

Modyfikacje
epigenetyczne w czasie
wzrostu oocytów
związane z rozszerzeniem
rozwoju
partenogenetycznego u
myszy.

Małgorzata Karney

Epigenetyka

Epigenetyka zwykle definiowana jest jako nauka o dziedzicznych zmianach w fenotypie w organizmie bądź komórce , spowodowane przez zmiany w ekspresji genów, które nie wynikają ze zmian w podstawowej sekwencji DNA.

Mechanizmem odpowiedzialnym za epigenetyczną regulację ekspresji genów jest modyfikacja DNA, taką modyfikacją jest np: metylacja.

Imprinting

Polega na różnym stopniu metylacji genów w komórkach jajowych i komórek plemnikowych.

Gen jest metylowany na allelu pochodzącym od jednego z rodziców. Nakładanie imprintingu zachodzi w czasie gametogenezy.

Wtedy jest znoszony wzór metylacji odziedziczony po rodzicach i nakładany nowy, zależy od płci. Do zmetylowanego nukleotydu nie mogą się przyczepić czynniki transkrypcyjne, co powoduje wyciszenie genu.

Cel badania:

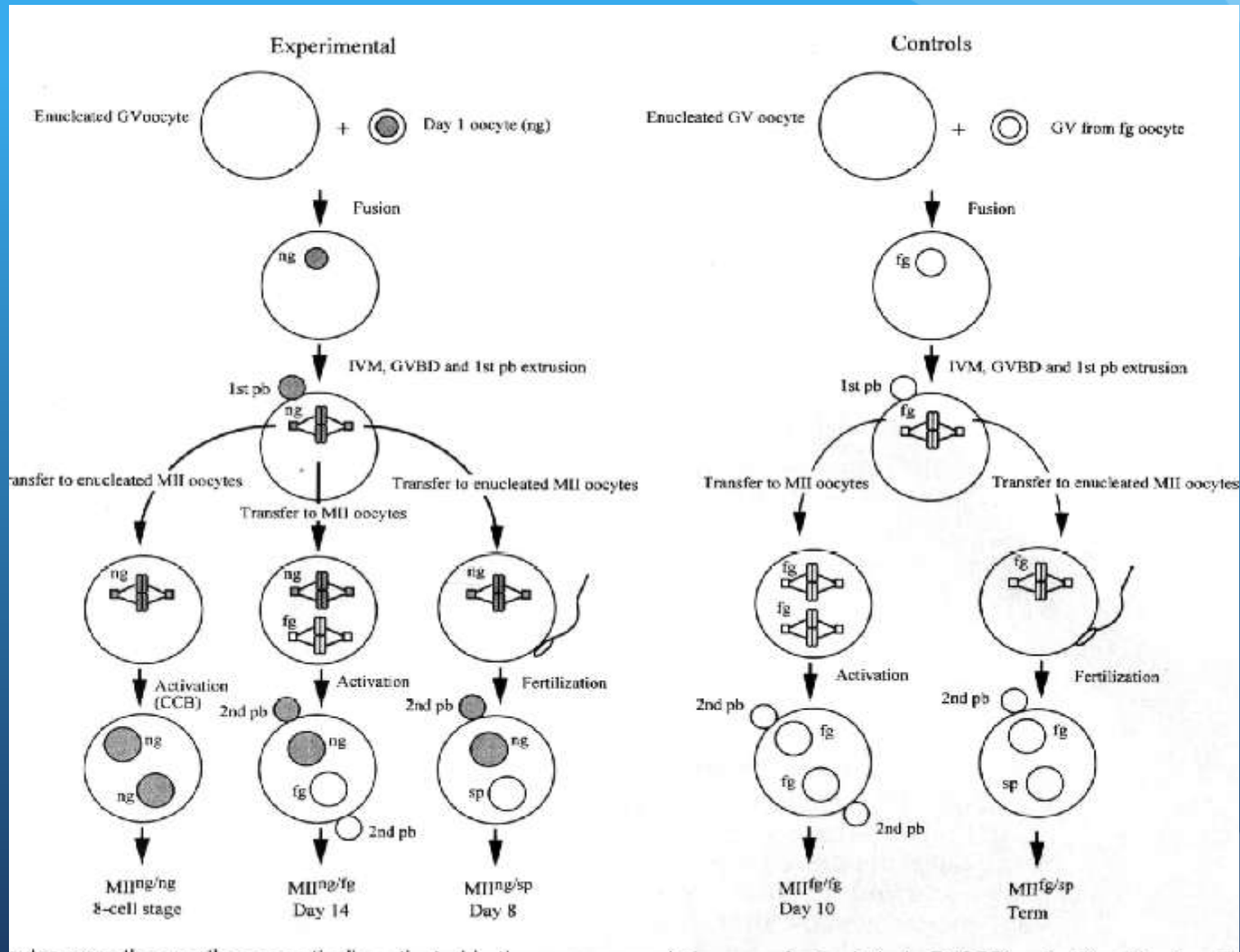
Doświadczenie miało na celu zbadanie wpływu modyfikacji epigenetycznych na wzrost i rozwój oocytu podczas embriogenezy.

