

Kuivõrd on pärandumine seotud geenidega?

Üldisi tähelepanekuid ja seos inimese evolutsiooniga

*Helle-Viivi Tolk**

Pärast 1930. aastate evolutsiooniteooria moodsat sünteesi jõuti järeldusele, et mendellik geneetika pole vastuolus neodarvinistliku lähenemisega, mis toob esile ennekõike loodusliku valiku, seejuures on mehhanismid samad nii mikro- kui ka makroevolutsioonilistes muutustes. Kõige keskmeks sai geen – diskreetne päranduv üksus. Oli suudetud leida ka esmane lahendus ühtlaste üleminekutega tunnuseväärtuste probleemile – juba paar erinevat geeni, panustades ühte tunnusesse, annavad binoomjaotuse. Raskemaks läks aga 1960. aastate alguses – ilmes, et tegelik varieeruvus igal juba igal valgul on palju suurem, kui klassikaline neodarvinistlik käsitlus suudaks seletada – lihtsalt talumatult suur. Neutraalse evolutsiooniteooria rajaja Motoo Kimura väitis, et enamus muutusi DNA-s ei satugi valiku surve alla; üksnes väikene hulk muutustest avaldub üldse fenotüübis ja neistki suurem osa on loodusliku valiku suhtes neutraalsed; enamik muutusi

*Eesti Biokeskus, kontakt: hvtoolk@gmail.com

populatsioonis seega fikseerub juhuslike protsesside tulemusena.

Praegu aga on molekulaarevolutsiooni ajaloost tarvis kõrvale pöörduda. Nimelt ei sattunud evolutsiooniteooria moodsa sünteesi kompilatsiooni hulka arengubioloogilised küsimused. Tõsi, 1930. aastatel oli see teadus alles lapsekingades, kuigi 1924. aasta Hans Spemanni ja Hilde Mangoldi töö vesiliku embrüogeneesi eksperimentaalse modifitseerimise kohta pani aluse täiesti uuele suunale arengubioloogias. Mehhanismide mõistmiseni aitas jõuda Rita Levi-Montalcini ennastsalgav töö teise maailmasõja päevil ja hiljemgi – tema ja ta kolleegide panuseks oli kasvufaktorite avastamine. Päris põhjaliku ülevaate saab arengubioloogia ja evolutsiooni kokkupuute aladelt P. Batesoni ja P. Gluckmani hiljutisest raamatust (2011).

Miks siis aga ühesugust geneetilist struktuuri omavad rakud diferentseeruvad erinevateks kudedeks, mis on need mehhanismid? Sellele küsimusele üritas vastust leida C. H. Waddington (1942), kui ta võttis kasutusele termini *epigenotüüp*. Samuti on tema poolt loodud terminid *epialleel*, *epigeneetika* ja *epigeneetiline maastik*. Tänapäeval teame, et selline päritav muutus geeniekspressioonis, mis ei ole DNA järjes- tusse kodeeritud, on seotud DNA metülatsiooni ja kromatiini struktuuri modifikatsioonidega (histoonide atsetüleerimisega). Aga nagu viimase aja teadus näitab, ei ole see veel täielik mehhanismide nimekiri – oluline osa on ka mittekodeerivatel RNA molekulidel (*ncRNA*) (Liebers *et al.* 2014).

Siit koorub välja kohe mitu küsimust. Kas epigeneetilised modifikatsioonid on evolutsiooniliselt konserveerunud mehhanism, milliste organismirühmadega see on seotud? Kuivõrd on võimalus keskkonnatingimustel vahele segada

geenide avaldumise regulatsioonile? Kas epigeneetiliste muudatuste muster on päritav põlvkondade vahel? Kas epigeneetilised erinevused on olulised fülogeneesipuu eri harude diferentseerumisel või on need erinevused hoopis sekundaarne nähtus? Oluline on siin märgata võimalikku neolamarkistlikku lähenemist – kas keskkonna mõjutused organismile päranduvad järgmisse põlvkonda? Enne kui edasi minna, toon siinkohal ära ühe olulise kokkuvõtva raamatu (toim. Haslberger & Gressler, 2010), mis seletab lahti inimese epigeneetika palju erinevaid tahke.

