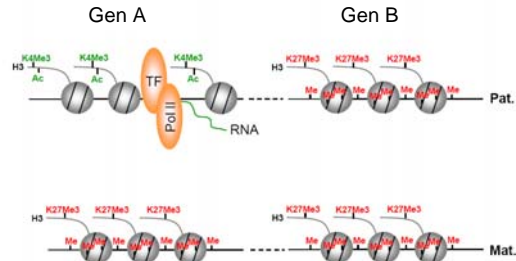
**Differentiell/allelspezifisch methylierten Regionen** (DMRs). Eine Methylierung eines DMR Allels wird **während der Gametogenese mittels DNMT3L etabliert**, einem Protein mit Homologie zu den *de-novo* Methyltransferasen DNMT3A und DNMT3B aber ohne deren enzymatische Aktivität.

Neben den bereits geschilderten Effekten einer DNA-Methylierung kann man bei imprinteten Genen auch weitere Einflüsse der Methylierung und/oder epigenetisch bedingten Modifikationen auf das Verhalten der DNA im Zellkern beobachten: **asynchrone Replikation** der beiden Allele

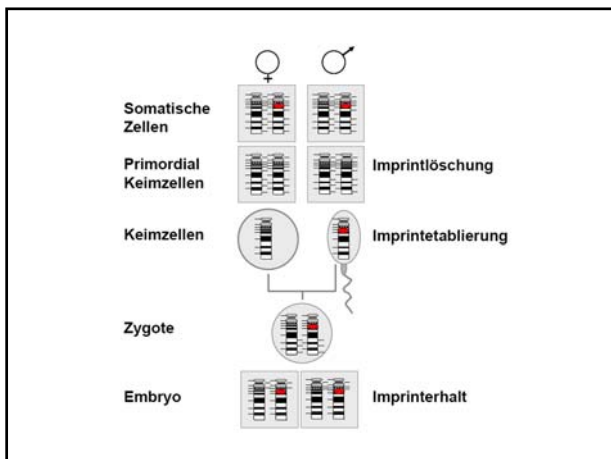


## Prinzipien der epigenetischen Genregulation

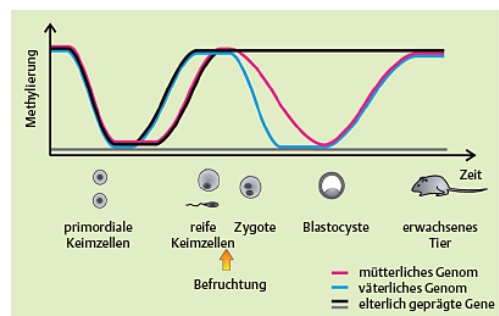
An einigen Loci haben die elterlichen Allele unterschiedliche epigenetische Zustände (Imprinting)



- Der Begriff der elterlichen Prägung (*Genomic Imprinting*) beschreibt eine besondere Form der Genregulation:
- Die betroffenen Gene erhalten entweder in der Eizelle oder in der Spermazelle eine spezielle Markierung.
- Dies führt dazu, dass nach der Befruchtung nur eine der beiden elterlichen Genkopien abgelesen wird.

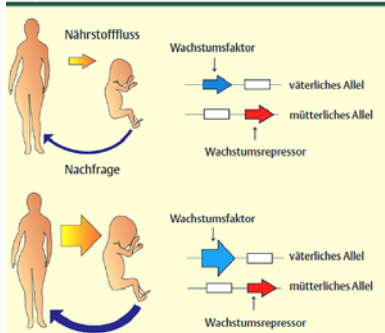


## Methylierungs- / Demethylierungs-Prozesse während der Keimzell- und Embryonalentwicklung



## Parental Conflict Hypothese

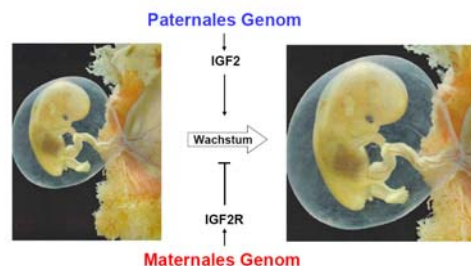
DIE PLAZENTALE NÄHRSTOFFZUFUHR WIRD DURCH DIE EXPRESSION VON WACHTUMSFAKTOREN BEEINFLUSST