Do wykonania doświadczenia użyto dwóch grup:

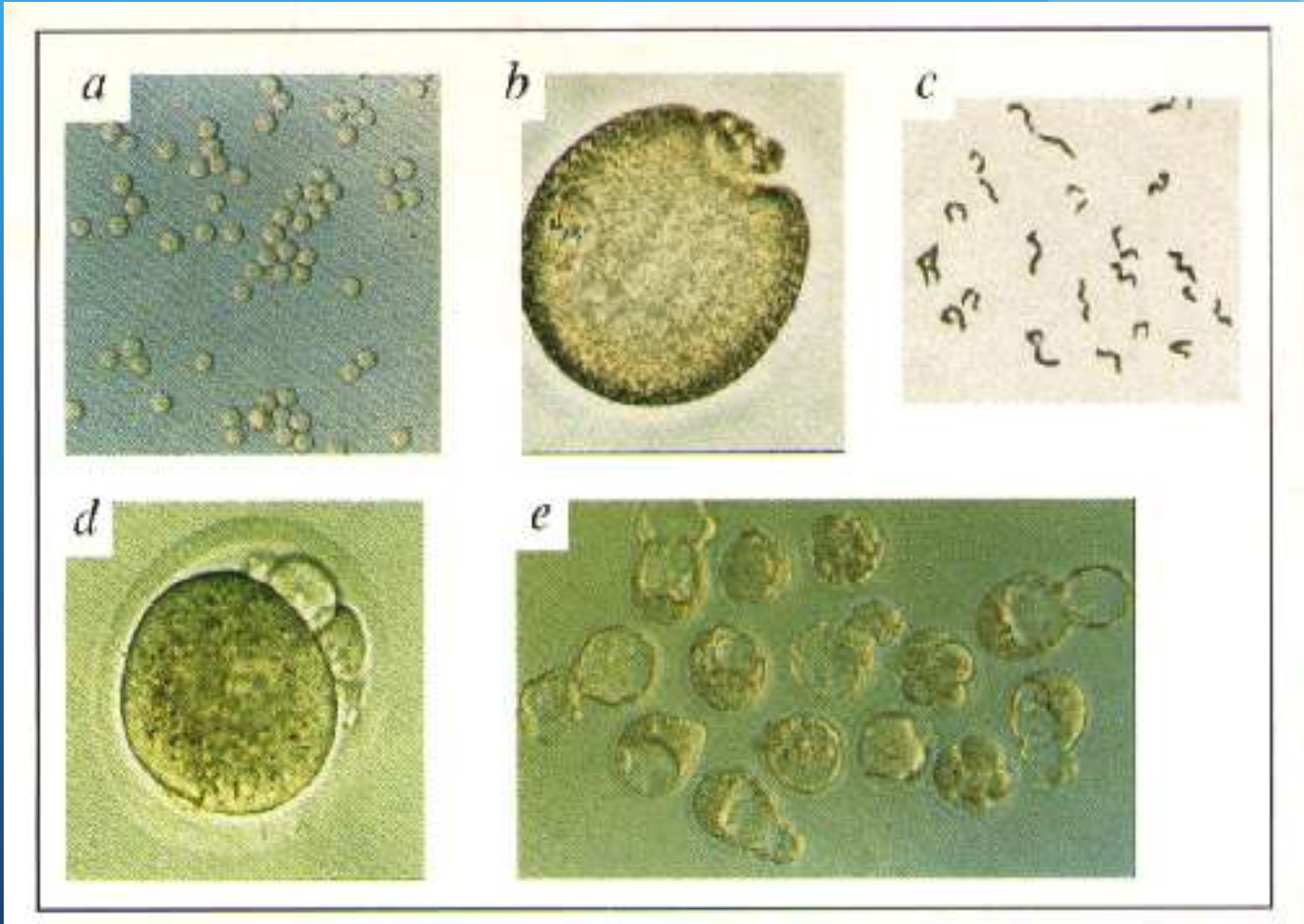
Eksperymentalna grupa - połączenie niewyrośniętych pierwotnych oocytów z jednodniowej myszy (ng), z dojrzałymi oocytami, z których wcześniej usunięto pęcherzyk zarodkowy (fg).

