

Epigenética

Evolución-FCEN

Carlos Marfil

Grupo de Recursos Genéticos

Instituto de Biología Agrícola de Mendoza

CONICET / FCA-UNCuyo

19 de octubre de 2017

Objetivos

- Definir el concepto de epigenética
- Describir los principales mecanismos epigenéticos en eucariotas
- Reconocer los mecanismos epigenéticos como fuente adicional de variabilidad heredable
- Discutir el estado actual y las perspectivas de considerar a la variabilidad epigenética como un componente importante de la biodiversidad y de procesos evolutivos

Epigenética: surgimiento y actualidad

1-Genética de la transmisión

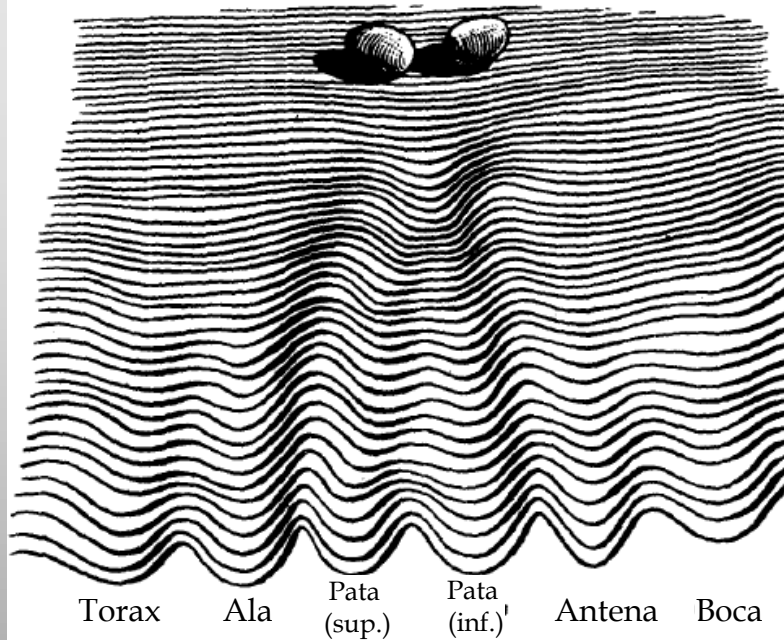
2-Genética del desarrollo

3-Genética de poblaciones

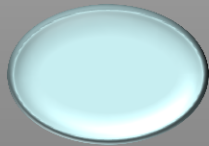
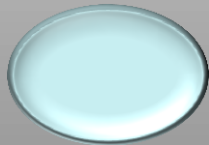
- ¿Están todos los genes continuamente activos, o genes particulares ejercen determinada función en ciertos períodos del desarrollo y permanecen quiescentes en otros períodos?
- ¿Está especializada la acción de ciertos genes a una única o pocas reacciones, o ejercen una influencia más general?
- ¿Cuál es la relación entre la especificidad de un gen y la especificidad de sustancias químicas o proteínas?

Epigenética: surgimiento y actualidad

EPIGENETIC LANDSCAPING



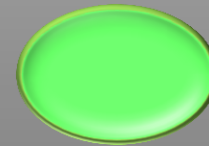
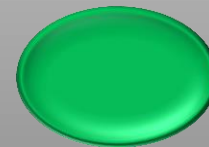
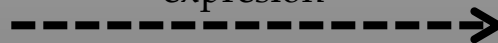
Procesos por los que una población de células homogéneas se diferencia en los diversos tipos de células de un organismo. Toda la serie de eventos que conducen a la ejecución de un programa genético para el desarrollo. *Waddington 1956*



Células genéticamente idénticas



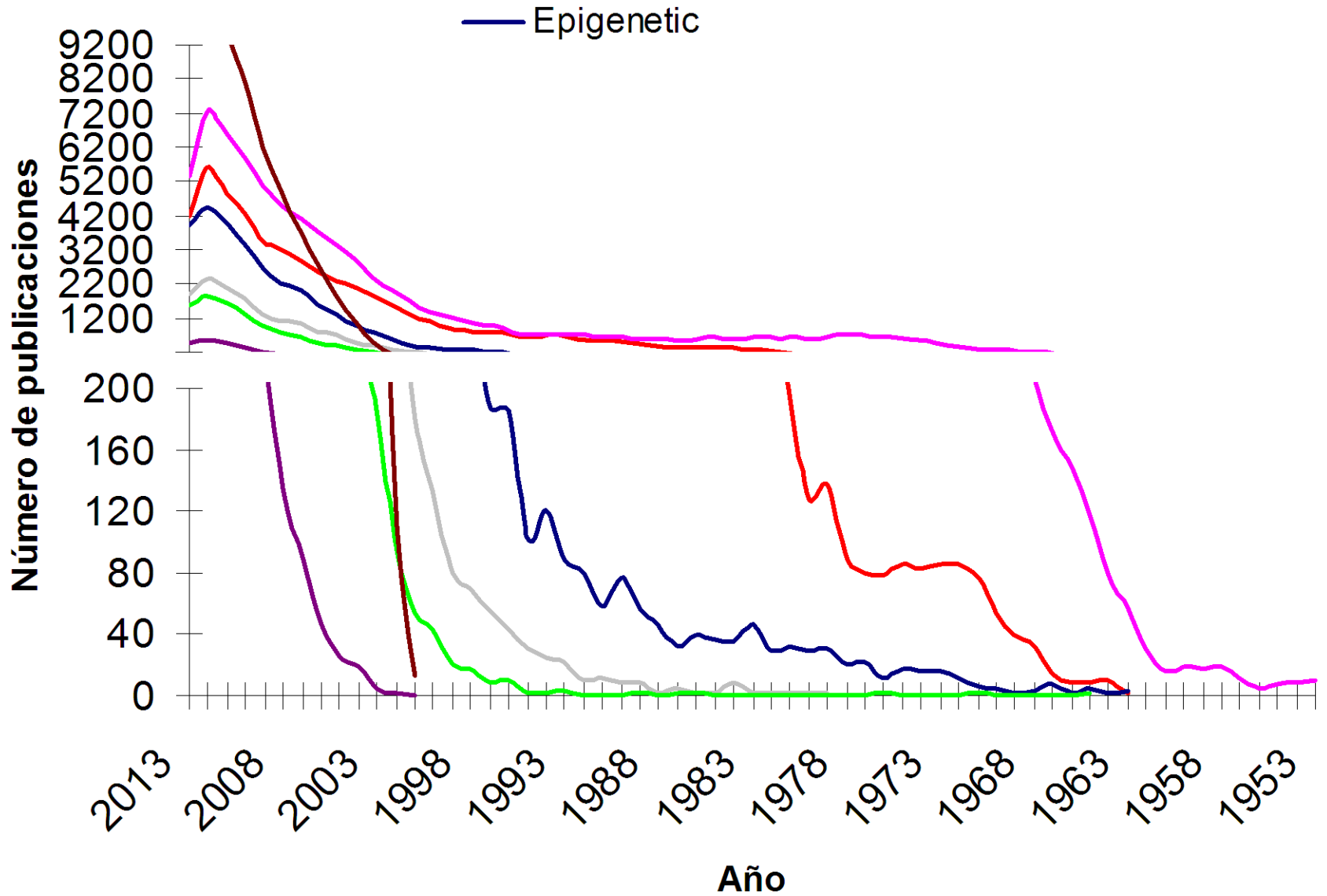
Diferentes modificaciones epigenéticas conducen a diferentes patrones de expresión



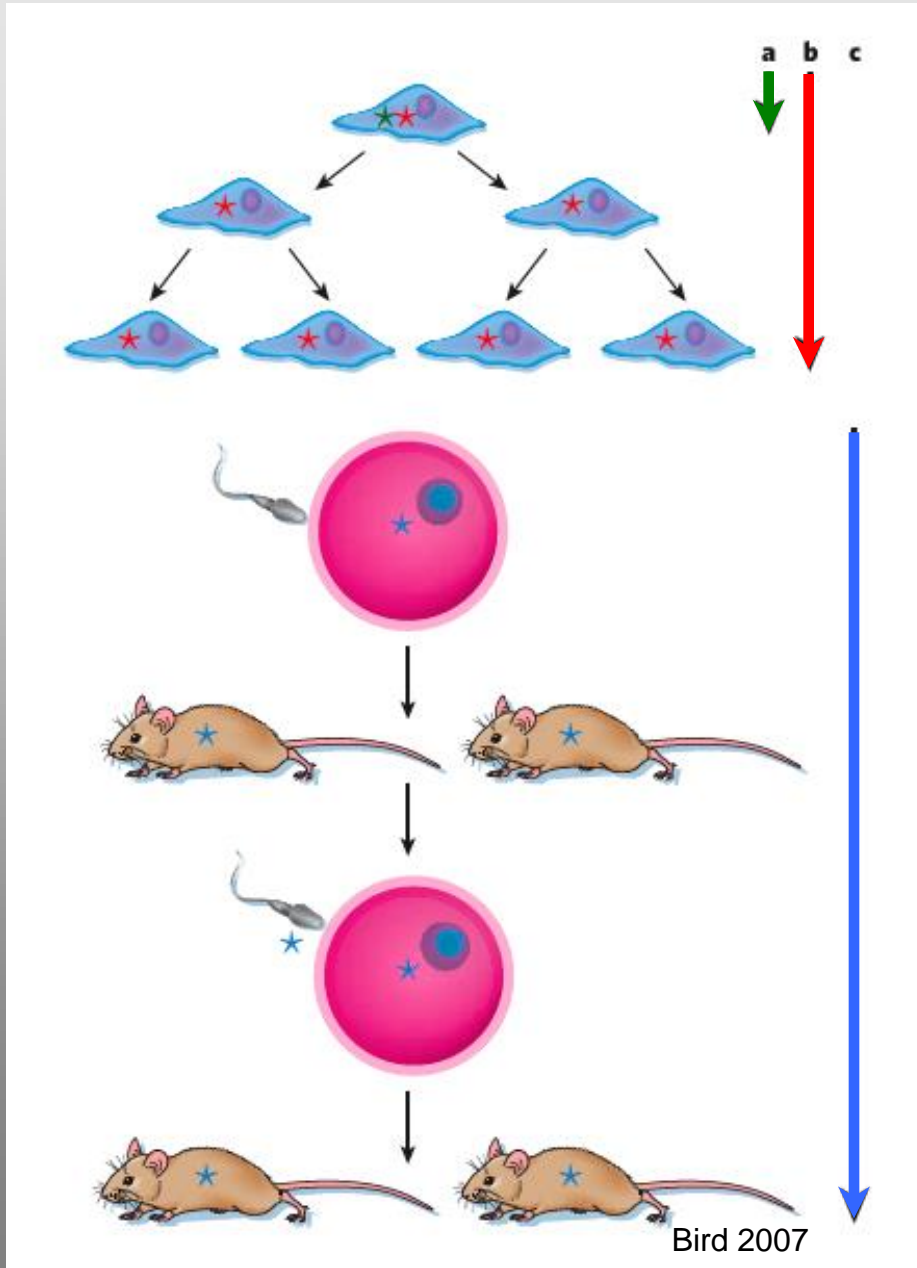
Epigenética: definición

- ‘*Epi*’genética - ‘Sobre’ o ‘por encima’ de la información genética codificada en el ADN
- El estudio de cambios **reversibles** y **heredables** en la función génica que ocurren sin un cambio en la secuencia del ADN
- Información de la regulación génica que no es expresada en la secuencia de ADN y es transmitida de una generación a la siguiente (de células u organismos)

Epigenética: definición



Herencia de patrones epigenéticos

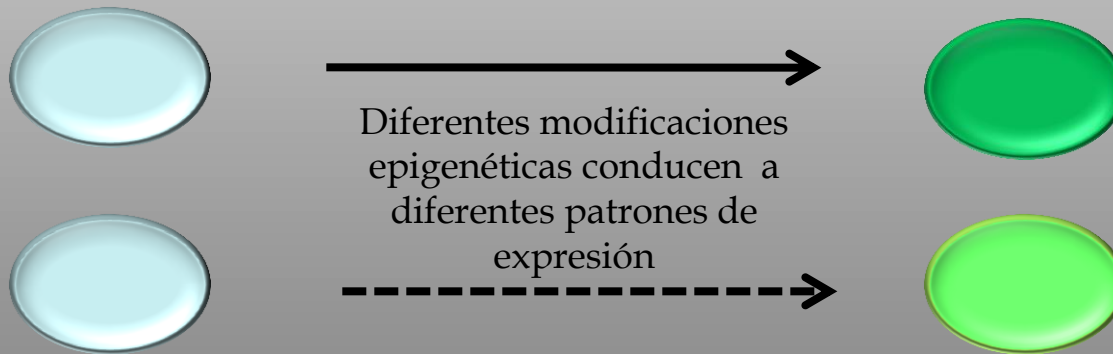


- * **Transitoria (no heredable)**
- * **Heredable mitóticamente**

- **Heredable meióticamente (herencia transgeneracional)**

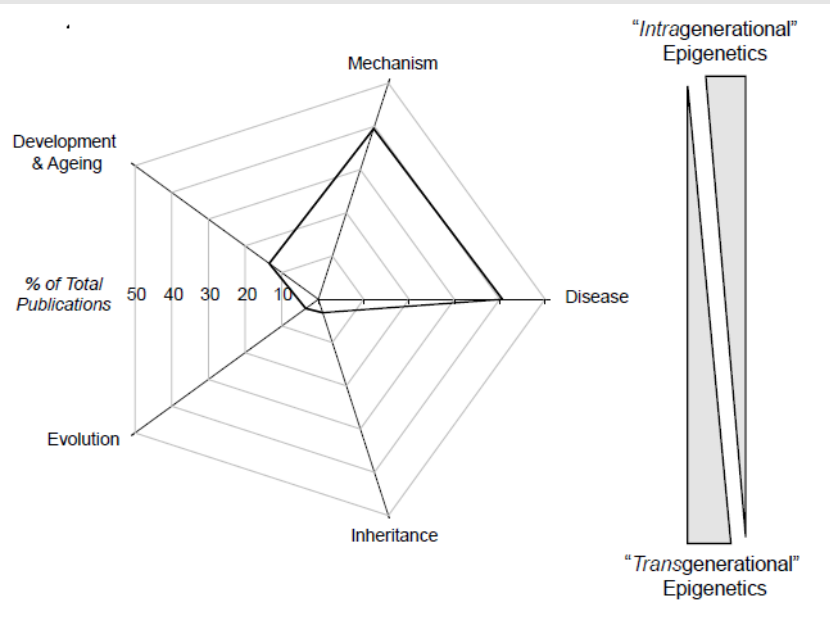
Herencia de patrones epigenéticos: ampliación del concepto de unidad hereditaria

- En ciertos casos la información contenida en un gen no implica sólo la secuencia, sino que se extiende a las modificaciones epigenéticas de esa secuencia.
- Herencia de secuencias reguladoras.

