

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
BOTAANIKA OSAKOND

Valerija Andrjuštšenko

**Epigeneetilise varieeruvuse olulisus ja roll
tänapäeva taimeteaduses**

Bakalaureusetöö

Bioloogia

Juhendaja: vanemteadur Tatjana Oja

Tartu 2016

1. Infoleht

„Epigeneetilise varieeruvuse olulisus ja roll tänapäeva taimeteaduses”

Epigeneetika on teadus organismide päritavatest omadustest, mis ei ole seotud muutustega DNA nukleotiidjärjestustes vaid võivad olla kaudselt kodeeritud genoomis. Kolm paremini teadaolevat mehhanismi epigeneetikas on ensümaatilise DNA metülatsioon, histooni modifikatsioonid ning geenide vaigistamine mikro-RNA (miRNA, siRNA) poolt. Nii päritav kui mittepäritav epigeneetiline varieeruvus on oluline varieeruvus allikas seesugustes ökoloogiliselt olulistest protsessides nagu reproduktsioon ja stressitaluvus. Epigeneetilist varieeruvust võivad kontrollida ka keskkonna muutlikkus ja/või geneetiline muutlikkus, ent see võib olla mõlemast sõltumatu. Looduslik epigeneetiline varieeruvus on väga oluline taimede fenotüübi määramisel.

Märksõnad: Epigeneetika, DNA metülatsioon, histoonide modifikatsioon, mikro-RNA, vaigistamine, taim, populatsioon, looduslik varieeruvus, pärilikkus, epialleelid, geenide avaldumine, adaptatsioon, evolutsioon, fenotüüp.

„The importance and role of epigenetic variation in modern science of plants”

Epigenetics is a science of inheritable organism properties that are not associated with changes in the DNA nucleotide sequence but can be indirectly encoded in the genome. The most known three epigenetic mechanisms are: enzymatic DNA methylation, the histone modifications and gene silencing mediated by small RNAs (miRNA, siRNA). Epigenetic mechanisms are important in plant responses to the environment in natural populations. Both heritable and non-heritable epigenetic variation is an important source of variance in ecologically important traits such as reproduction and stress tolerance in natural population. Epigenetic variation may be controlled by environmental variation and/or genetic variation, or it may be independent of both. Natural epigenetic variation is very important in shaping the phenotype of plants, too.

Key words: Epigenetics, DNA methylation, histone modification, micro-RNA, silencing, plant, population, natural variation, heritability, epialleles, gene expression, adaptation, evolution, phenotype.

Sisukord

1. Infoleht.....	2
2. Sissejuhatus.....	4
3. Mis on epigeneetika?.....	6
3.1. Epigeneetika ajalugu.....	6
4. Epigeneetilised mehhanismid.....	9
4.1. DNA metüleerimine.....	9
4.2. RNAGA seonduv vaigistamine.....	10
4.2.1. mikroRNA.....	10
4.2.2. siRNA.....	11
4.3. Histooneid modifikatsioon.....	12
5. Epigeneetilise protsessi põhimõisted.....	14
6. Kuidas mõista looduslikku epigeneetilist varieeruvust.....	16
7. Mudeltaimed epigeneetikas.....	18
7.1. <i>Arabidopsis thaliana</i>	18
7.2. <i>Dactylorhiza majalis</i> , <i>D. traunsteineri</i> ja <i>D. ebudensis</i>	18
8. Epigeneetika roll taimede adaptatsioonis.....	20
8.1. Generatsioonidevaheline plastilisus stressi tagajärjel.....	21
8.2. Metülatsiooni varieeruvus looduslikes populatsioonides.....	22
9. Taime stressireaktsiooni epigeneetiline kontroll.....	25
10. Epigeneetika eesmärgid tulevikuks.....	27
11. Kokkuvõte.....	28
12. Summary.....	29
13. Tänuavaldused.....	30
14. Kasutatud kirjandus.....	31
15. Lisad.....	38

2. Sissejuhatus

Tänapäeva epigeneetika on noor suund teaduses ja ei ole veel nii tuntud nagu tema „õde”-geneetika. Kreeka keeles „epi” (επί) tähendab üle, väline. Geneetika ja epigeneetika on tihedalt seotud omavahel. Peamine erinevus seisneb selles, et kui geneetika uurib molekulaarseid protsesse, mis viivad muutustele geenides ja omakorda DNAs, siis epigeneetika uurib geenide aktiivsust ehk geenide avaldumise muutusi, mis ei ole seletatavad muutustega DNA järjestuses (DNA primaarstruktuur ei muutu).