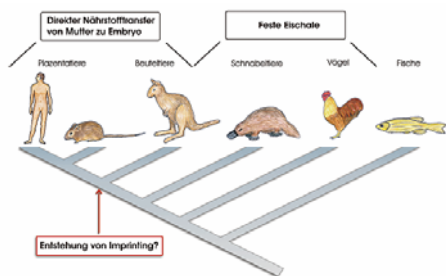
Imprinting reguliert den Nährstofftransfer zwischen Mutter und Embryo

Vater will, dass seine Kinder die Größten sind, Mutter schützt sich vor intrauterinem Großwuchs

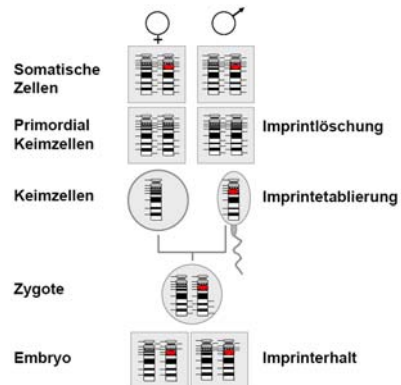
## Regulation des fetalen Wachstums



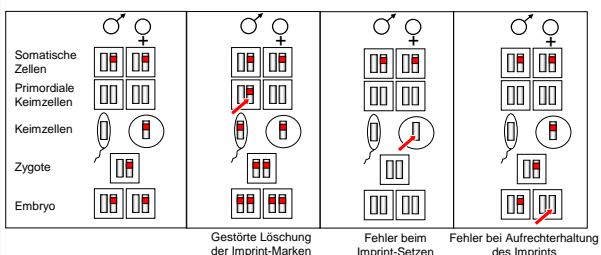
## Entstehungstheorien des Imprinting



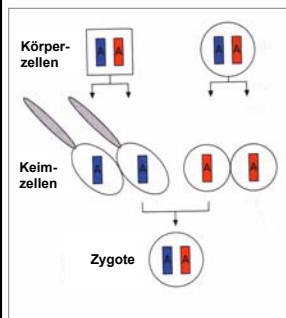
Neben der *Genetic Conflict Hypothesis* (u.a. Moore, 1992) besagt eine andere Theorie, das parentales Imprinting die Möglichkeit parthenogenetischer Reproduktion verhindert (Solter, 1988).



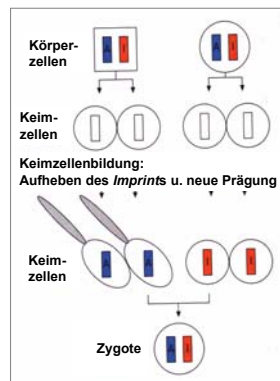
## Imprinting-Defekte



## Vererbung ohne Imprinting



## Vererbung bei Imprinting

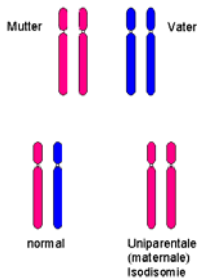


## Uniparentale Disomie - UPD

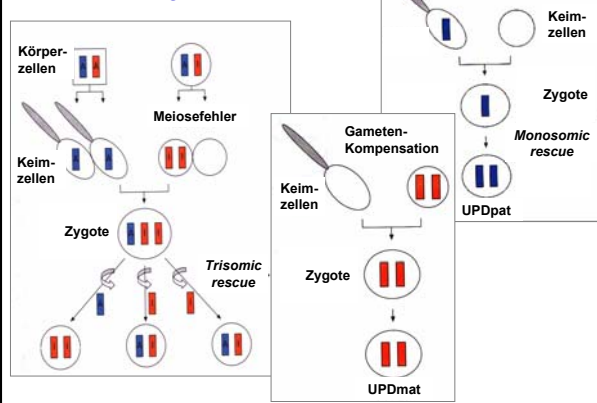
Chromosomale Verteilungsstörungen können dazu führen, dass zwei homologe Chromosomen vom selben Elternteil stammen.