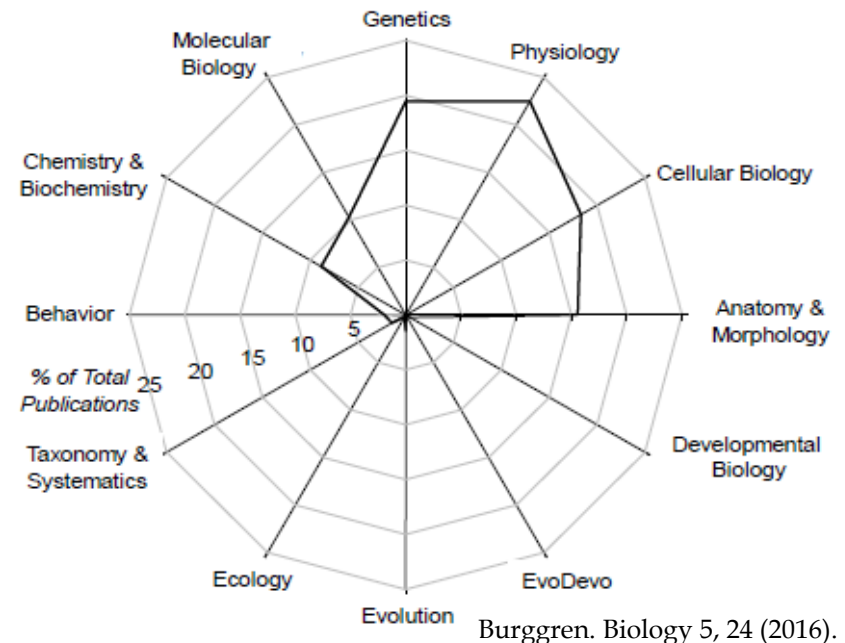
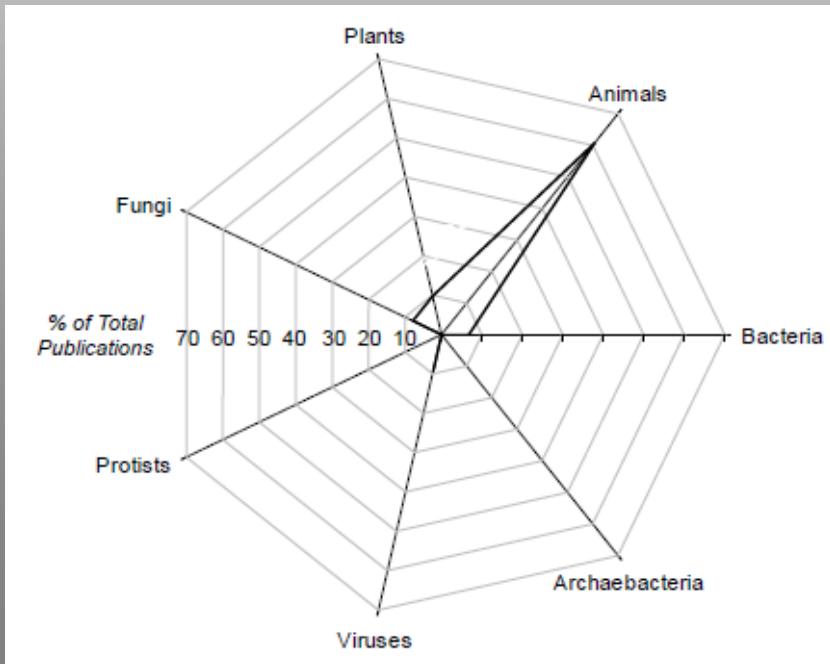


Células u
organismos
genéticamente
idénticos

El rol de la epigenética en la biología evolutiva

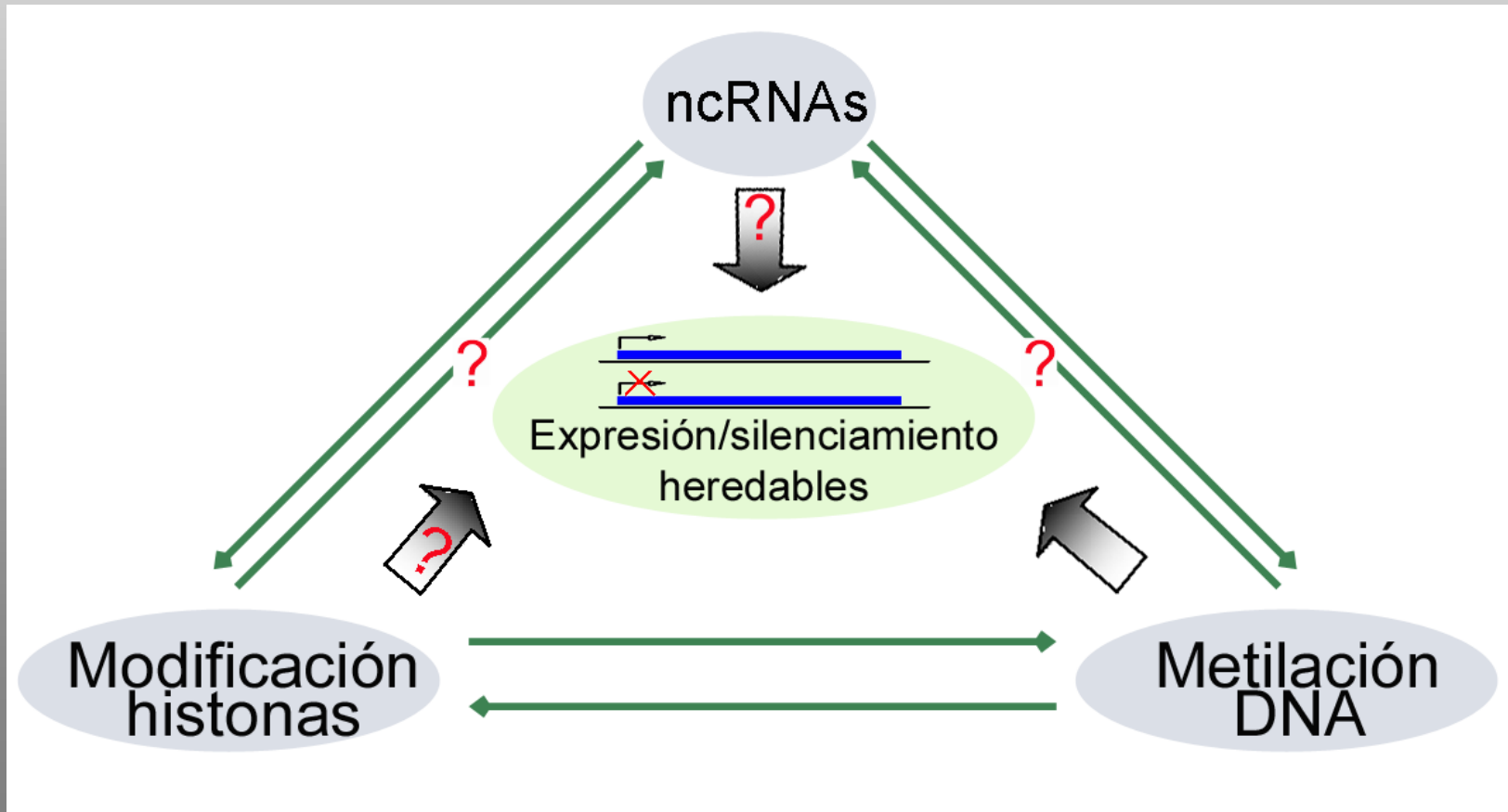


Estudios acerca del papel que desempeña la epigenética en la herencia y en procesos evolutivos recibe mucha menos atención que los vinculados con los mecanismos y aspectos vinculados a enfermedades

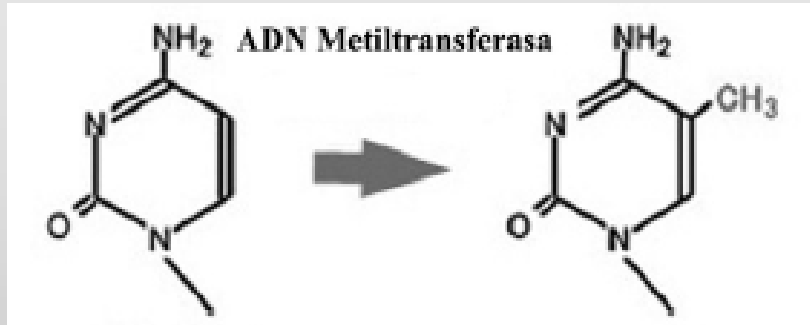


Mecanismos epigenéticos

- Metilación de DNA
- Modificación de histonas
- RNAs no codificantes

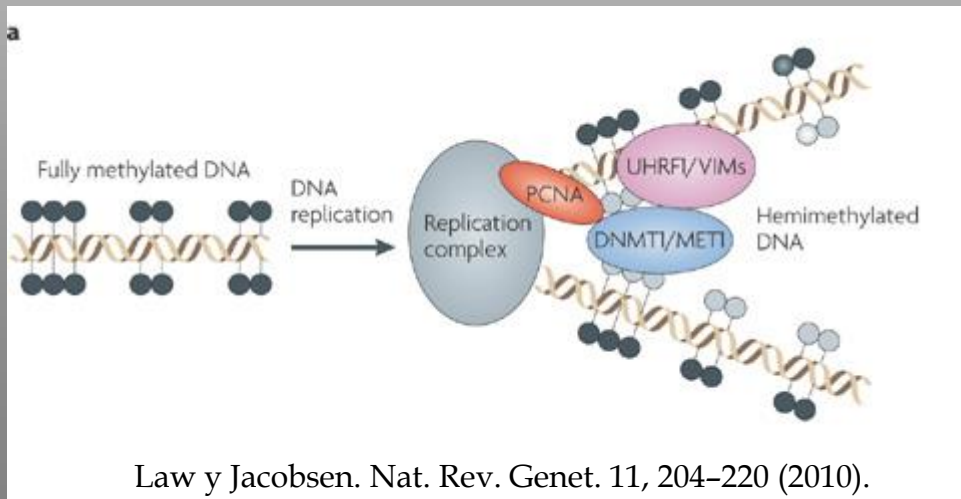


Metilación del DNA



Modificación covalente de citosinas por incorporación de un grupo metilo al carbono 5'

- Asociada al silenciamiento transcripcional de genes y elementos transponibles (defensa genómica)
- Mecanismo más ampliamente estudiado y entendido