Termin „epigeneetika“ on tänapäeval sageli kasutusel nii tavaelus kui teaduslikus kirjanduses. Epigeneetika, kui teadusharu on muutunud väga aktuaalseks bioloogia valdkonnaks. Kuid tihti kirjeldatakse ja kasutatakse seda sõna väga umbmääraselt. Üks esimesi selle termini kasutajatest, teadlane A. Bird on öelnud: “Epigeneetika on kasulik sõna, kui sa ei tea, mis toimub – kui sa tead, sa kasutad mingit muu terminit“.

Hetkel mõistetakse epigeneetika all enamasti DNA keemilisi modifikatsioone (DNA metüleerimine, RNA-ga seonduv vaigistamine (miRNA-d ja siRNAd) ja histoonide modifikatsioonid). Need modifikatsioonid on omakorda võimelised mõjutama geenide avaldumist vastavalt keskkonnateguritele ja organismi arengufaasile. Veel üks fundamentaalne erinevus geneetilise ja epigeneetilise varieeruvuse vahel seisneb selles, et viimane sõltub keskkonnatingimustest ja on ümberpööratav.

Väidetavalt epigeneetilised mutatsioonid on 100 000 korda tõenäosamad kui DNA mutatsioonid, samas on nende esinemissagedus ikkagi piisavalt madal, et kuuluda loodusliku valiku alla. Sellest lähtuvalt on viimaste aastate jooksul ilmunud palju erinevaid artikleid, nii eksperimentaalseid kui teoreetilisi, mis vaidlevad epigeneetiliste protsesside rolli üle. Arutatakse nende tähtsust nii ökoloogias kui ka evolutsioonis. Tänapäevaks on epigeneetilised mehhanismid kõige paremini uuritud taimedel. Kõige levinum mudel organismis epigeneetikas on *Arabidopsis thaliana* kuna tema genoom on täielikult sekveneeritud.

Antud töö eesmärk on anda ülevaade sellest, mis on hetkeks teada epigeneetika valdkonnas ning mis veel nõuab selgitamist, keskendudes taimeuuringutele. Proovin leida vastused järgmistele küsimustele: millal algas epigeneetika areng; millised on epigeneetika põhilised mehhanismid; kuidas on epigeneetilised protsessid seotud fenotüübilise varieeruvusega. Kirjeldan kuidas

mõjutab looduslik epigeneetiline varieeruvus taimede kohanemist, reproduktsiooni ja stressitaluvust.

Minu töö on referatiivne ja ma otsin oma küsimustele vastused kirjanduses.

Tänapäeval on epigeneetika uurimine väga populaarne ja võib julgelt öelda, et epigeneetikal on suur potentsiaal tulevikus.

3. Mis on epigeneetika?

Enam kasutatud epigeneetika definitsiooni formuleeris 1996. aastal Arthur D. Riggs: epigeneetika (kreeka $\epsilon\pi\acute{\iota}$ – üle, väline) on teadus, mis uurib mitootiliselt ja meiootiliselt pärandatavad muutusi geeni funktsionaalsuses, mis ei ole seletatavad muutustega DNA järjestuses. See tähendab, et epigeneetilised muutused säilivad somaatiliste rakkude mitootilistes jagunemisel ja on võimelised päranduma järgmistele põlvkonnale (Haig, 2004; Robertson and Wolf, 2012; Riggs *et al*, 1996).