Die dann resultierende UPD bewirkt, dass imprintete Gene, die auf diesem Chromosom liegen, fehlerreguliert sind.

Sie sind entweder überexprimiert oder abgeschaltet.



## UPD-Entstehungsmechanismen



## Erkrankungen die auf Genomisches Imprinting zurückzuführen sind

### Fallbeispiel

D.G., \*12.06.2008 ♀

Familienanamnese und Befunde

- ⊗ Eltern 37 bzw. 38 J. alt, Amniozentese: 46,XX, wenig Kindsbewegungen
- ⊗ Bei Geburt i.d. 39. SSW: GG 3100g, GL 49cm, KU 37cm, ausgeprägte muskuläre Hypotonie
- ⊗ Als NG bzw. Säugling anhaltende Trinkschwäche, Sondenernährung, Generelle Entwicklungsverzögerung

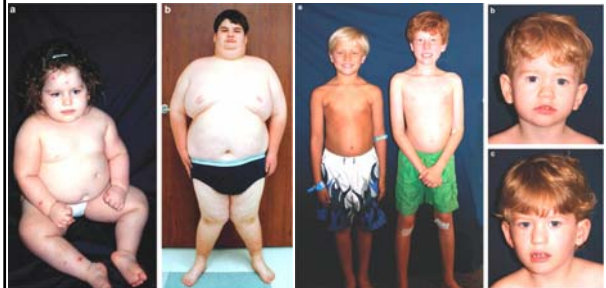


### Prader-Willi-Syndrom (PWS)



- ⊗ Inzidenz: ca. 1:10.000
- ⊗ Anfangs Gedeihstörung, Hypotonie, genitale Hypoplasie
- ⊗ Als Kleinkind: Hyperphagie, auff. Facies
- ⊗ Retardierung, Adipositas, Kleinwuchs, Hypogonadismus

### Prader-Willi-Syndrom (PWS)



### Fallbeispiel

R.F., \*11.08.2004 ♂

Anamnese und Befunde

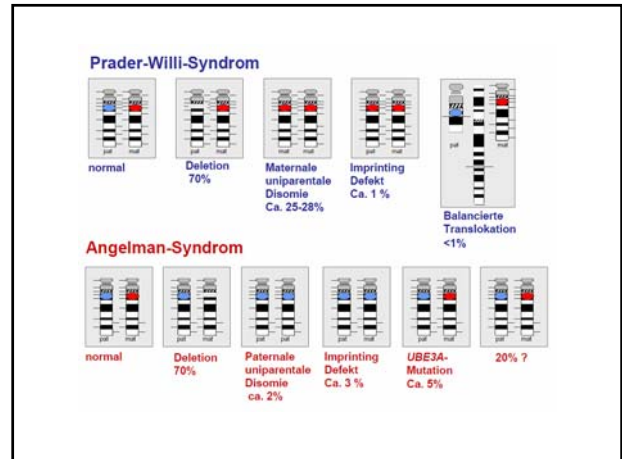
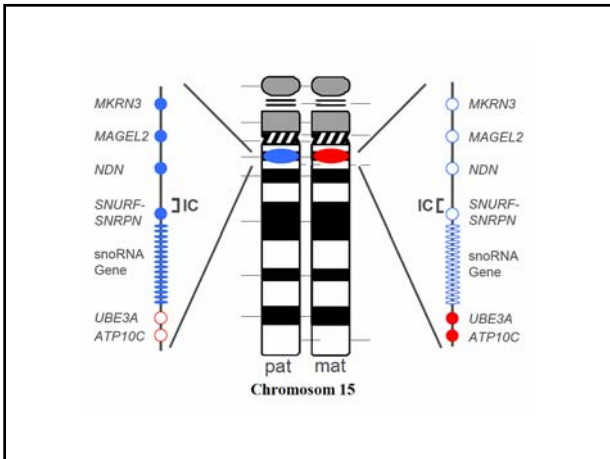
- ⊗ Unauff. Vorgeschichte u. SS, Geburt i.d. 38. SSW, GG 2800g, GL 49cm, KU 34cm
- ⊗ Erst mit 14 Mo. freies Sitzen, Stehen mit 2 J., Laufen a.d. Hand mit 2 ½ J., dabei ausgeprägte Bewegungsunruhe Mikroceph. Kopfkonfiguration, großer Mund, spitzes Kinn
- ⊗ Deutliche psychomot. Retardierung, bes. von aktiver Sprache und Sprachverständnis, dabei freundliches Wesen, häufiges Lachen.