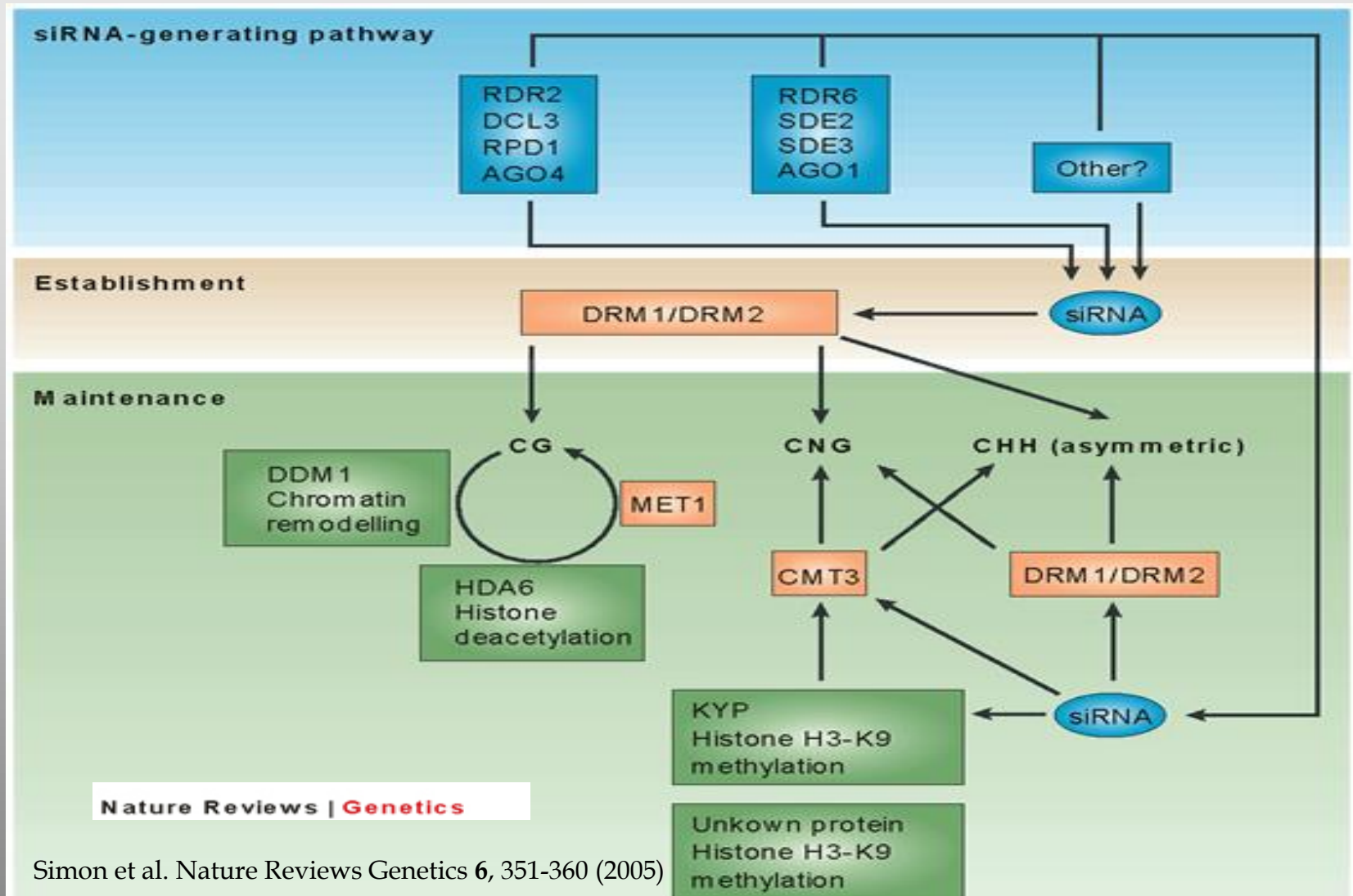


Herencia de los patrones de metilación

ADN metiltransferasas en *Arabidopsis*

- MET1 (METHYLTRANSFERASE1) – sitios 5'-CG-3'
 - Silenciamiento de transposones, elementos repetitivos, algunos genes
- CMT3 (CHROMOMETHYLASE3) – sitios 5'- CHG-3'
 - (H= A, C or T)
 - Interactúa con histonas modificadas
- DRM 1, DRM 2 (DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE)- sitios 5'-CHH-3' (*DE NOVO*)
 - Asociada principalmente a elementos repetitivos
 - Requiere de la interacción con siRNAs

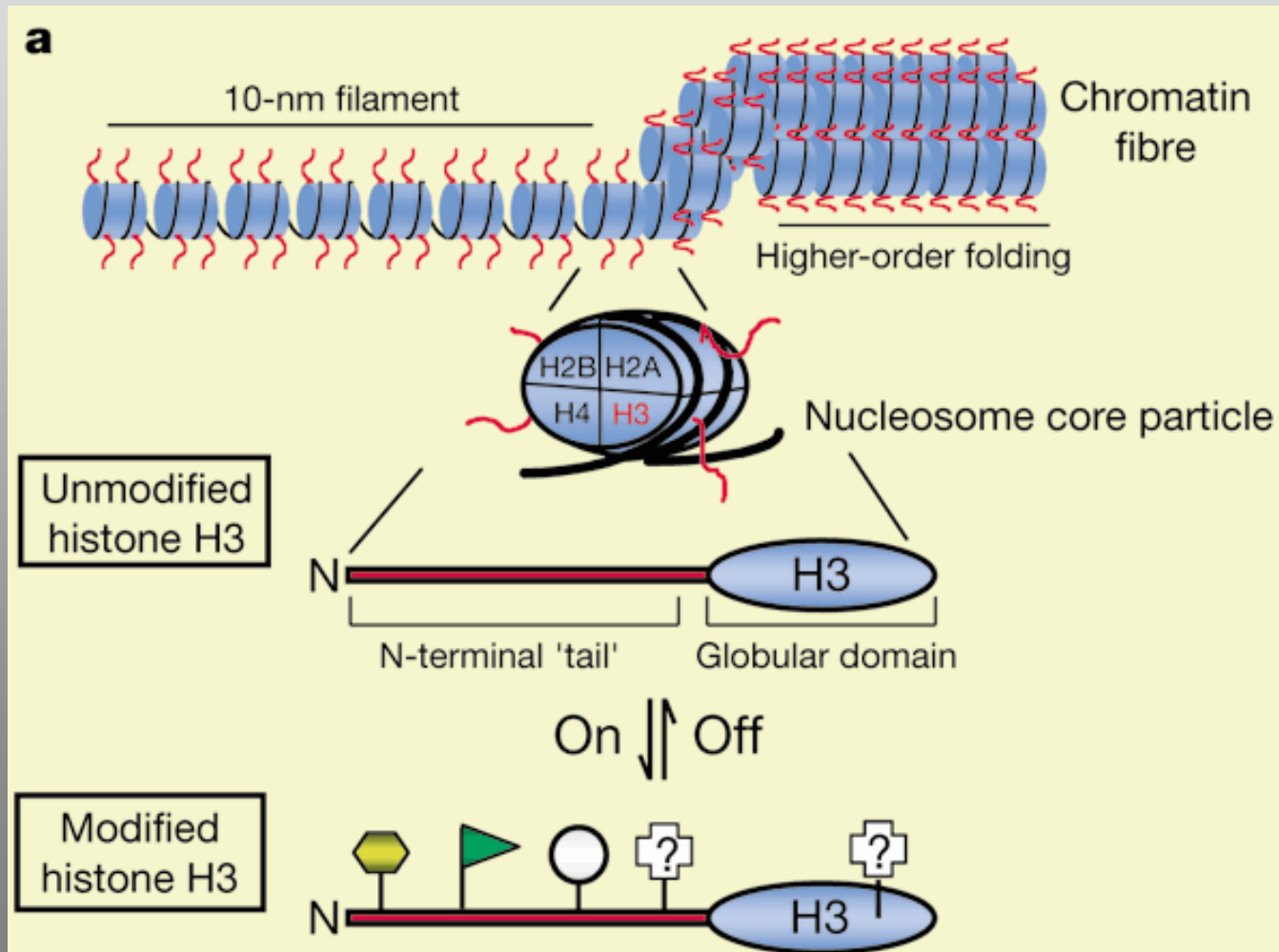
Establecimiento y mantenimiento de la metilación en plantas



- El establecimiento de la metilación en todos los contextos es dependiente de DRM1/DRM2 y secuencia-específica, guiado por pARNs
- Los mecanismos epigenéticos actúan coordinadamente para estabilizar **conformaciones particulares de la cromatina**, y por lo tanto, niveles de expresión génica

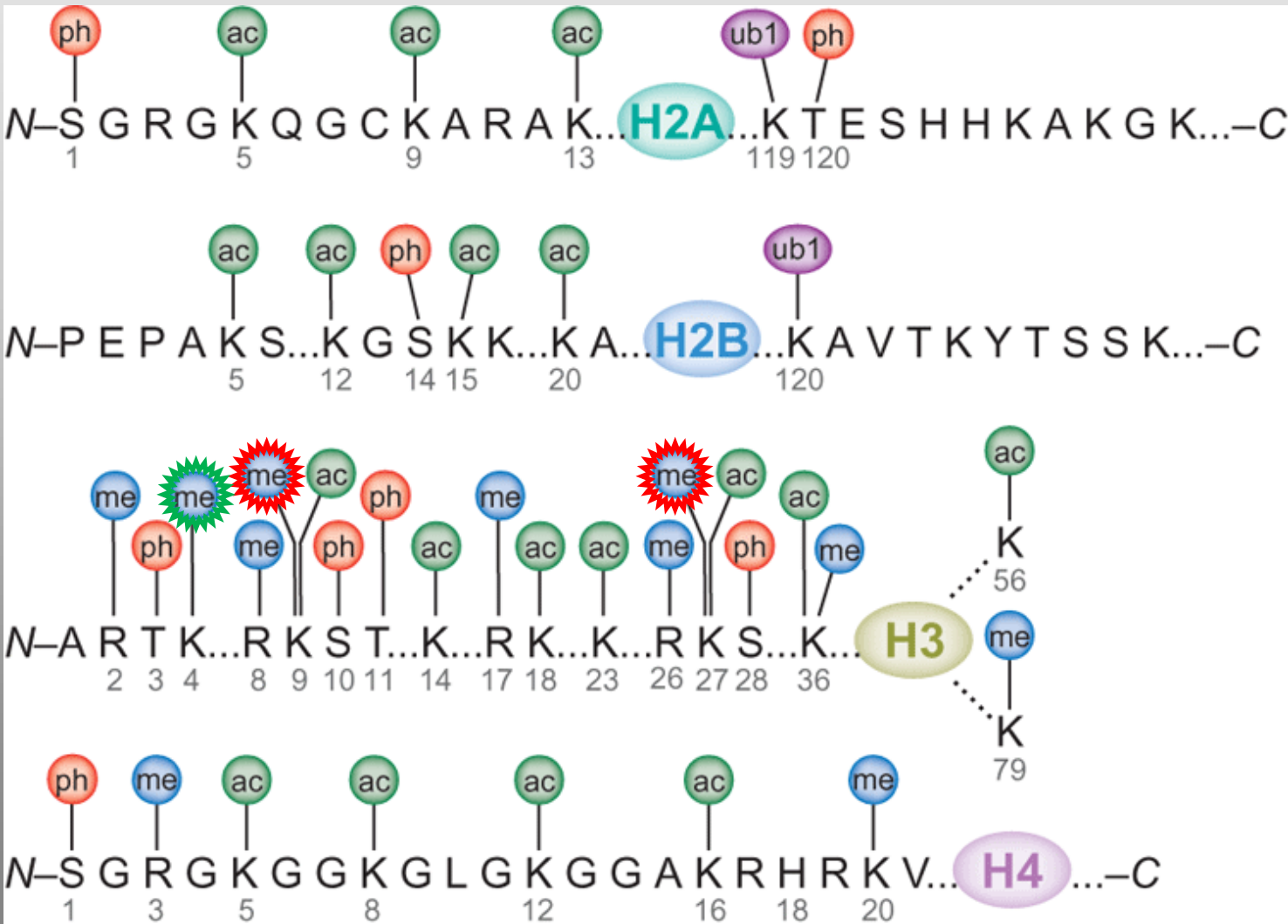
La hipótesis del código de histonas

Una modificación (o una combinación de modificaciones) histona-específica, pueden afectar distintos eventos celulares mediante la alteración de la estructura de la cromatina (**mecanismos *cis***) o mediante la generación de una plataforma de unión para proteínas efectoras (**mecanismos *trans***).



El código de histonas: modificaciones postraduccionales de proteínas nucleosómicas

Acetilación, Metilación, Ubiquitinación, Fosforilación

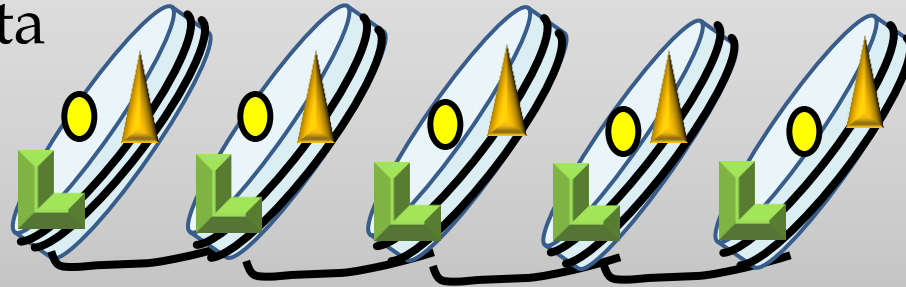


El resultado funcional de las diversas combinaciones de histonas modificadas se conoce como el **código de histonas**

La modificación de histonas afecta la estructura de la cromatina

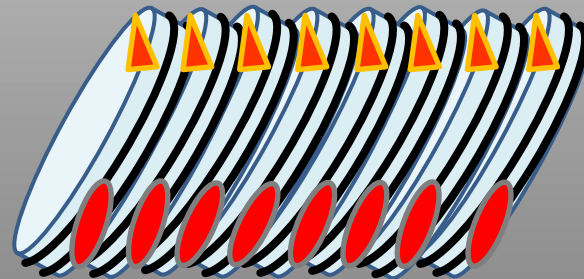
Configuración abierta

H3	Me	P	Ac
	K4	S10	K14

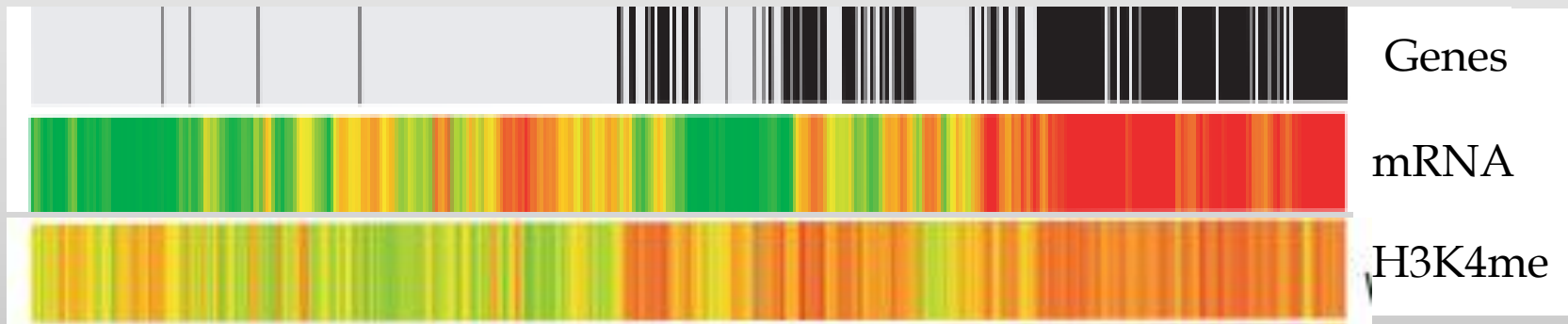


Configuración cerrada

H3	Me	Me P
	K9	K27 S28



Diferentes modificaciones de histonas están asociadas con genes y transposones



H3K4me asociado con genes
transcriptos activamente



H3K9me Asociado con DNA metilado y
transposones.