Termini „epigeneetiline“ defineerimine on nüüd muutumas veelgi keerulisemaks, sest isekordistuvad valgu üksused, sama proteiiniahela kokkupakitud versioonid ehk „prioovid“, kuuluvad samuti sellesse valdkonda. Kuigi praeguseks ei ole prioone veel taimedes leitud, näitas hiljutine uurimus, et Hsp90 pärssimine, millel on tähtis roll proteiinide pakkimises *in vivo*, võib taimedes tekitada fenotüübilist mõju (Queitsch *et al*, 2002).

3.1. Epigeneetika ajalugu

Epigeneetika ajalugu on tihedalt seotud geneetika arengu ja evolutsiooni uuringutega. Algselt defineeris see termin rohkem arengubioloogiat kui praegust epigeneetikat. Epigeneetika mõiste muutus aja jooksul palju ja erinevad teadlased kogu maailmas andsid epigeneetikale erinevaid definitsioone. Epigeneetikast hakati tõsiselt rääkima 1960ndatel aastatel, kui oli piisavalt uuritud ja selgeks saanud geneetiline kood. Mida rohkem teadlased uurisid organismide molekulaar geneetilisi mehhanisme nagu replikatsioon, transkriptsioon ja translatsioon, seda enam tekkis küsimusi pärilikkuse edastamisest järglastele. Teadlased hakkasid kahtlustama, et päriliku informatsiooni kandja ei ole mitte ainult DNA molekuli nukleotiidne järjestus, vaid peab olema midagi veel. (Haig, 2004; Vanyushin, 2013)

Termini „epigeneetika“ pakkus esmakordselt välja 1942. aastal inglise geneetik Conrad Hall Waddington (Waddington, 1957). Võib öelda, et tänapäevane epigeneetika definitsioon pärineb Waddingtoni definitsioonist (Slatkin, 2009). Alguses oli see termin rohkem seotud arengubioloogiaga kui praeguse epigeneetikaga kuna geenide funktsioon ja struktuur ei olnud veel hästi uuritud. Epigeneetika mõistet kasutasid teadlased kõigi arengu sündmuste määramiseks, (sügoodist täiskasvanud organismini). Teiste sõnadega, epigeneetikat kasutati

kõike reguleerivate protsesside määramiseks. Waddington mõistis epigeneetika all protsessi, kuidas geenid on seotud ümbritseva keskkonnaga organismi fenotüübi kujundamisel. (Waddington, 1957; Haig, 2004; Vanyushin, 2013)

Väga oluline läbimurre epigeneetika arengus toimus 1950-ndatel aastatel kui avastati paramutatsioonid maisil (Chandler *et al*, 2000; Vedova and Cone, 2004). Uurimused aitasid defineerida paramutatsioone ja seega ka paremini mõista epigeneetikat. Paramutatsioon (kreeka *para-* 'lähedal', lad *mutatio-* 'muutus') on kromosomaalne muutus, mis põhjustab meiotiliselt päritavat muutust geeni kontrollist. Nende muutuste tulemusena geeni funktsioon on allasurutud, kuid mitte vaigistatud. Esimeseks korra näidati, et just kromosoomid, mitte DNA järjestus, võib toimida kui pärilikkuse põhiühik. Paramutatsiooni puhul ei muutu geeni nukleotiidne järjestus (tavalistes mutatsioonides kindlasti muutub). DNA primaarstruktuur ei muutu, muutub ainult kromatiini struktuur ehk toimuvad epigeneetilised muutused (Chandler *et al*, 2000; Vedova and Cone, 2004; Grant-Downton and Dickinson, 2005).

Samuti uuringud on näidanud, et paramutatsioonis võivad geeni alleelid üldjuhul olla kolmes erinevas variandis: paramutageenne alleel, mis mõjutab teisi allele, paramuudetav, mis muutub, ja neutraalne, mis ei reageeri paramutageensele alleelile (Grant-Downton and Dickinson, 2005).

Uurimuse tulemused näitasid, et paramuteerunud organismi omadused ei vasta sellele, mis on "sisse kirjutatud" nende genoomi. Paramutatsiooni puhul ilmneb suur kõrvalekalle Mendeli geneetika seadustest. Paramutatsioonides reageerivad geeni alleelid omavahel (Chandler *et al*, 2000; Grant-Downton and Dickinson, 2005).