### Angelman-Syndrom (AS)



- ⊗ Inzidenz: ca. 1:15.000
- ⊗ *Happy puppet* Syndrom: ausbleibende Sprachentwicklung, unmotiviertes Lachen
- ⊗ Ataktisch-ruckartiges Bewegungsbild
- ⊗ Postnatale Mikrocephalie
- ⊗ Retardierung, auffälliges EEG



### Methylierungsanalyse mittels Bisulfit

Nicht methyliertes C wird durch Bisulfit-Behandlung in U umgewandelt, das wie T gelesen wird.

meth/mat unmeth/pat

bisulfite treatment

meth/mat unmeth/pat

Uracil

AS PWS Kontr. Kontr. PWS AS

mat pat

Cytosin Uracil

Sulphonation Desaminierung Desulphonation

### Fallbeispiel

P.G., \*03.03.2001 ♂

Anamnese und Befunde

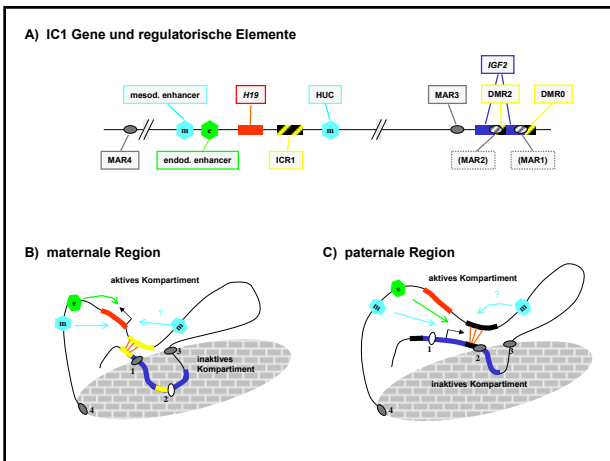
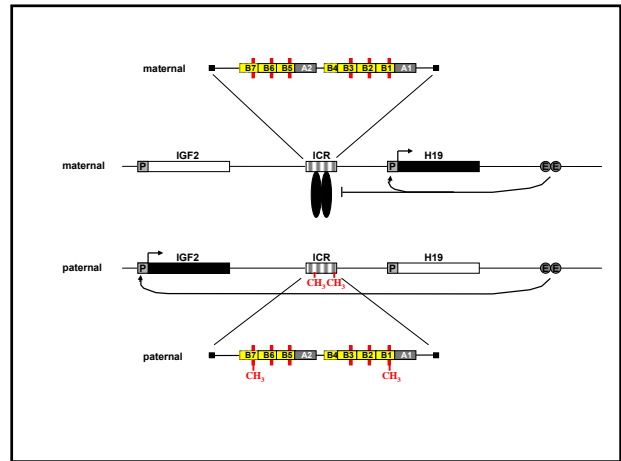
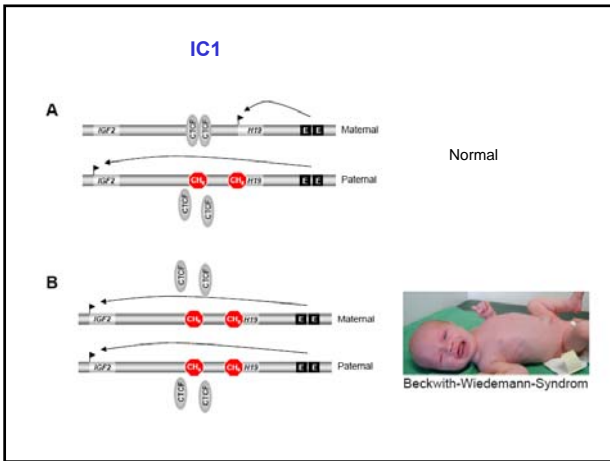
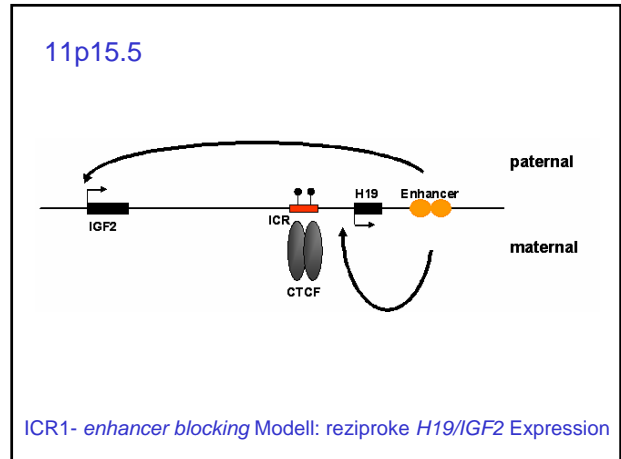
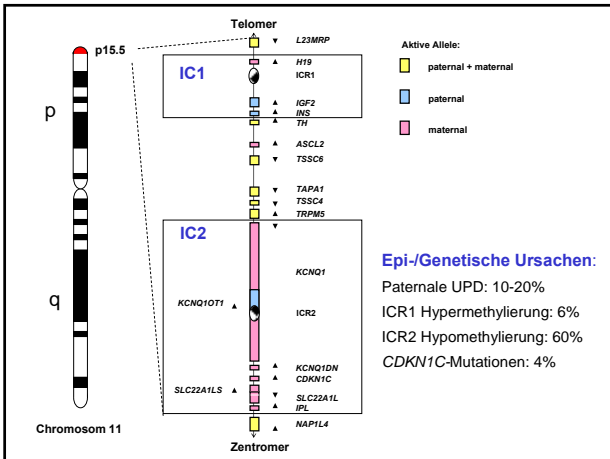
- ⊗ Unauff. Anamnese, 1 Bruder (1 Jahr älter, gesund)
- ⊗ Bei Geburt i.d. 40. SSW: GG 4000g, GL 53cm, Hypoglykämien in den ersten Wochen, Makrosomie, große Zunge, Nabelbruch