Tänapäeva tegemised

Praegusel ajal on oluline rõhk uurimistöodes kompleks-tunnuste geneetilise tausta kindlaks tegemine. Aga hoolimata suurtest edusammudest tuhandete genoomide analüüsimisel, seda eeskätt inimese puhul, panustavad leitud geenid mingi tunnuse varieeruvusse üksnes paar protsenti. Arvatakse, et kui suurenda uuritavate indiviidide hulka ja markerite arvu, siis lõpuks saab geneetiliste põhjuste määra märgatavalt tõsta. See ei pruugi aga nii olla – kui erinevused on epialleelide tasemel, siis võivad need märkamata jääda. Siin on veel teine asjaolu – metülatsioonimuster on eri kudedes ja erinevates organismi arengufaasides erinev, mis on sageli jäetud tähelepanuta. Siin on huvitav teha üks kõrvalepõige inimese vanuse määramisest DNA metülatsiooni mustrit kasutades. (Pedersen *et al.* 2014). Nimelt suutsid uurijad E.Willerslevi grupist analüüsida Gröönimaalt pärit umbes 4000 aastat vana juukseahlu kromatiini nukleosoomset struktuuri. Aga kõige huvitavam oli see, et nad võtsid ette paar genoomi piirkonda, mille metülatsioon on teadaolevalt vanuses lineaarses seoses, tegid ise tänapäeva inimestega kalibreerimise ning tulemuseks

said, et Saqqaq'i inimene pidi surses olema vanuses 44...69 eluaastat.

Et epigenoomikas olukorda veidi parandada, on Euroopa Liit rahastamas ulatuslikku projekti (2011-2016) nimega *Blueprint* (www.blueprint-epigenome.eu), mille käigus investeeritakse 30 miljonit eurot, et kirjeldada 100 referentsgenoomi. Selle uurimistöö eesmärgiks on vereloomega ja sellega seotud haiguste epigeneetiliste mehhanismide tundmaõppimine – kogu inimese kõikide kudede epigeneetiliste mehhanismide selgeks saamisega läheb ilmselt veel palju aastaid. Aastatel 1999-2006 eksisteeris uhke nimega projekt – Human Epigenome Project, mille tulemusel suudeti analüüsida inimese kolme kromosoomi metülatsioonimustrit 12 koest 43 indiviidilt (Eckhardt *et al.*, 2006). Leidsid, et ca 17% uuritud 873 geenide 5'-regulatsioonialast olid erinevalt metüleeritud, seejuures seos transkriptsiooni aktiivsusega oli ainult 1/3 neist; autorid ei leidnud metülatsiooni korrelatsiooni vanuse ega soolise kuuluvusega. Esimesed korralikud ülegenoomsed metüloomi kaardid avaldati 2009-2010. Näiteks selgus, et inimese embrüonaalsetes tüvirakkudes pole ¼ metülatsiooni kohtadest seotud tavapärase CpG-saartega (tavaliselt on need geenide ees promotoralades), vaid hoopis teises DNA kontekstis, tavaliselt geenide sees (Lister *et al.* 2009) ja selline märgistus hakkas kaduma niipea, kui rakud hakkasid eristuma. Suuremat sorti töö inimese genoomi funktsionaalsete osade kohta on seotud projectiga ENCODE - Encyclopedia of DNA Elements (www.encodeproject.org), millega alustati 2003. aastal, aga mille olulisim saavutuste pakett publitseeriti 2012. aastal (www.nature.com/encode).

Viimasel ajal on epigeneetikaalase informatsiooni hulk järsult suurenenud. Selleks, et teemal kuidagi silma peal

hoida, on seltskond huvilisi teinud ülevaatliku veebilehekülje *epigenie* (epigenie.com), kust võib leida hulgaliselt süstematiseeritud infot – nii webinarid, mitmesugust tehnilist juttu kui ka uudiseid.

Üldine jaotus epigeneetilistel mehhanismidel

Üks kõige põhjalikemaid ülevaateid epigeneetilistest nähtustest on seotud Eva Jablonkaga (Jablonka & Lamb, 2005; Jablonka, 2013). Ta on suhteliselt skeptiline kõigi nende geneetilist horoskoopki müüvate firmade suhtes, kes ütlevad, et saatke meile oma DNA-proov ja meie ütleme, millistesse haigustesse te surete. Tema arvates on lisaks DNA primaarjärjestusele geeni avaldumisel oluline tema epigeneetiline keskkond. Eva Jablonka ja Marion Lamb eristavad nelja tüüpi epigeneetilise päritavuse süsteemi (EIS): 1. Ennast alalhoidvad tagasisidemehhanismid. Geenid reguleerivad otse või kaudselt iseenda transkriptsioonilist aktiivsust. 2. Strukturaalne päritavus. Rakkude ehituslikud koostisosad toimivad tütar-rakkudes uute struktuuride maatriksina – näiteks prioonite poolt edastatavad muutused, ripsloomade kortikaalstruktuurid, rakkude membraanstruktuurid. 3. Kromatiini märgistamine. Siia kuulub DNA metüleerimine ja histoonide atsetüleerimine, mille muustrid on eri kudedes ja eri vanuses erinevad. Samuti põlvkondade vaheline kromatiini märgistuse säilimine. 4. RNA-vahendatud päritavus. Siin on oluline osa väikeste RNAde toime mRNAdele ja DNA-le, milledega paardumine reguleerib geeniekspressiooni ja selline mõju võib samuti päranduda järgmisse põlvkonda.