Pärast paramutatsioonide avastamist arvati kaua aega, et paramutatsioonid võivad esineda ainult taimedel. 2006. aastal avastati paramutatsioonid ka loomad, nimelt hiirtel. See on üks kõige olulisematest avastustest epigeneetikas (Rassoulzadegan *et al*, 2006; Chandler, 2007).

1957. aastal kasutas inglise bioloog Thomas Henry Huxley epigeneetikat kui terminit, millega võib kirjeldada kudede ja organite diferentseerumist. Huxley defineeris epigeneetikat kui „teadust organismi arenguprotsessidest” (Huxley, 1956; Huxley, 1957). Huxley kasutas sügooti arenguprotsessid epigeneetika töömehhanismina: ühest viljastatud rakust arenevad kõik teised organismi rakutüübid, mis omakorda moodustavad koed ja need omakorda moodustavad organid. Diferentseerumise protsessis aktiveeruvad ühed geenid ja inaktiveeruvad teised geenid. Oli selge, et DNA nukleotiidne järjestus ei muutu kuid samal ajal ei olnud tedlastel vastust

küsimusele: millised geneetilised faktorid reguleerivad geenide avaldumist. Hulkrakneorganism koosneb erinevatest rakutüübidest (mis moodustavad erinevad koed organismis) ja selleks ajaks oli juba selge, et igas somaatilises rakus on absoluutselt identne geenide komplekt. Teiste sõnadega, eri kudede/organite rakkude avalduvad erinevad geenikomplektid, kuigi nende rakkude genotüüp on sama. Vastamata küsimus oli järgmine: milline või millised on mehhanismid, mis kontrollivad rakus kõikidest geenidest ainult teatud geenide avaldumist selleks, et kujuneks välja teatud rakutüüp (Haig, 2004; Vanyushin, 2013; Huxley, 1956; Huxley, 1957)?

Uus oluline avastus epigeneetikas oli tehtud 1987. aastal. Inglise molekulaarbioloogi Robin Holliday hüpotees seisnes selles, et DNA enda biokeemiline modifitseerimine metüleerimise kaudu võib olla oluline mehhanism geenide avaldumise kontrollis. Ensüümide metüülitransferaasid võivad osa genee inaktiveerida DNA promootorite CpG-järjestuses tsütosiini metüleerimise kaudu. Need ensüümid on kindlate geenide poolt kodeeritud. Alates Holliday avastusest käsitletakse epigeneetiliste mehhanismidena peamiselt kahte – histoonide modifitseerimist ja DNA metüleerimist, eriti oluline on just viimane. Seega võib terminit epigeneetika kasutada selleks, et kirjeldada erinevaid sisemisi faktoreid, mis mõjutavad organismi arengut ilma DNA nukleotiidses järjestuses muutumiseta (Vanyushin, 2013; Holliday, 1990).

Tänapäeva epigeneetika võimaldab paremini aru saada tingimustest, mis on vajalikud, et toimuks individuaalne areng, et erinevates rakkudes saaks samal ajal toimuda erinevate geenide aktivatsioon. Võib öelda, et epigeneetika kirjeldab võimalusi, kuidas saab toimida ühelt ja samalt organismi genoomilt ajalis-ruumiliselt erinev geneetilise informatsiooni lugemine. Epigeneetiline regulatsioon ehk epigeneetilised modifikatsioonid on olulised geeni avaldumises, DNA duplikatsioonis ja rekombinatsioonis ning raku elutegevuse regulatsioonis, edasi organi ning organismi arengus. Tänapäeval epigeneetika teadmisi kasutatakse laialt meditsiinis ja geneetikas näiteks transgeensete organismide abil mitmete meditsiiniliste küsimuste lahendamiseks. (Haig, 2004; Vanyushin, 2013; Chahwan *et al*, 2011)

4. Epigeneetilised mehhanismid

Epigeneetilised mehhanismid jagunevad kolmeks: DNA metülatsioon (DNA metüleerimine), RNA-ga seonduv vaigistamine (miRNA-d ja siRNA-d) ja histoonide modifikatsioon (Grant-Downton and Dickinson, 2005).