Rojo = alta correlación
Verde = baja correlación

Resumen metilación/modificación de histonas



RNAs no codificantes

Diversas familias de secuencias que se clasifican de acuerdo a su origen, longitud y secuencia

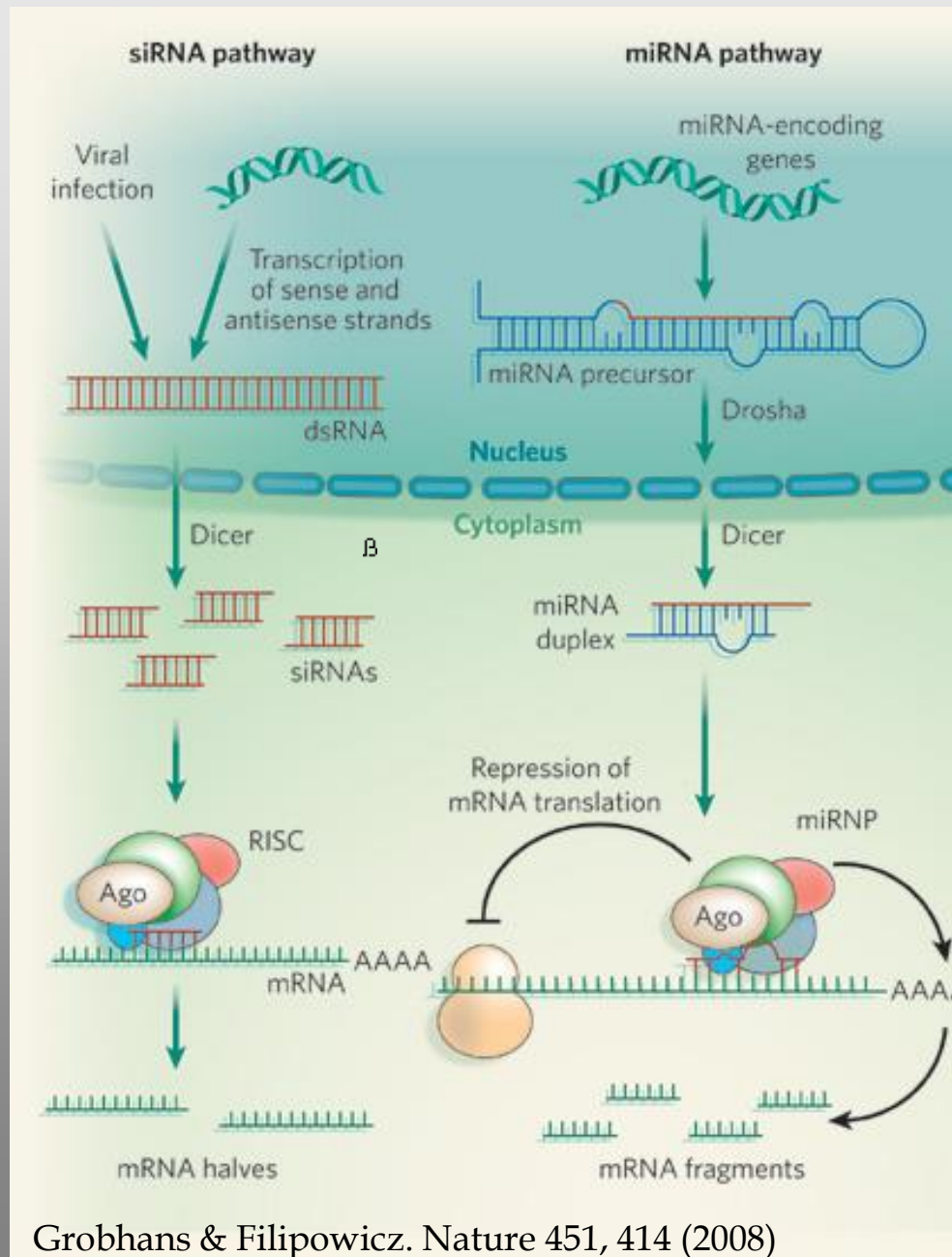
1-miRNAs (micro RNA):

- Genes endógenos con sus propia secuencia reguladoras
- Silenciamiento **post-transcripcional** de genes
- Involucrados principalmente en la regulación de la expresión génica y el desarrollo

2-siRNAs (RNAs pequeños de interferencia)

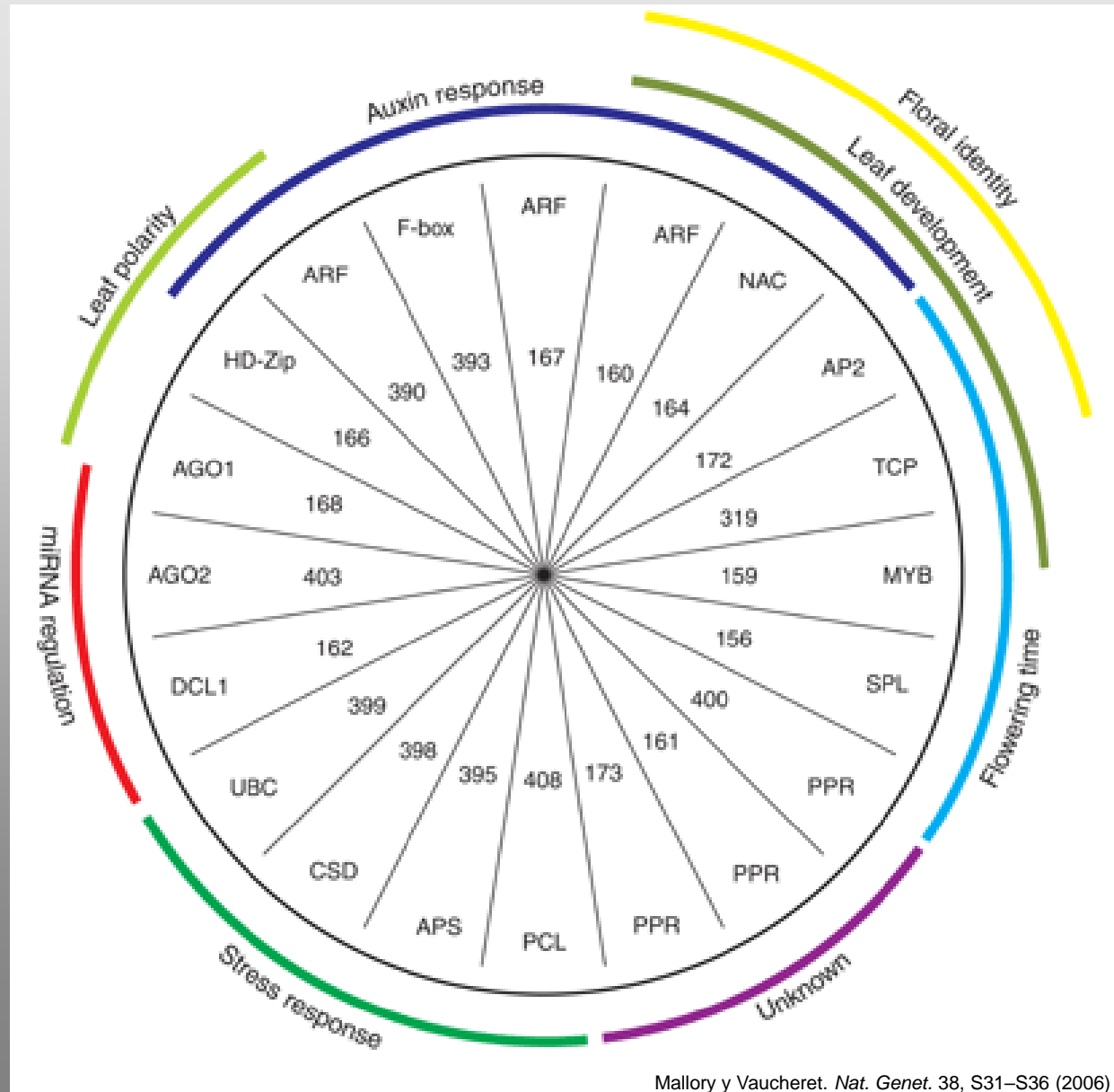
- Derivados de secuencias repetitivas endógenas o foráneas
- Silenciamiento **transcripcional** y **post-transcripcional** de genes
- Desempeñan un papel importante en la defensa del genoma contra la proliferación de virus y elementos transponibles endógenos.

Pequeños RNAs: silenciamiento postranscripcional de genes



Grohans & Filipowicz. Nature 451, 414 (2008)

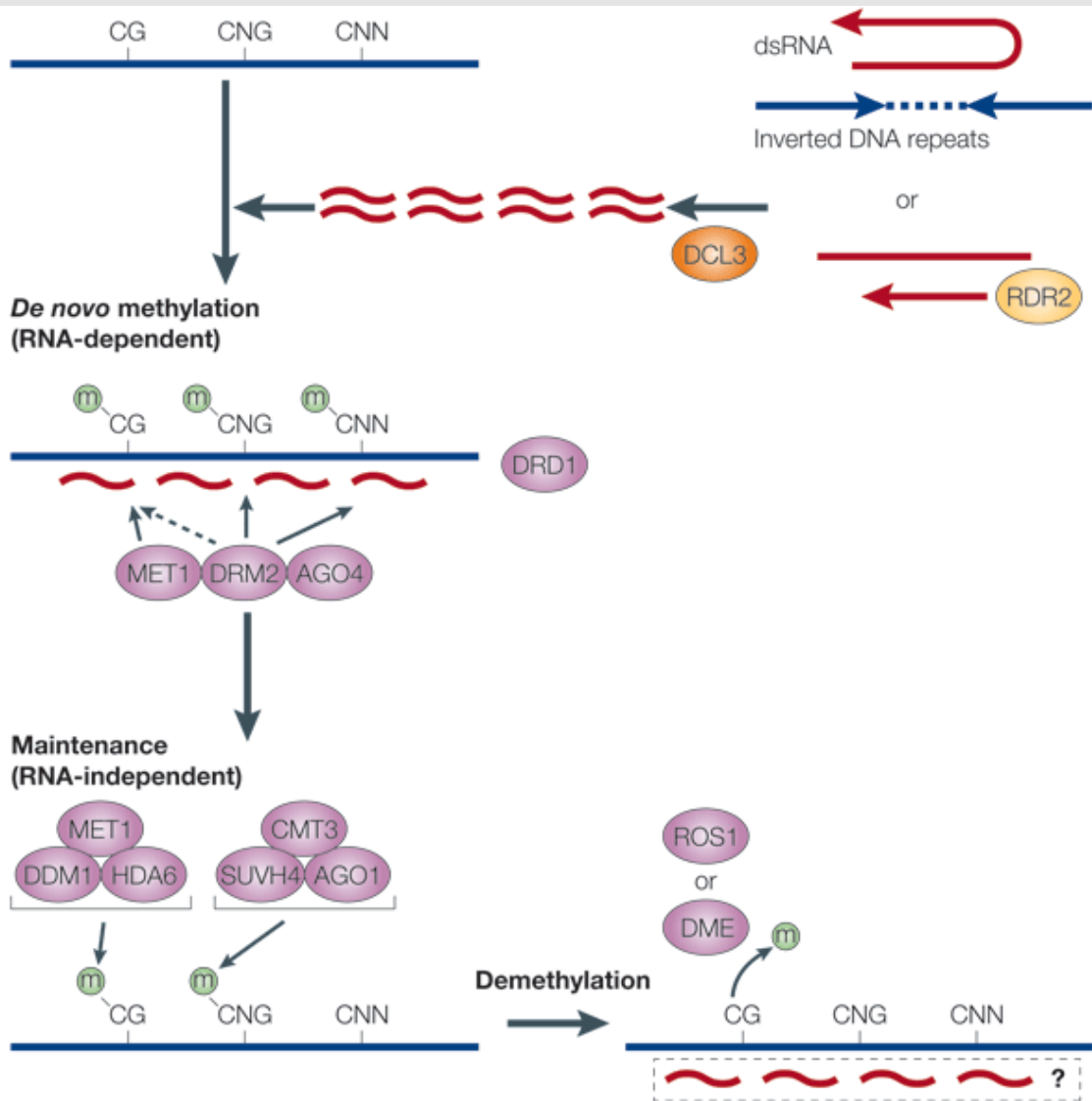
Funciones de los micro RNAs: amplias consecuencias fenotípicas inducidos por cambios en su expresión