Järgnevalt mõned näited põlvkondade vahelisest epigeneetilisest päritavusest. Jablonka ja Raz leidsid ülevaates (2009) üle saja juhtumi:

- bakterite puhul tosin näidet, enamasti tagasiside-mehhanismid;
- protistidel mitmed struktuuraalse päritavuse mehhanismid; olulised olid ka RNA-vahendatud süsteemid. Samuti leidis kromatiini modifikatsioone;
- seentelt 19 juhtumit, kõik neli mehhanismi esindatud;
- taimedel 38 juhtumit, paljude tunnuste ja paljude lookuste suhtes; neist kõik olid seotud kas kromatiini märgistamise või RNA-vahendatud päritavusega – eriti märgatav oli see polüploidiseerumise puhul.
- 27 juhtumit loomadelt, nagu taimedelgi, on olulised kromatiini märgistamine ja RNA-vahendatud mehhanismid; stressifaktorite toime oli samuti märgatav.

Kui eksperimentaalselt rikuti hiirte metülatsoonimehhanismi, siis see muster pärandus edasi kuue põlvkonna jooksul (Anway *et al.*, 2005). Nimelt anti emastele hiirtele vinklosoliini, fungitsiidset mürki, mis võistleb testosterooniga androgeeni-retseprotille seostumise eest ja tekitab mitu põlvkonda järjest isastel testikulaarseid defekte ja vähendab viljakust.

Üks töö (Zemach *et al.* 2010) üritas tuua selgust segasesse probleemi, kas DNA metüleerimisega seotud mehhanismid on universaalsed või on eukarüootide eri harudes sõltumatult tekkinud. Probleem sai alguse sellest, et nii mõnigi laboris üldkasutatav mudelorganism ei paistnud seda mehhanismi rakendavat – äädikakärbes, varbuss ja pagaripärm. Tegemist oli veel ühe probleemiga – nimelt võis eeldada, et metüleerimine on oluline neis organismides, kus on palju transposoonseid elemente (TE) – metüleerimine võiks neid „ohjes hoida“. Vaadeldi 17 organismi – nii taimi, loomi kui seeni. Üldiselt paistis, et nn geenikeha metüleerimine

aktiivsete geenide puhul on suhteliselt ammune ja üldine nähtus päristuumsete hulgas. Aga samas on igas organismirühmas ka mitmeid spetsiifilisi nüansse. Näiteks riisile oli omane see, et TE-des toimus metüleerimine igasuguses DNA-kontekstis, aga CpG metülatsioon oli seotud geenide 5'osaga; kõige rohkem metüleeritud DNA kõigist uuritud organismidest kuulus vetikale *Chlorella* – peaaegu kõik geenid olid metüleeritud, kuigi paljudel oli järsk metülatsiooni vähenemine geenide promotoraalades. Äädikakärbse ja jahumardika DNA ei näita embrüogeneesi esimesel paaril päeval mingit metülatsiooni. Üldiselt andsid erinevad selgrootud – jahumardikas, mesilane, varbuss, koiliblikas ja ainuõsne – suhteliselt sarnase pildi: geenide kehad on metüleeritud sarnaselt taimede ja kaladega, kõige tugevamalt metüleeritud on keskmiselt ekspresseeritud geenid, aga TE-d on alametüleeritud. Seened paistavad kasutavad metülatsiooni TE-de ja mittetranskribeeritavate DNA järjestuste inhibeerimiseks, geenid pole tavaliselt metüleeritud. Jõuti järeldusele, et metüleerimine on ilmselt oluline suguliselt sigivatel maismaa taimedel ja selgroogsetel, sest nendel on see vajalik transposonite vaigistamiseks. Seejuures vähem sugulist protsessi harrastavatel organismidel, nagu seened ja protistid, pole see olnud nii tarvilik. Asjaolu, et laboris kasutatavatel mudelorganismidel ei paista DNA metülatsiooni eriti olevat, on ilmselt seletatav mehhanismi sekundaarse kadumamineku või vähenemisega.