4.1. DNA metüleerimine on esmane epigeneetiline marker

Üheks viisiks, kuidas organism geenide avaldumist reguleerib, on nukleotiidide keemiline modifikatsioon ehk DNA metülatsioon. DNA metülatsioonil on oluline roll organismide rakkude diferentseerumisel ja normaalsel arengul. DNA metülatsioon on biokeemiline protsess, mille käigus tsütosiini koosseisu lülitakse lisametüülgrupp (-CH₃), mille tulemusena moodustub 5-metüülsütosiin. Reaktsiooni viivad läbi ensüümid DNA metüültransferaasid. Raku jagunemisel võib selline DNA modifikatsioon edasi kanduda (Grant-Downton and Dickinson, 2005; Heinaru, 2012, p. 482-484). DNA metülatsioon mängib olulist rolli geenide reguleerimises, transposoonide tegevuses, kaitses võõra DNA vastu ning isegi konkreetse geeniavaldumise mustri pärimises (Rassoulzadegan *et al*, 2006).

DNA metülatsioon taimedel on keerulisem kui teistes organismides. Taimedes DNA metüleerimine toimub nii sümmeetriliselt mõlemal DNA ahelatel, kui ka asümmeetriliselt vaid ühel kahest ahelatest. Sümmeetriliste saitide metüleerimine on taimedel levinum (Grant-Downton and Dickinson, 2005). Sümmeetriline metülatsioon päritakse DNA replikatsiooni ajal hemimetüülitud järjestuste näol. Seega annab see metülatsioonimustrite mälu, mis sisaldub vanemlikus DNA-s ja juhib metüültransferaaside aktiivsust (Bender, 2004).

Viimasel ajal oli tehtud suured edusammud taimede DNA metülatsiooni mehhanismi arusaamises. Uuritav mudeltaim oli *Arabidopsis thaliana* (just selle taime genoom on täielikult sekveneeritud ja hästi uuritud). DNA metülatsiooni protsessis on väga oluline roll DNA metüültransferaasidel. Taimedel on leitud vähemalt kolm DNA metüültransferaaside perekonda ja üsna palju gene, mis neid kodeerivad. See on rohkem, kui teistel organismidel (Vanyushin, 2013). *Arabidopsis thaliana* puhul leidub mitu DNA metüültransferaasi: Met1, Cmt3 ja Drm2. Drm2 osaleb nii *de-novo* DNA metülatsioonil kui ka DNA metülatsiooni hilisemal arengustaadiumil. Cmt3 ja Met1 on peamised metüültransferaasid taimede DNA metülatsioonil.