Kontrolna grupa - połączenie bezjądrowego, dojrzałego oocyta z pęcherzykiem zarodkowym wyizolowanym z innego dojrzałego oocyta.

Produkcja oocytów zawierających matczyne allele z różnych źródeł i rozwój zarodków.



Wyprodukowane oocyty oraz zarodki zawierające jądro z niewyrosniętych pierwotnych oocytów.

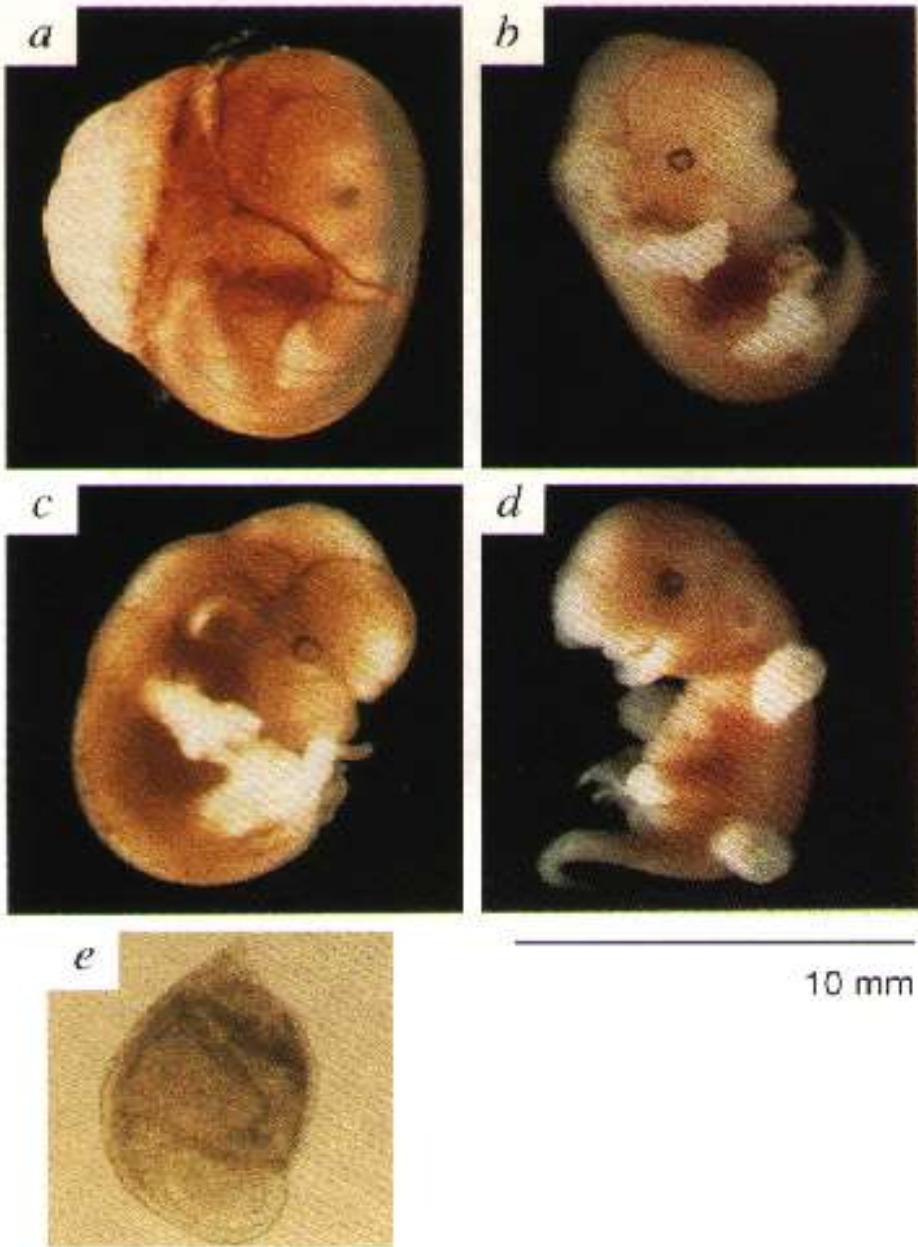


Etapy zapłodnienia i aktywacji partenogenetycznej były podobne we wszystkich badanych grupach. Rozwój do stadium blastocysty i poziomów implantacji po przeniesieniu zarodka, były normalne u zarodków zawierających przynajmniej jeden zestaw alleli pochodzących z dojrzałych oocytów lub plemników. Aczkolwiek, u zarodków z matczynymi allelami otrzymanymi całkowicie z małych niewyrośniętych oocytów, tylko 13 % uformowało 8-komórkowe zarodki.

Rozwój zarodków zawierających chromatynę z niewyrośniętego pierwotnego oocyta.