Inimese evolutsioon ja epigeneetilised mehhanismid

Primaatide genoomi metülatsiooni erinevusi on uurinud mitmed grupid. Nimelt on leitud inimese, šimpansi ja makaagi neuronite võrdluses (Shulha *et al.*, 2012), et inimese

liinis on ligi 500 spetsiifilise muustriga geeni. Nii mõnegi geeni puhul näidati, et ilmselt on olnud ka valiku surve DNA-järjestuse muutuseks märgatav. Järgnevas sama grupi töös (Hernando-Herraez *et al.* 2013) lisati juurde veel orangutan, kääbus-šimpans ja gorilla. Igas liinis olid spetsiifilised metülatsioonimustrid: inimesel 171, šimpansidel 101, gorillal 101 ja orangutanil 450. Seejuures rõhutati, et 184 geeni puhul olid inimese ja šimpansi valgujärjestused konserveerunud, aga epigeneetiliseltselt olid geenid märgatavalt erinevad. Sarnasele tulemusele jõudsid ka Zeng *et al.* (2012) inimese ja šimpansi aju metülatsioonimustrid uurides – kõrgelt erinevaid oli 468 ja need olid enamasti assotseerunud neuroloogiliste- ja psüühikahäiretega ning vähiga. Inimese ja šimpansi aju erinevus ja eriti selle metülatsioonimustrid hakkasid huvitama ka saksa teadlasi (Schneider *et al.* 2014). Nad võtsid ette ühe piraka geeni CNTNAP2, mida seostatakse inimesel keele ja kõnevõime arenguga, ning mille avaldumise vead põhjustavad mitmeid neurodegeneratiivseid haiguseid. Selgus, et tõepoolest, metülatsioonimuster selles geenis on oluliselt erinev inimese ja šimpansi vahel – umbes 1/5 analüüsitud järjestusest oli erinev kuue inimese ja viie šimpansi võrdluses.

Tahaksin veel tuua näite sellest, kuidas DNA-metüleerimise erinevust on uuritud inimese erinevates populatsioonides. Nimelt Heyn *et al.* (2013) on teinud töö, kus on uuritud B-rakkude kultuuri umbes 300 inimesel kolmest segapopulatsioonist: afro-ameerika, hiina-ameerika ja kaukasoid-ameerika. Tõepoolest – erinevused esinesid, eeskätt geenides, mis olid seotud immuunvastuse ja haiguste ning vastustega keskkonnatingimuste muutustele. Üks asi oli veel silmatorkav – kui paljuski oli metülatsioonimuster seotud

DNA-järjestusega, siis 1/3 juhtudest ei olnud võimalik leida seost epigeneetilise ja geneetilise varieeruvuse vahel.

L. Carmeli juhitud meeskond tegi äsja huvitava uurimuse (Gokhman *et al.* 2014), milles kasutati ära metüleeritud ja metüleerimata tsütosiinide erinev lagunemistee, näiteks tümiiniks (C→T) või uratsiiliks (C→U) – sarnaselt bisulfiti reaktsioonile, mida kasutatakse sageli ka laboritingimustes metüleerimise selgitamiseks. Igatahes võeti vaatluse alla neandertaallase ja denissovi inimese DNA võrdluses tänapäeva inimesega ja leiti päris palju huvitavat – erinevalt metüleeritud kohti (DMR-id) detekteeriti umbes 2000, millest suur osa oli seotud HOXD klastriga, millel võib olla oluline osa skeletimuutustes. Teatud DNA piirkondades, mis on seotud moodsa aja haigustega, leiti samuti suurem hulk erinevusi. Kõigil kolmel leiti suurenenud hulk DMR-e ajustruktuuridega seotud geenides, tänapäeva inimesel veel südame-veresoonkonna, skeleti ja immuunsüsteemi tööd määravates geenides.