- ⊗ Mit 3 Jahren Entwicklung eines Nephroblastoms

### Beckwith-Wiedemann-Syndrom (BWS)

- ⊗ Inzidenz: ca. 1:13.000
- ⊗ Sporadische (85%), familiäre (15%) Fälle
- ⊗ EMG-Syndrom: Exomphalos-Makroglossie-Gigantismus
- ⊗ Faciale Auffälligkeiten (z.B. Ohrkerben)
- ⊗ Neonatale Hypoglykämie
- ⊗ Embryonale Tumoren (Wilmstumor): 5-7%

Wilms Tumor (T)

E (8 J.) P (7 J.)



**Fallbeispiel**

A.M., \*04.03.2004 ♀

**Anamnese und Befunde**

- Unauff. Anamnese, SS mit ausgeprägter Wachstumsretardierung bei rel. großem Kopf
- Bei Geburt i.d. 38. SSW: GG 1700g, GL 45cm, KU 35cm Dystrophie, zierliches Kind mit rel. großem Kopf, kleines, dreieckiges Gesicht, schmale Lippen, leichter Körperasymmetrie, Klinodaktylie V
- Als Säugling und später als Kleinkind weiterhin zierlich und kaum Aufholwachstum, proportionierter Kleinwuchs

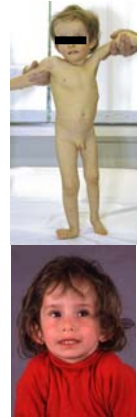
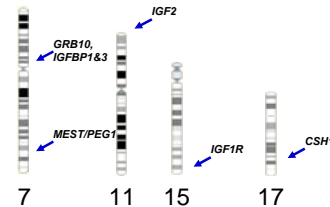