Metilación del DNA dirigida por pequeños RNA

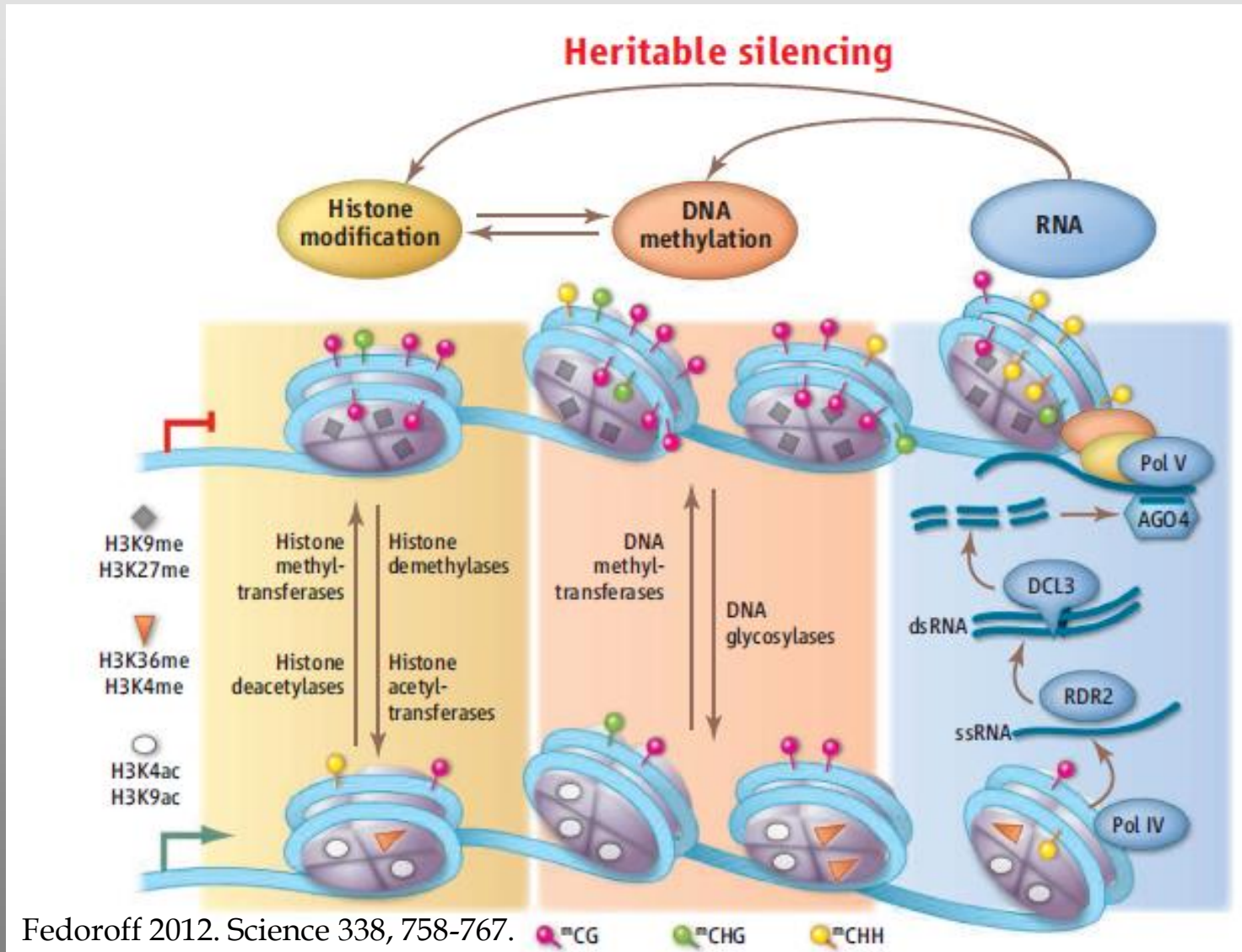
Requiere el procesamiento de dsRNA por enzimas de la familia DICER

Los pequeños RNAs producidos dirigen a enzimas DNA metiltransferasas a sitios específicos del genoma



Integración de mecanismos epigenéticos

Variantes enzimáticamente modificable que pueden cambiar rápidamente y ser reversibles



Epigenética y plasticidad fenotípica

El mecanismo de silenciamiento RdDM, el cual implica una interacción de la maquinaria de RNAi con las posibilidades de herencia que tiene la metilación del ADN, indica que el silenciamiento puede ser:

1-Secuencia específica

2-Inducible (enzimáticamente modificable, puede cambiar rápidamente y ser **reversible**)

3-Heredable

Estas características los convierten en mecanismos versátiles para modificar la expresión génica y el fenotipo

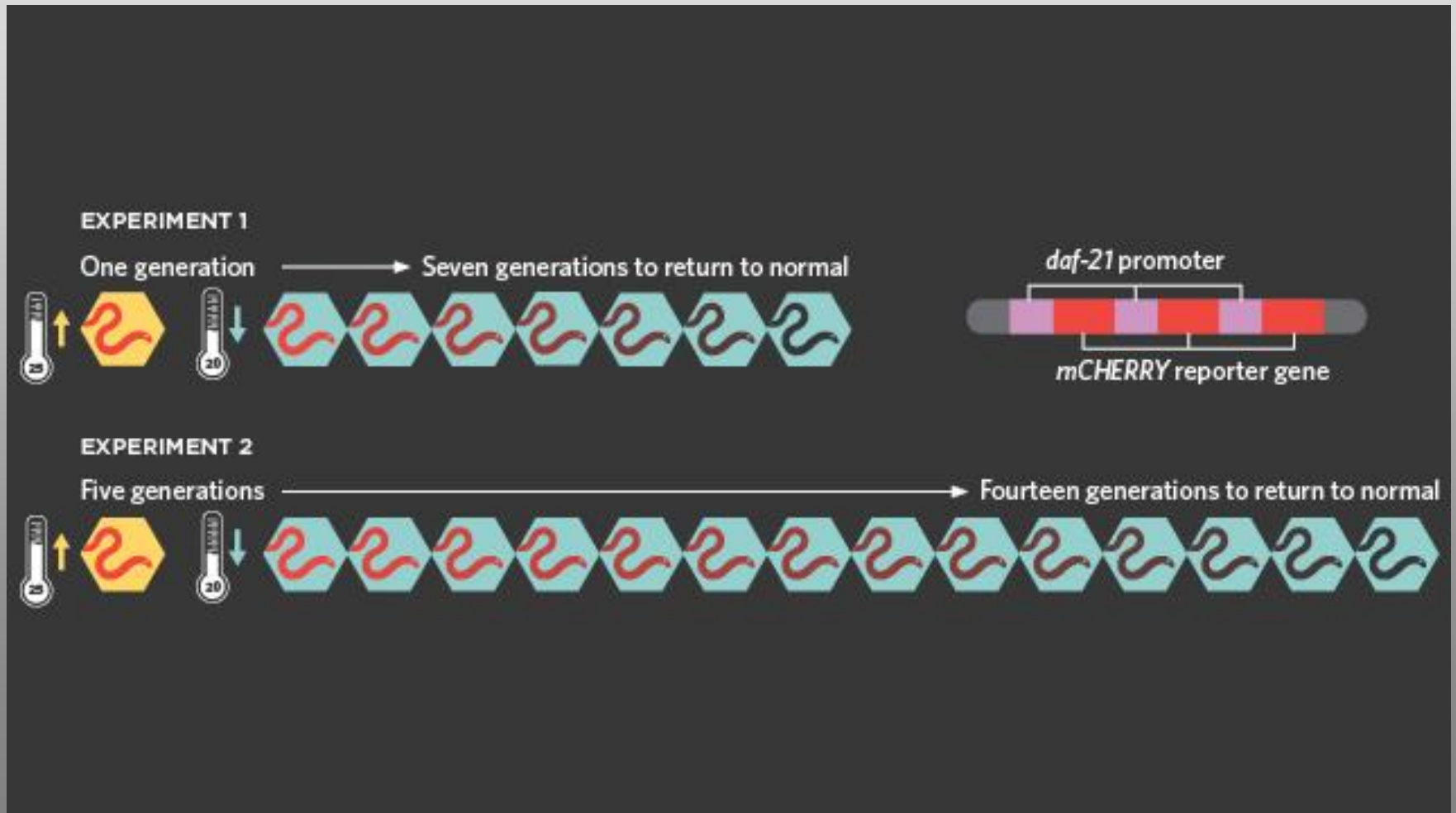
Epigenética y plasticidad fenotípica



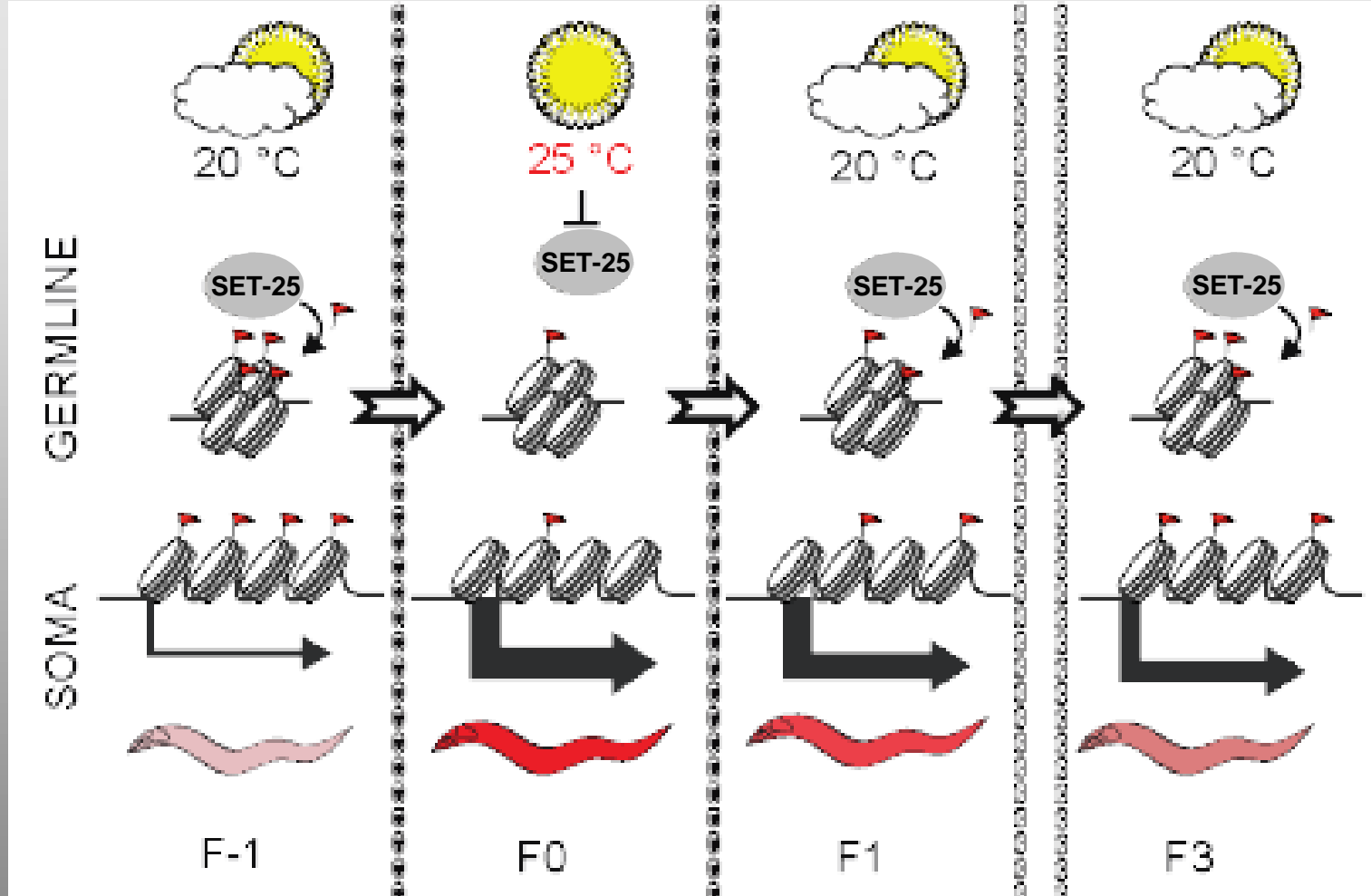
El ambiente puede modular los patrones epigenéticos

Memorias calientes en *C. elegans*

Las progenies de nematodos expuestos a altas temperaturas mantienen el fenotipo de los padres aunque crezcan a una temperatura normal



Epigenética: memoria de ambientes pasados



- La alta temperatura reduce la represión mediada por SET-25
- SET-25 es una Histona metiltransferasa que trimetila específicamente la Lys-9 de la histona H3

La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas: consideraciones acerca de si la variabilidad epigenética debe ser considerada como un componente importante de la biodiversidad



La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Variantes naturales de *Linaria vulgaris* que poseen flores con simetría radial tienen metilado y transcripcionalmente inactivo el gen *Lcyc*



Cubas et al. Nature 401, 157-161 (1999)