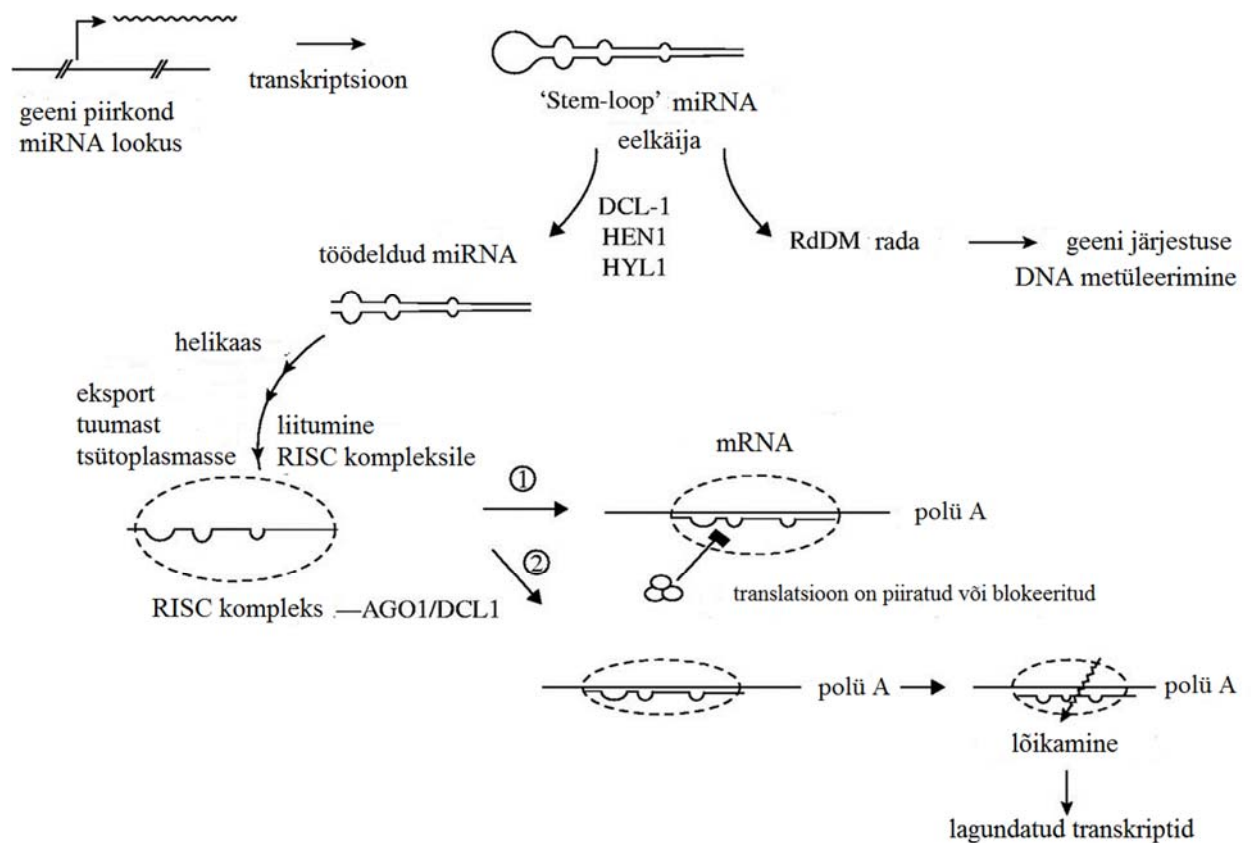
Metüültransferaaside spetsiifilisus kujuneb DNA metüleerimise protsessi käigus RNA abil. (Grant-Downton and Dickinson, 2005; Vanyushin, 2013)

4.2. RNA-ga seonduv vaigistamine

4.2.1. Mikro-RNA

Mikro-RNA (miRNA) on mittekodeeriv RNA, mille suurus varieerub 17–25 nukleotiidini. miRNA-d on üksikahelalised RNA molekulid, mis lõigatakse välja väikestest juuksenõelastruktuuriga RNA prekursoritest (eellasmolekulidest) ning neil on võime blokeerida nendega komplementaarset või osaliselt komplementaarset messenger RNA (mRNA) avaldamist, põhjustades viimase degradatsiooni või pidurdades translatsiooni. Translatsioon on mRNA-lt, kui matriitsilt koodi vahendusel valgu süntees. Seega, miRNA vaid moduleerib valgusünteesi toimumist rakus. miRNA osaleb transkriptsioonilises ja posttranskriptsioonilises geeni avaldumise regulatsioonis RNA interferentsi abil. RNA interferents on geeni aktivatsiooni takistamine väikeste RNA fragmentide (miRNA ja siRNA) abil. (Heinaru, 2012, p. 265-266)

miRNA-d ja siRNA-d on posttranskriptsioonilised regulaatorid, mis seonduvad messenger RNA (mRNA) komplementaarsetele järjestustele, vaigistades märklaud-mRNA aktiivsust. miRNA on kodeeritud taimede rakutuuma DNA-ga. miRNA on evolutsiooniliselt vana komponent geeniavaldumise regulatsioonis. miRNA reguleerib mitmeid bioloogilise protsesse, nagu näiteks organismi areng, rakkude kiire kasvamine ja diferentseerumine, signaalide edasikandmine, apoptoos ja metabolism (Bartel, 2009; Bartel, 2004).