Siin pean ma nüüd jälle pisut skeptilisema arutelu juurde asuma – nimelt ei tasu arvata, et inimese liini evolutsioonis on määrav koht olnud epigeneetilistel protsessidel. Põhjalikus ülevaateartiklis inimese liini spetsiifilistest nüanssidest (O’Bleness, *et al.* 2012) saab teada, et olulised on ka: a) alternatiivne splaissing (112 geeni), b) valgus domäänide amplifikatsioon (märkimisväärseim on *DUF1220*, mille koopiad on šimpansil 126, inimesel 272, aga hiirel ainult 1 – seda geeni seostatakse inimese aju suurenemisega, c) aminohappe muutused valgus (näited *COX5A* ja *FOXP2*), d) pseudogeenistumine (38 geeni, neist 9 olid ühe koopiana, levinuim on protsess olfaktorsete geenide puhul), e) geeni-konversioon – tavaliselt viib pseudogeenistumisele, aga

mõnikord teeb vastupidist (*SIGLEC11*), f) koopia numbri muutus (näieks akvaporiiin *AQP7*, mis on oluline rasvarakudest glütserooli kasutamiseks paastumise ja pikaajalise kehalise aktiivsuse ajal), g) *de novo* inimese liinis geenide tekkimine – siiani väga vaieldav küsimus, veenvaid tõendeid pole, h) geeni ekspressiooni muutused – siia alla käib ka epigeneetiline regulatsioon.

Ilmselt on veel vara teha põhjanevaid järeldusi epigeneetiliste mehhanismide suunavast mõjust evolutsioonis, aga üsna kindlalt võib väita, et tegemist on piiravate teguritega, mis mõjutavad ja kanaliseerivad organismide plastilisust ja seega ka populatsiooni üldist varieeruvust, mida on omakorda tarvis loodusliku valiku toimimiseks.

Kirjandus:

- Anway, M.D., Cupp, A. S., Uzumcu, M., *et al.* (2005) Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*, 308, 1466– 1469.
- Bateson, P. & Gluckman, P. (2011) *Plasticity, Robustness, Development, and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Eckhardt, F., Lewin, J., Cortese, R., *et al.* (2006) DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22. *Nature Genetics*, 38, 1378-1385.
- Gokhman, D., Lavi, E., Prüfer, K., *et al.* (2014) Reconstructing the DNA methylation maps of the Neandertal and the Denisovan. *Science*, Epub: April, 17.
- Haslberger & Gressler (eds.) (2010) *Epigenetics and Human Health: Linking Hereditary, Environmental and Nutritional Aspects*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim
- Hernando-Herraez, I., Prado-Martinez, J., Garg, P., *et al.* (2013) Dynamics of DNA methylation in recent human and great ape evolution. *PLoS Genetics*, 9(9): e1003763.
- Heyn, H., Moran, S., Hernando-Herraez, I., *et al.* (2013) DNA methylation contributes to natural human variation. *Genome Research*, 23, 1363-1372.
- Jablonka, E. (2013) Some problems with genetic horoscopes. *Genetic Explanations: sense and nonsense* (eds. Krimsky, S. & Gruber, J.), p71-80. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Jablonka, E. & Lamb, M. (2005) *Evolution in Four Dimensions: Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life*. MIT Press, Cambridge, MA.
- Jablonka, E., G. Raz, G. (2009) Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *Quarterly Review of Biology*, 84, 131– 176.
- Liebers, R., Rassoulzadegan, M., Lyko, F. (2014) Epigenetic regulation by heritable RNA. *PLoS Genetics* 10(4): e1004296.

- Lister, R., Pelizzola, M., Dowen, R.H., *et al.* (2009) Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*, 7271, 315-322.
- O'Bleness, M., Searles, V.B., Varki, A., Gagneux, P., Sikela, J.M. (2012) Evolution of genetic and genomic features unique to the human lineage. *Nature Reviews Genetics*, 13, 853-866.
- Waddington, C.H. (1942) The epigenotype. *Endeavour*, 1, 18-20.
Kordustrück: *International Journal of Epidemiology*, 2012, 41, 10-13.
- Schneider, E., El Hajj, N., Richter, S., *et al.* (2014) Widespread differences in cortex DNA methylation of the "language gene" CNTNAP2 between humans and chimpanzees. *Epigenetics*, 9, 533-545.
- Shulha, H.P., Crisci, J.L., Reshetov, D., *et al.* (2012) Human-specific histone methylation signatures at transcription start sites in prefrontal neurons. *PLoS Biology*, 10(11): e1001427.
- Zemach, A., McDaniel, I.E., Silva, P., Zilberman D. (2010) Genome-wide evolutionary analysis of eukaryotic DNA methylation. *Science*, 5980, 916-919.
- Zeng, J., Konopka, G., Hunt, B.G., *et al.* 2012. Divergent whole-genome methylation maps of human and chimpanzee brains reveal epigenetic basis of human regulatory evolution. *American Journal of Human Genetics*, 91, 455-465.