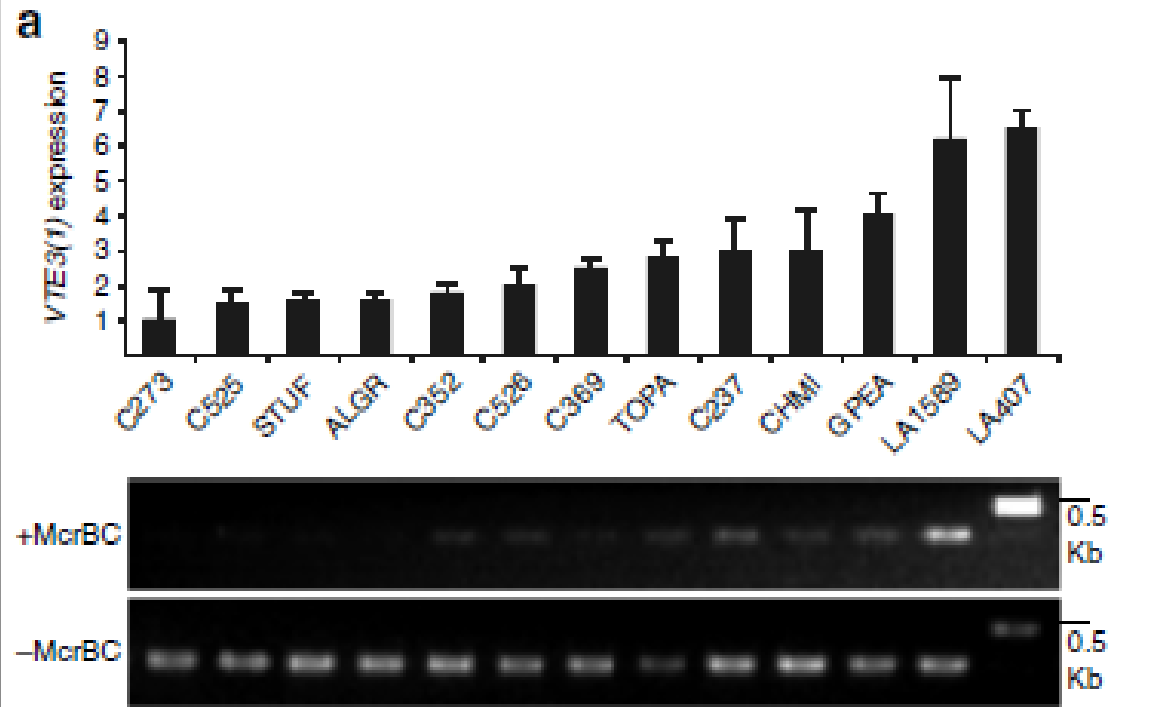
Metilación *Lcyc*

Epialelos-Epimutación: la secuencia nucleotídica no es la única forma de información genética en la célula

La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Epialelos naturales regulan la expresión génica de *VTE3(1)* y los niveles de vitamina E en tomate

Expresión *VTE3(1)*
Vitamina E



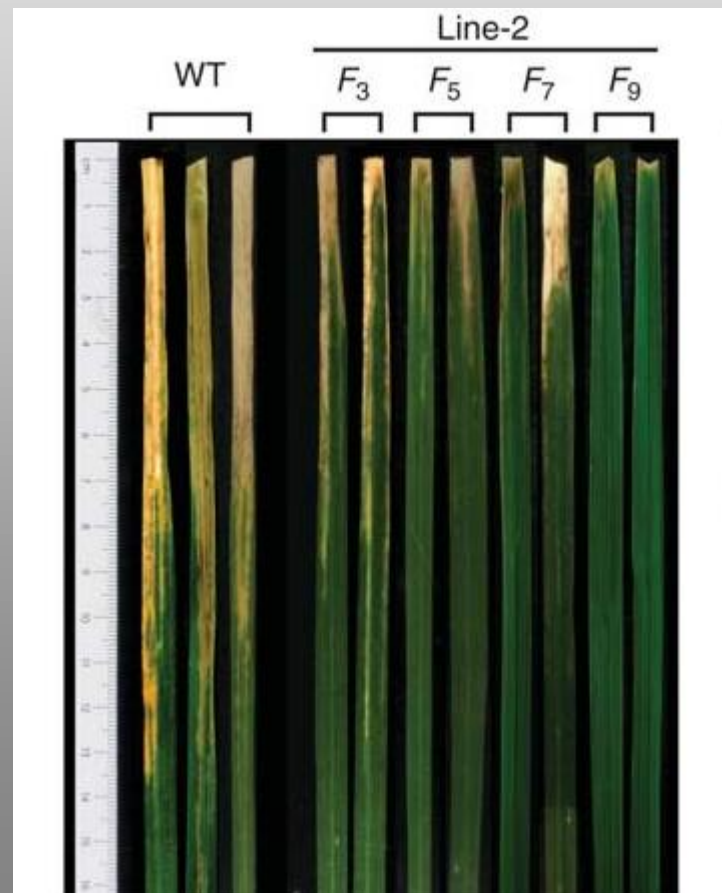
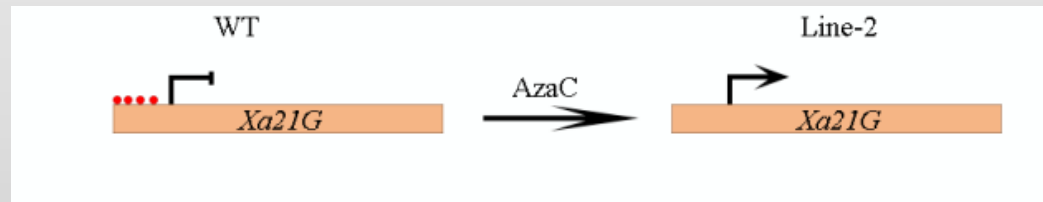
Quadrana et al. Nature Commun. 5, 4027 (2014)



Metilación *VTE3(1)*

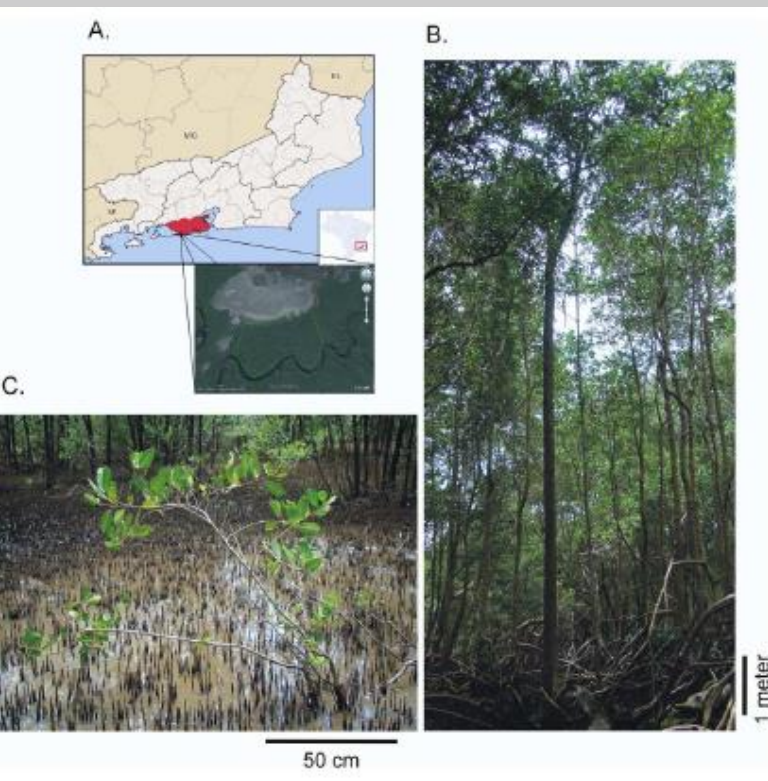
Generación de nuevos epialelos con el agente desmetilante AzaC

La desmetilación inducida activa un gen que otorga resistencia a *Xanthomonas* en arroz



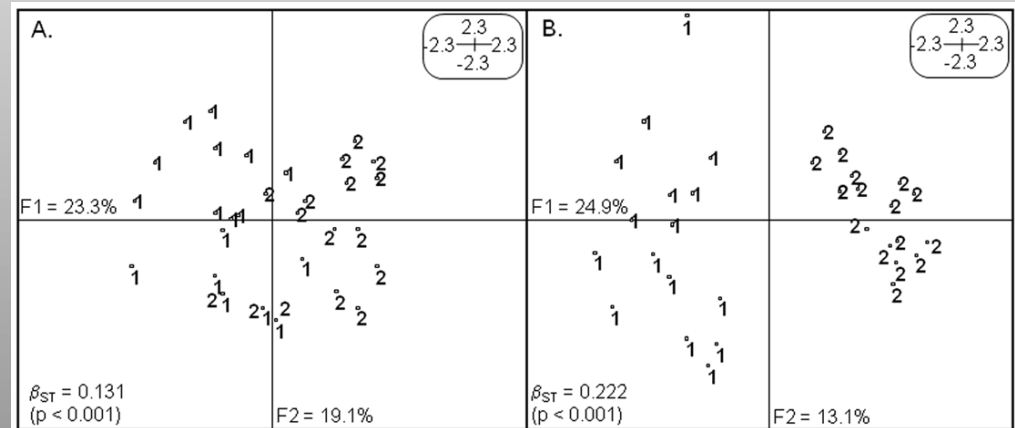
La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Diferencias morfológicas entre individuos creciendo en ambientes contrastantes



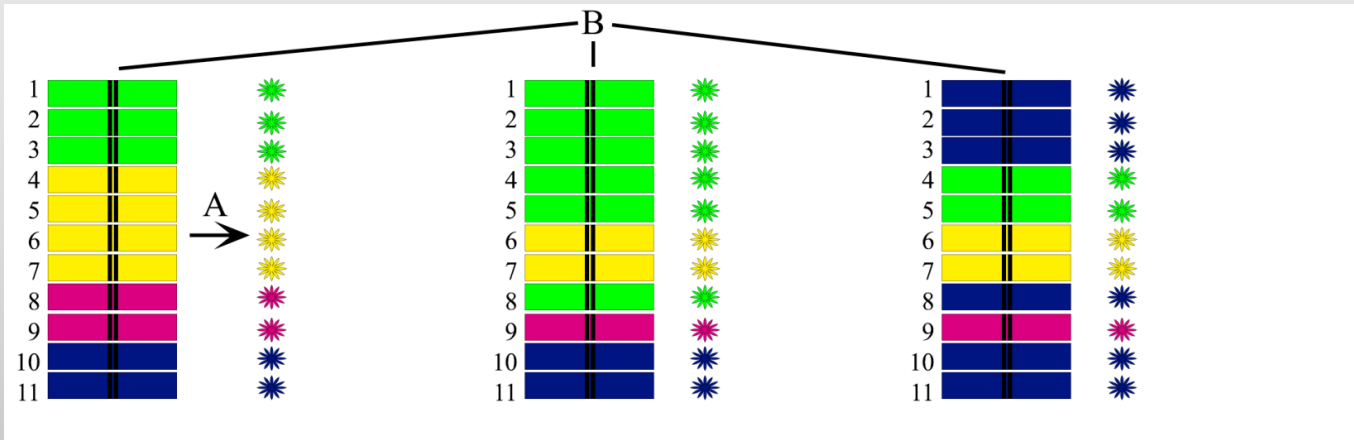
Variabilidad genética

Variabilidad epigenética



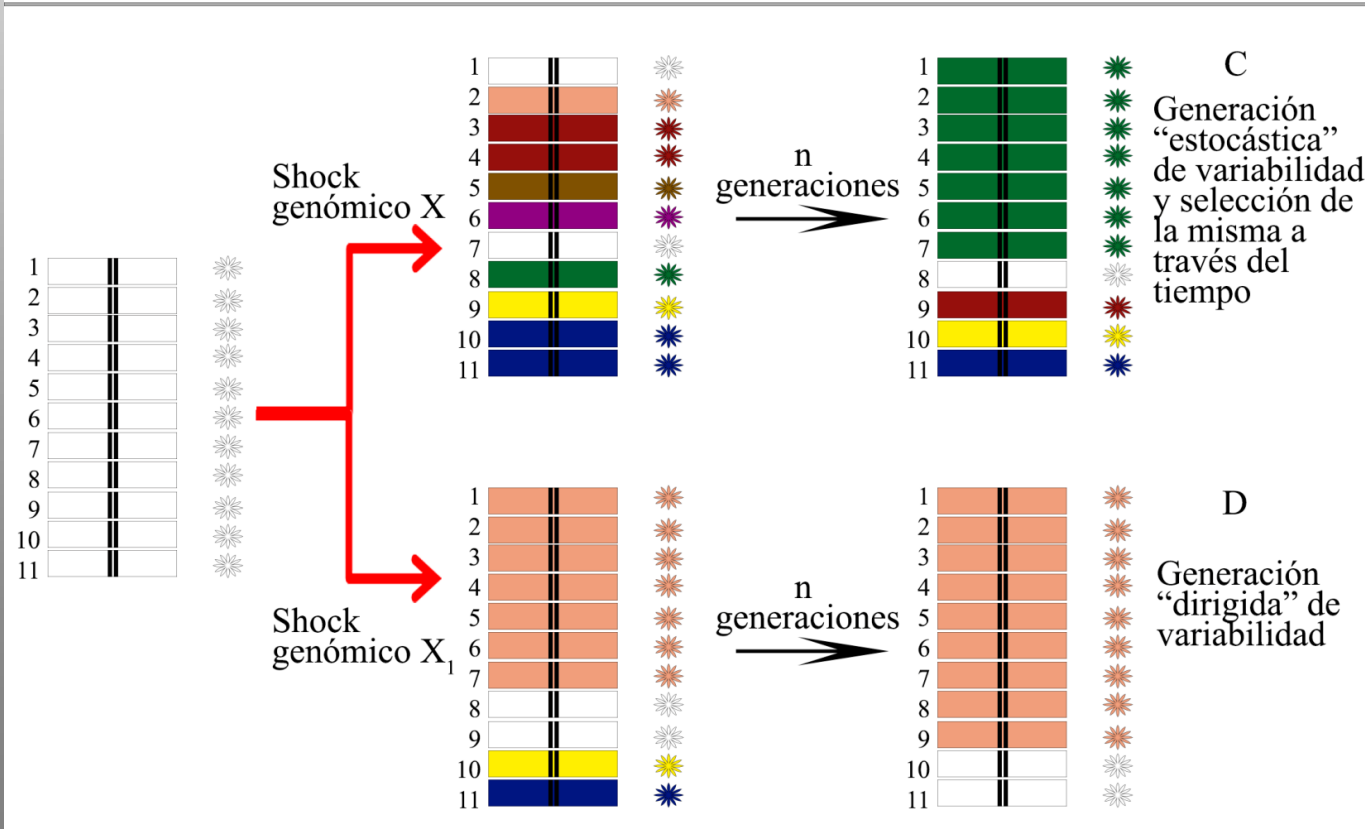
A pesar de diferencias morfológicas significativas, individuos de *Laguncularia racemosa* de pantanos y ríos presentan poca diferenciación genética y amplias diferencias en los patrones de metilación. La variación epigenética en poblaciones naturales de manglares tendría un papel importante en la adaptación de los individuos a diferentes entornos.