Table 1 Development of embryos containing chromatin from non-growing primary oocytes

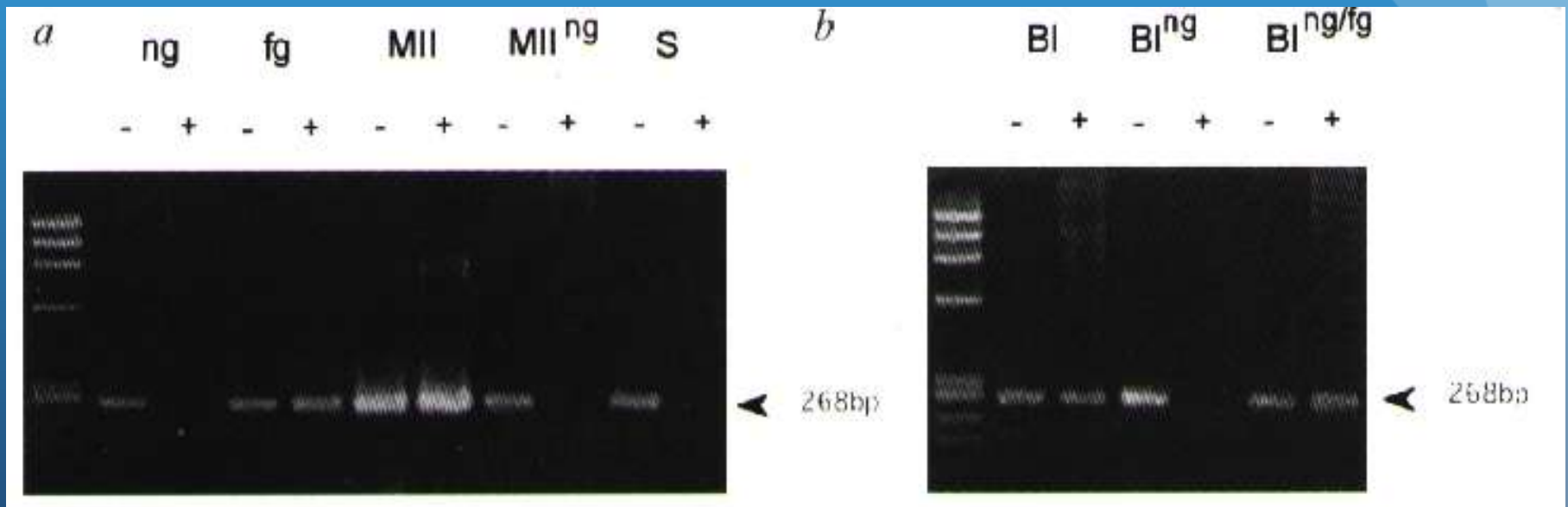
Type of reconstituted oocyte	Normally fertilized or activated oocytes/ total	Blastocysts/ total	Pregnant recipients/ total	Day of autopsy	Conceptuses/ total	Fetuses			
						<8mm	>8mm	>9mm	>10mm
Experimental									
MII ng/ng (parthenogenetic)	39/43	0/39 (5/39 8-cells)							
MII ng/sp (fertilized)	122/199	70/101	1/1	9.5 dpc	6/11	1			
			1/1	10.5 dpc	6/11				
			1/1	11.5 dpc	9/10				
			2/3	12.5 dpc	13/16				
MII ng/fg (parthenogenetic)	175/274	124/131	2/2	13.5 dpc	13/18		2	3 (2 alive)	1 (alive)
			2/2	14.5 dpc	10/15	1	1	2	1
			2/2	15.5 dpc	14/18	3	3	1	1
Controls									
MII fg/sp (fertilized)	16/31	11/16	2/2	19.5 dpc	6/11	4 live young			
MII fg/fg (parthenogenetic)	32/50	27/32	2/2	11.5 dpc	15/27	all resorbed			