### Silver-Russell-Syndrom (SRS)

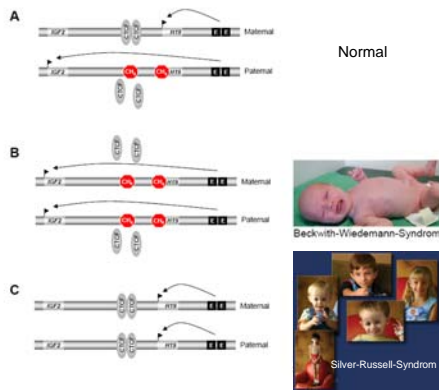
- ⊗ Inzidenz: ca. 1 : 5.000-100.000
- ⊗ Intrauterin (IUGR) und postnatal zurückbleibendes Wachstum, Kleinwuchs
- ⊗ Rel. großer Kopf, auff. Facies mit dreieckförmigen Gesicht
- ⊗ Körper-/Extremitäten-Asymmetrie
- ⊗ Klinodaktylie V

### Silver-Russell-Syndrom

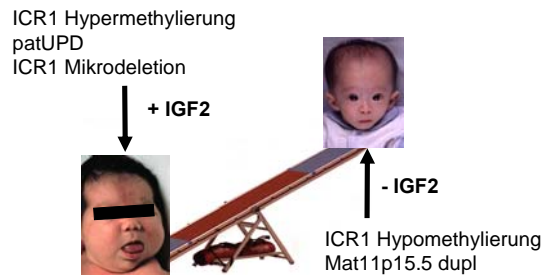
- ⊗ Hauptsächlich ein Imprintingdefekt
- ⊗ Methylierungsstörung auf Chr. 11p15.5 ICR1-Hypomethylierung (ca.35-65%)
- ⊗ Maternale UPD Chr. 7 (ca. 10%)



### IC1



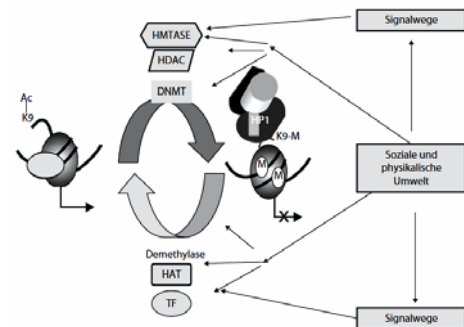
### Konträre Phänotypen: - Beckwith-Wiedemann-Syndrom - Silver-Russell-Syndrom

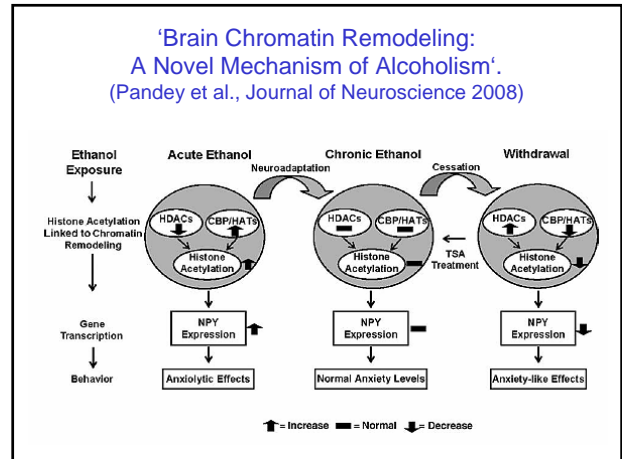
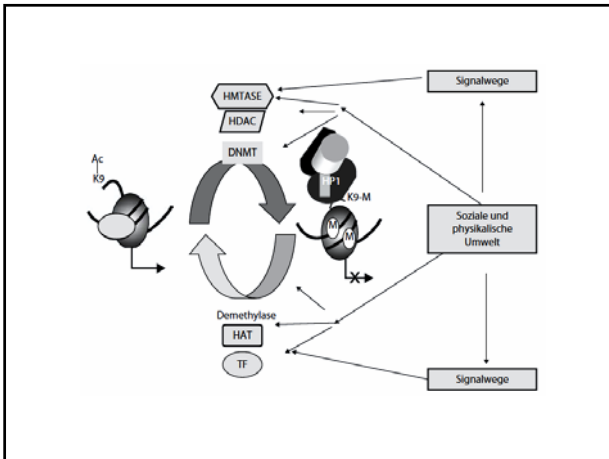