Joonis 1. miRNA rada. (Grant- Downton and Dickinson, 2005)

4.2.2. siRNA

Väike interferentsi RNA (siRNA), on kaksikahelaline RNA molekul, mille pikkuseks on 20–25 aluspaari. siRNA-l on mitmeid rolle, kuid peamiselt osaleb ta RNA interferentsi (RNAi) rajal, kus ta sekkub kindla nukleotiidses järjestuses geenide ekspressiooni, moodustades RNA-indutseeritud geenivaigistamise kompleksi (RISC). siRNA-d põhjustavad posttranskriptsioonilist mRNA lagundamist ja selle tulemusena translatsiooni ehk valgu sünteesi ei toimu. RNA interferentsi efektid võivad olla ka päritavad. Taimedes RNA interferents levib siRNA transpordi teel läbi rakuseintes olevate plasmodesmide (Jones *et al*, 2001; Agrawal *et al*, 2003; Heinaru, p. 265-266, 2012).

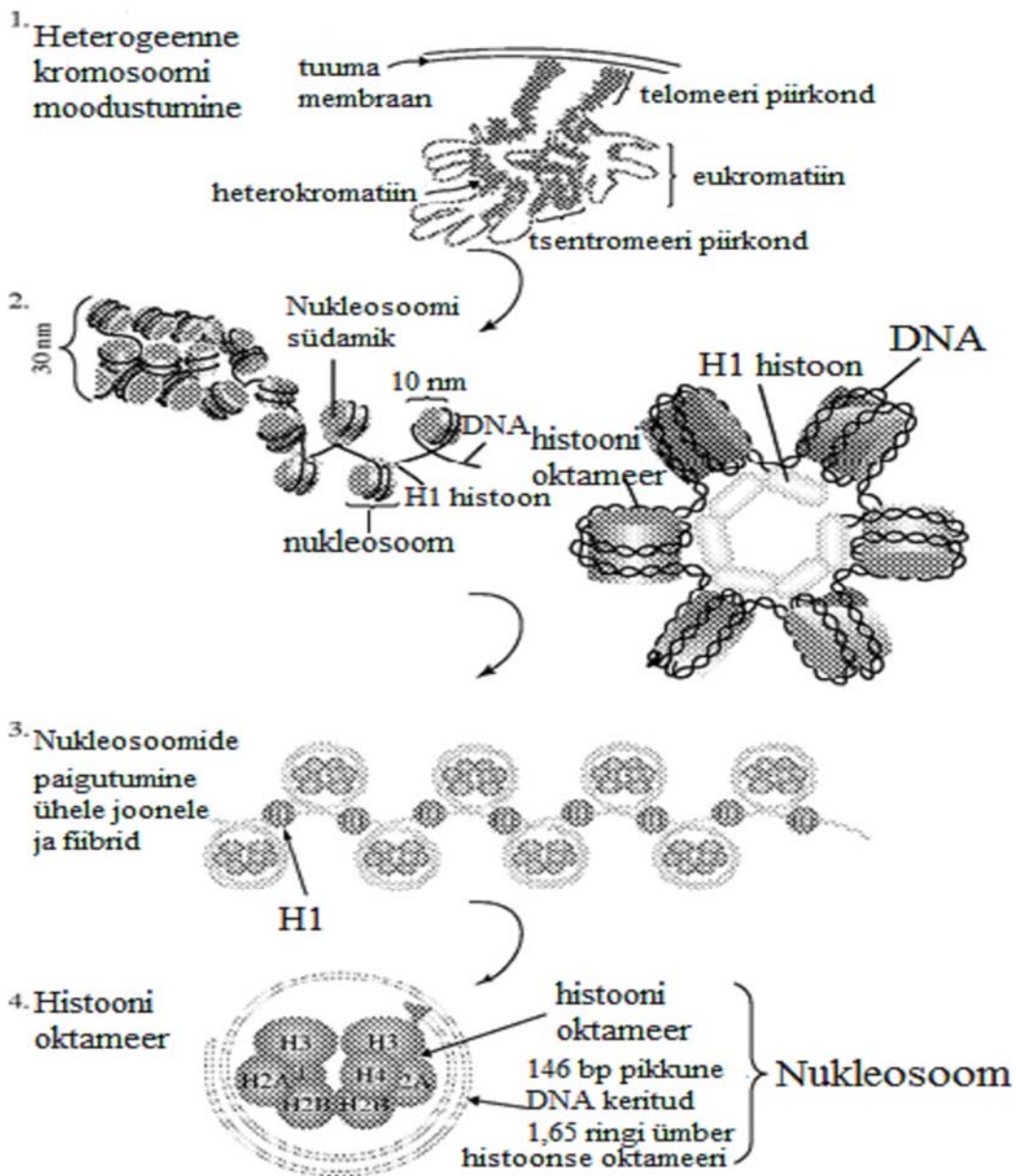
4.3. Histoonide modifikatsioon

Histoonid avastas 1884. aastal Albrecht Kossel. Histoonid on väiksed aluselised kromosoomivalgud (koosnevad 102–135 aminohappest), mis on olemas eukarüootide tuumas. Histoonid on positiivselt laetud nukleaarsed valgud, mis koosnevad funktsionaalselt erinevatest "histooni kehast" ja "histooni sabast". Histoonid määravad kromatiini (DNA ja valkude kompleks) põhistruktuuri moodustades nukleosoomi (ellipsoidsed väikesed kehakesed) ning osalevad DNA kokkupakkimisel, et DNA mahuks rakutuuma (Iizuka and Smith, 2003; Heinaru, 2012, p. 217-218).

Taimedel ja loomadel on olemas viis peamist histoonide tüüpi: H1, H2a, H2b, H3 ja H4 (Grant-Downton and Dickinson, 2005). Nukleosoomsed histoonid on H2a, H2b, H3 ja H4. H1 on nukleosoomide vahelise alaga seonduv histoon. Nukleosoomi südamik (ingl. nucleosome core) on oktameerne histoonvalkude kogum. DNA on