Epigenética en un contexto evolutivo: perspectivas



A- efectos fenotípicos de la variabilidad epigenética

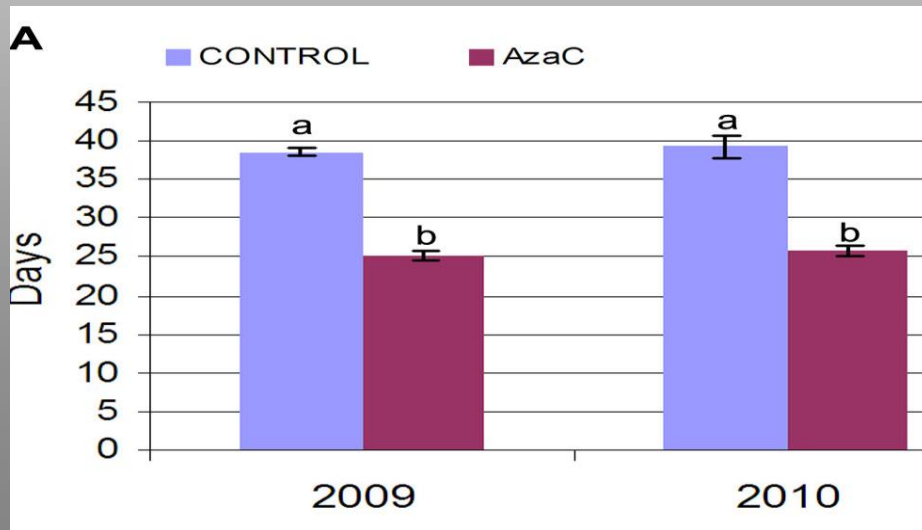
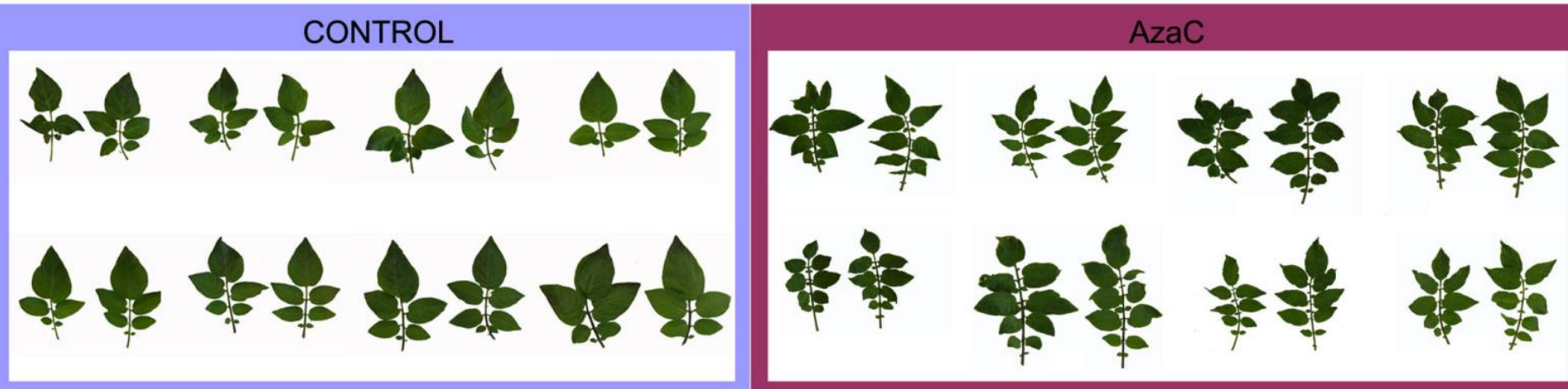
B- Frecuencia de variables epialélicas dentro y entre poblaciones naturales



C y D- Dinámica de los cambios epigenéticos en condiciones naturales. Factores que inducen variabilidad epigenética, herencia y mecanismos evolutivos que determinan los patrones de variabilidad epigenética natural.

La variación epialélica puede ser fuente de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Cambios morfológicos y en el tiempo a floración inducidos por alteración química de los patrones de metilación en papa

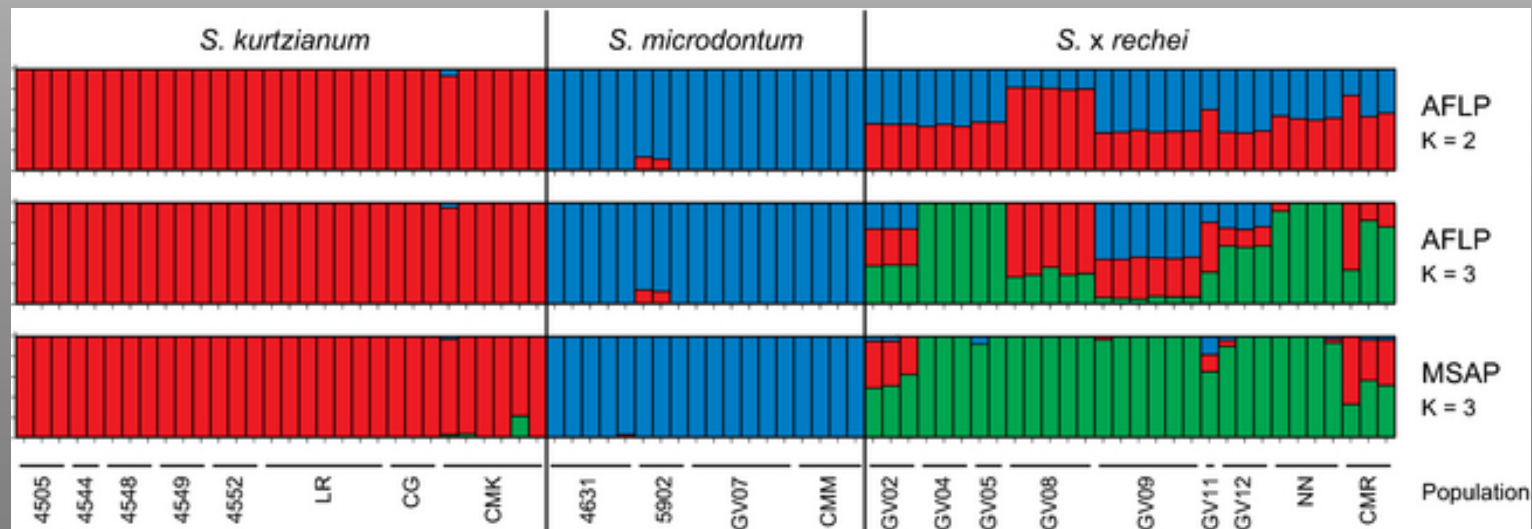


La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Patrones epigenéticos establecidos tras la hibridación interespecífica entre poblaciones naturales de *Solanum*



Cara et al. Ecology and Evolution 3: 3764–3779 (2013)



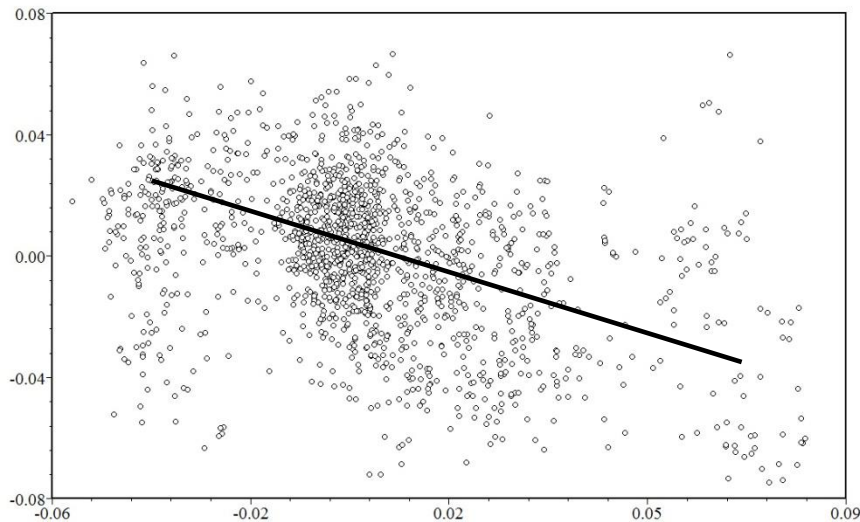
Estructura genética y epigenética de poblaciones naturales

La variación epialélica podría ser la base de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

Correlación entre variabilidad genética, epigenética y morfológica

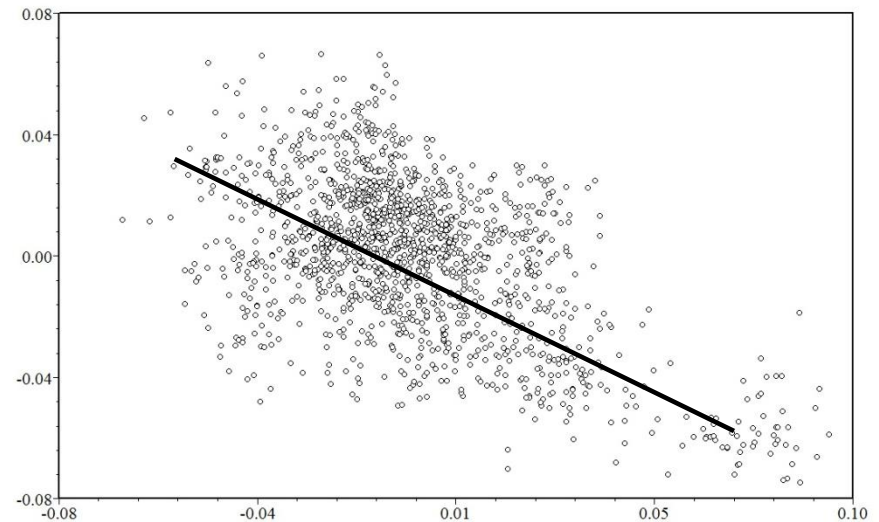
Correlación de matrices - Prueba de Mantel

AFLP vs Morfología



$r = 0.38$

MSAP vs Morfología



$r = 0.55$

La variación epialélica puede ser fuente de importantes diferencias fenotípicas entre las poblaciones naturales de plantas

El nuevo patrón epigenético establecido en el híbrido podría influir en la plasticidad fenotípica y adaptación a nuevos entornos