Rozwój zarodków po implantacji. Zarodki zawierają matczyne allele z niewyrośniętego oocyty po zapłodnieniu lub aktywacji.

Locus jest niezmetylowany u niewyrośniętych pierwotnie oocytów i zmetylowany u dojrzałych oocytów.

Potwierdzono, że istnieją różnice epigenetyczne, w zależności od pochodzenia chromatyny matki.



Analiza wzoru metylacji DNA genu *Igf2r* w oocytach i zarodkach.

Te wyniki potwierdzają wcześniejszy pogląd, że fenotypy MIng/ng, MIng/fg, MIng/sp zarodków są wynikiem modyfikacji epigenetycznych, które występują w czasie dojrzewania oocytu.

Powodem tego, że zmiany epigenetyczne zmodyfikowały embrionalny fenotyp jest prawdopodobnie zmiana wzoru ekspresji genów podczas embriogenezy.

Molekularne podstawy ekspresji specyficznych alleli są nieznane, ale zaburzenia metylacji mogą prowadzić do biallelicznej ekspresji imprintingu genów.

Zmieniając prawidłowy wzór metylacji, jak to zrobiono tutaj dla Igf2r, należy się spodziewać zmiany ekspresji tego i innego imprintingu genów.

Mały rozmiar u partenogenetycznych zarodków i opóźniony wzrost widziany u partenogenetycznych chimer sugerują, że ekspresja matczynych genów ogólnie tłumiała wzrost.

Tym samym brak ekspresji tych genów matczynych alleli pochodzących z niewyrośniętych oocytów może tłumaczyć wzrost zarodka i rozwój łożyska w porównaniu do standartów partenogenetycznych.

Stabilność zmodyfikowanego wzoru metylacji w locus Igf2r w oocytach i zarodkach, zawierających matczyne allele z niewyrośniętych oocytów, ma znaczenie dla mechanizmów imprinting.

Brak właściwego wzoru metylacji w okresie dojrzewania oocytów i rozwoju do stadium blastocysty, sugeruje, że mechanizm odpowiedzialny za metylację tej strony działa tylko w określonym etapie oogenezy, przed wznowieniem mejozy.

Ograniczony okres zmian epigenetycznych, takich jak metylacja, mogą być spowodowane modyfikacjami w strukturze chromatyny w czasie wzrostu oocytu lub spowodowane przejściową obecnością niezbędnych dla oocytów specyficznych czynników.

Wnioski:

- allele uzyskane z rosnących oocytów z trzynastodniowych myszy nie przechodzą pełnego rozwoju
- ustalanie potrzebnej ilości zmian epigenetycznych występuje późno w oogenezie, w drugiej połowie fazy wzrostu
- modyfikacje epigenetyczne w czasie wzrostu oocytu mają dramatyczny wpływ na kolejne etapy rozwoju po zapłodnieniu lub aktywacji partenogenetycznej