Jean-Baptiste de Lamarck 1744-1829 1809: Philosophie Zoologique  
Vererbung erworbener Eigenschaften - Lebewesen vererben ihre durch Gebrauch erworbenen Eigenschaften an ihre Nachkommen



### Epigenetische Vererbung





REGULAR ARTICLE 2009 Acta Paediatrica ISSN 0803-4253

**Epigenetic modulation at birth – altered DNA-methylation in white blood cells after Caesarean section**

T Schlinzig<sup>1</sup>, S Johansson<sup>2</sup>, A Gunnar<sup>3</sup>, Tj Ekström<sup>4</sup>, M Norman (mikael.norman@ki.se)<sup>1</sup>

What are the implications of a life-long dynamic epigenome?

Non-genetic agents might have a profound effect on our genome and our health including obesity, diabetes, social behavioural disorders.

Early life environment (CS)

Stress response signaling

epigenetic changes

inter-individual epigenetic variation

gene expression programming variation

Phenotypic variation

Health disease and behavioral pathologies

nature genetics Feb. 2009

**DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins**

Zachary A Kaminsky<sup>1,2</sup>, Thomas Tang<sup>1</sup>, Sun-Chong Wang<sup>1,3</sup>, Carolyn Ptak<sup>1,2</sup>, Gabriel H T Oh<sup>1,2</sup>, Albert H C Wong<sup>1,2</sup>, Laura A Feldcamp<sup>1,2</sup>, Carl Virtanen<sup>4</sup>, Jonas Halfvarson<sup>5,6</sup>, Curt Tysk<sup>3,6</sup>, Allan F McRae<sup>7</sup>, Peter M Visscher<sup>7</sup>, Grant W Montgomery<sup>7</sup>, Irving I Gottesman<sup>8</sup>, Nicholas G Martin<sup>7</sup> & Art Petronis<sup>1,2</sup>

The paper compares DNA methylation patterns from epithelial cells inside the mouths of 39 sets of identical and 40 sets of fraternal twins. Compared to fraternal twins, identical twins had more similar methylation patterns, suggesting that these patterns are inherited.

Collection of samples from 3 different tissues in a total of 57 sets of identical twins (including the same 39 pairs used in the comparison with fraternal twins). Microarray analysis was used to look at many different locations in the epigenome: 'The entire epigenome is packed with differences in monozygotic twins'.

**Zusammenfassung Epigenetik**

- ⊗ Epigenetik ist die zellspezifische Modifikation der Erb-information, die von Zellen an deren Abkömmlinge weitergegeben werden kann, jedoch nicht in jeder Zelle eines Organismus identisch und nicht permanent sein muss.
- ⊗ Epigenetische Mechanismen regeln die lokale Zugänglichkeit von Abschnitten des Chromatins für eine transkriptionelle Regulation.
- ⊗ Gestörte Epigenetik führt zu verschiedenen Erkrankungen inkl. Tumoren.

**Zusammenfassung Epigenetik**

- ⊗ Genomisches Imprinting ist die epigenetische Modifikation (z.B. via DNA-Methylierung), die zur Inaktivierung einer Kopie eines Gens in somatischen Zellen führt und die damit die monoallelische Expression eines Gens aufgrund seiner elterlichen Herkunft beschreibt.
- ⊗ Verschiedene Erkrankungen durch gestörtes genomisches Imprinting (z.B. in den Bereichen (15q11-13 bzw. 11p15.5) sind Prader-Willi-Syndrom / Angelman-Syndrom bzw. Beckwith-Wiedemann-Syndrom / Silver-Russell Syndrom.