Solanum microdontum X *Solanum kurtzianum*



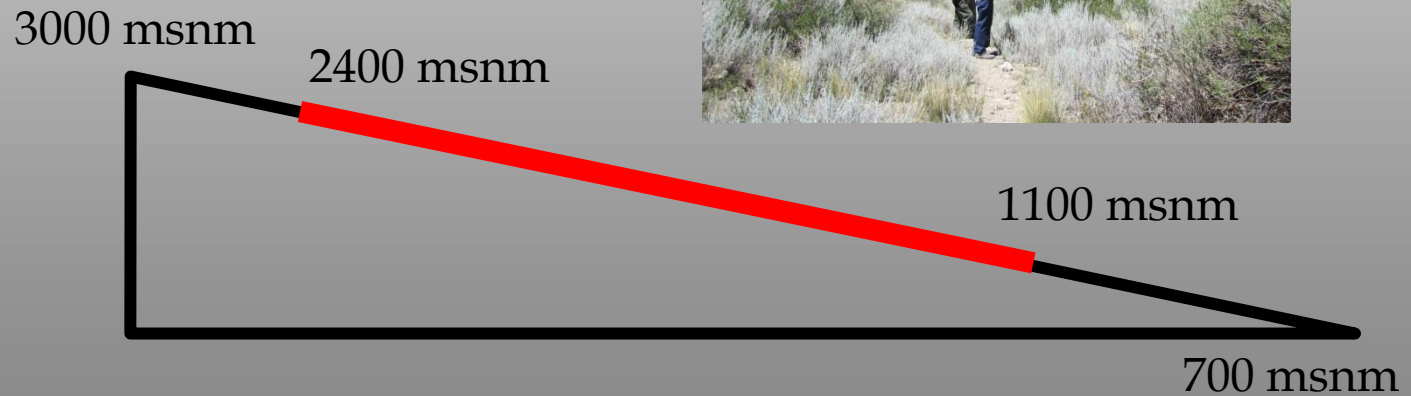
Solanum x rechei



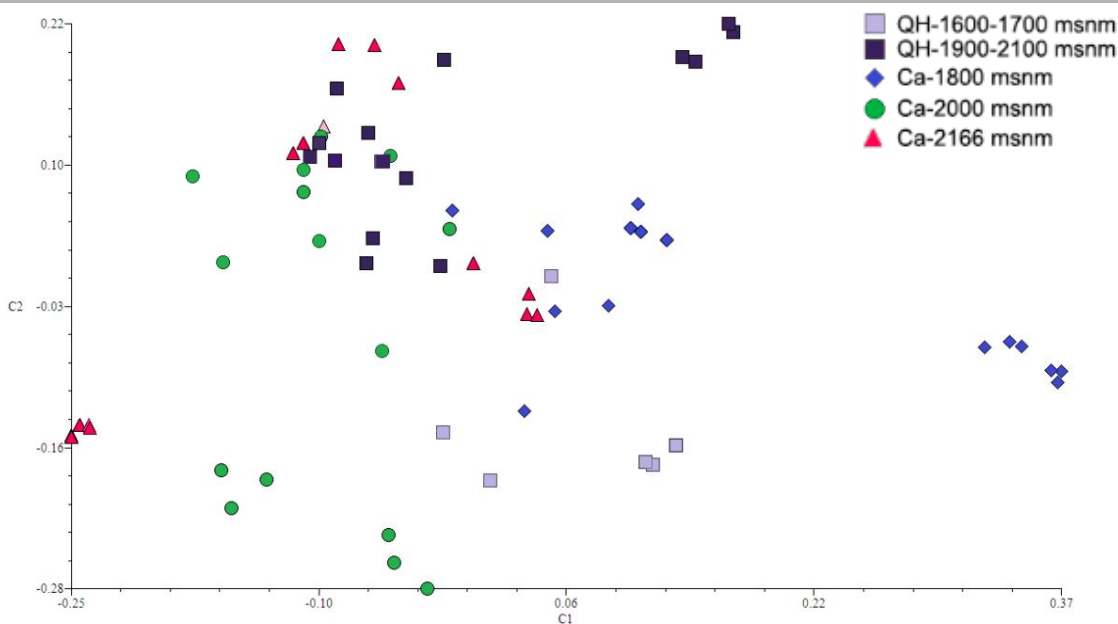
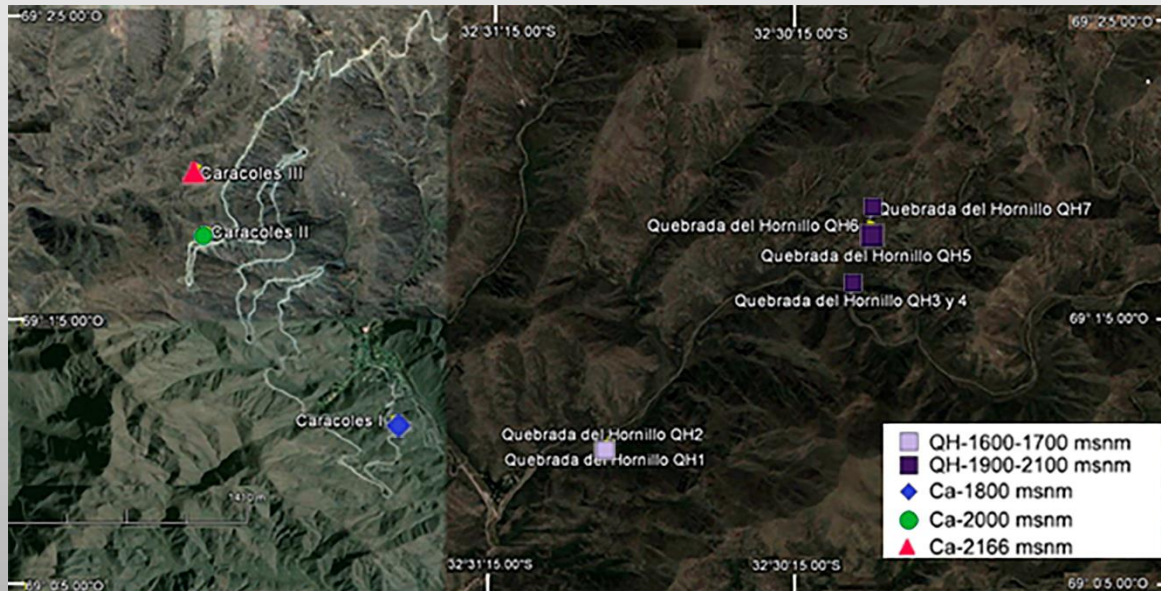
Modulación de los patrones epigenéticos por el ambiente

Modelo experimental

La especie silvestre de papa *Solanum kurtzianum* creciendo en la Reserva Natural Villavicencio

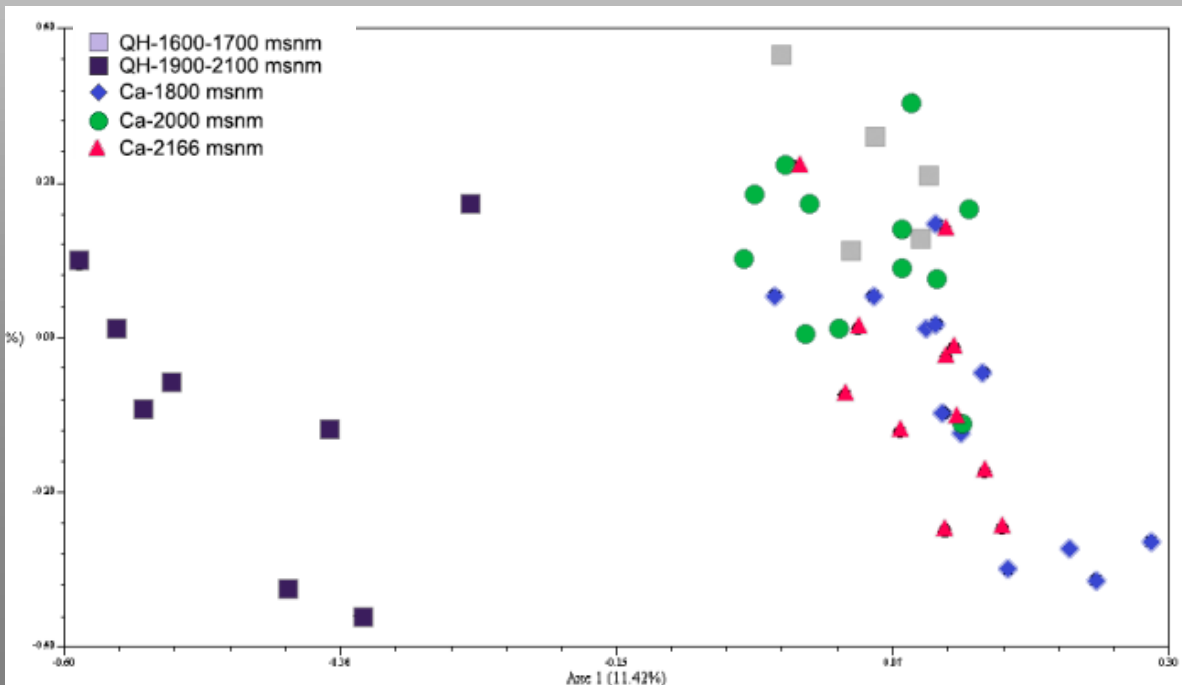
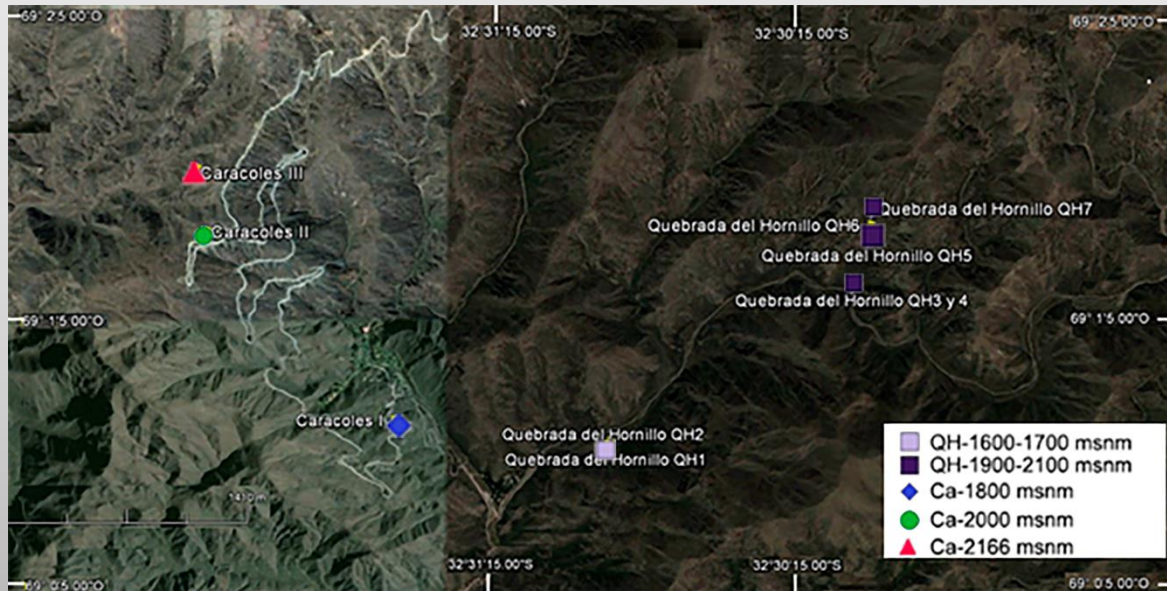


Variabilidad genética en poblaciones de *S. kurtzianum* a lo largo de un gradiente altitudinal (AFLP- *Amplified Fragment Length Polymorphism*)



Indiferenciación entre plantas recolectadas en diferentes sitios: una *metapoblación* desde el punto de vista genético

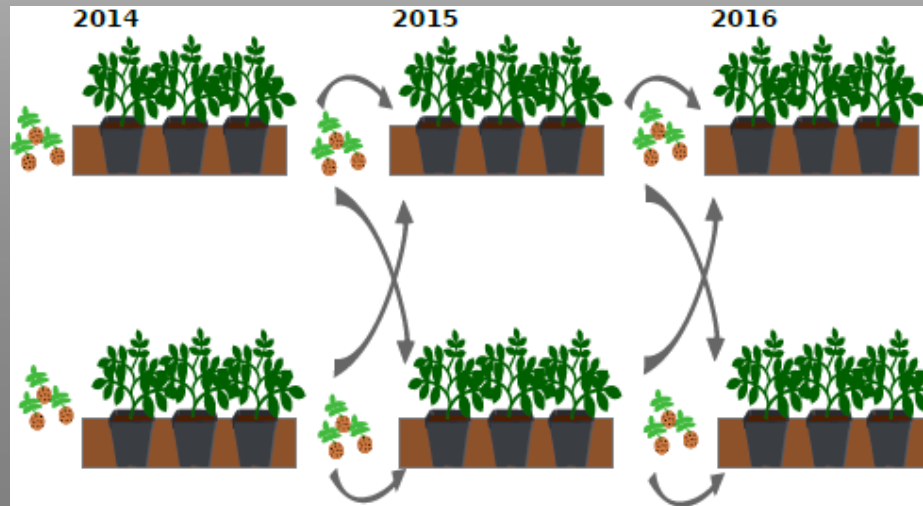
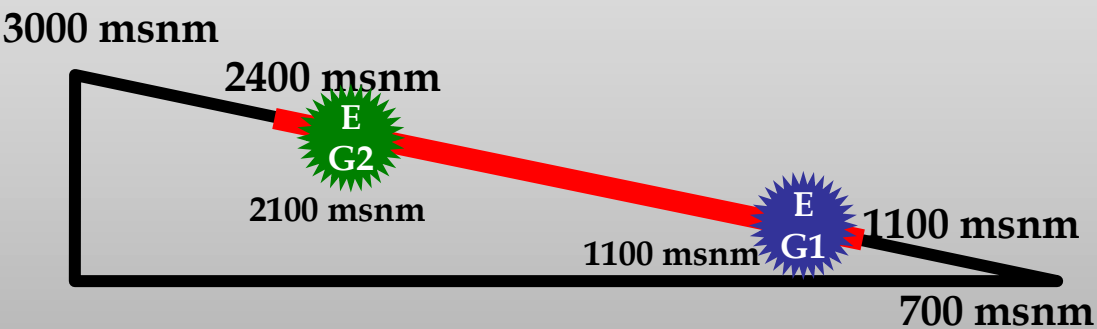
Variabilidad epigenética en poblaciones de *S. kurtzianum* a lo largo de un gradiente altitudinal (MSAP- *Methylation Sensitive Amplified Polymorphism*)



Las plantas recolectadas sobre una ladera de Quebrada Hornillos tienen un epigenoma diferente del resto de las plantas

Modulación de los patrones epigenéticos por el ambiente

Jardines experimentales ubicados en los extremos del gradiente altitudinal dentro de la RN Villavicencio y experimento de trasplantes recíprocos



Modulación de los patrones epigenéticos por el ambiente

Variabilidad epigenética en *Solanum kurtzianum* en jardines experimentales