keritud ümber histoonide oktameerse kompleksi 1,65 korda, mis lühendab esialgset pikkust umbes kuus korda. Nukleosoomi diameeter on 10 nm. DNA on nukleosoomis negatiivselt superspiraliseerunud (Luger *et al*, 1997; Grant-Downton and Dickinson, 2005; Bhasin *et al*, 2006). Joonis 2

Seega, kromatiin on DNA ja sellega seondunud valkude (histoonide) kompleks, millest moodustuvad kromosoomid (Grant-Downton and Dickinson, 2005). Mitoosi ajal toimub kromatiini kondenseerumine kromosoomideks, et tagada genoomi õiget jaotumist tütarakkude vahel. Samuti aitab kromatiin kaitsta DNA-d kahjustuste eest nagu näiteks UV-kiirgus või kemikaalid. Lisaks sellele aitab ka kontrollida geeni avaldumist ja replikatsiooni (Cairns, 2009).

Kromatiini moodustumisel on väga tähtis roll histoonide modifitseerimisel. Suurem osa modifikatsioone esineb just histoonide "sabadel", mis on modifitseerijatele kergemini kättesaadavad. Samuti modifitseeritakse ka histoonide "keha" aminohappeid (Iizuka and Smith, 2003; Kouzarides, 2007).



Joonis 2. Kromatiini struktuur: kromosoomist nukleosoomini ja histoonini. (Grant- Downton and Dickinson järgi, 2005)

Samal ajal võib toimuda ühel histoonil mitu modifikatsiooni ja need kombinatsioonid moodustavad niinimetatud histooni koodi. Uuringud näitasid, et erinevad modifikatsioonid mängivad suurt rolli geenide regulatsioonis (Strahl and Allis, 2000; Jenuwein and Allis, 2001).

Seega, histoonide modifikatsioonide tõttu muutub kromatiini struktuur. See omakorda viib pärandatavatele muutustele, mis mõjutavad geeni transkriptsiooni. Histoonide modifikatsioonid määravad tihti seda, kas geenid on aktiivsed või ei ole (Vanyushin, 2013).

5. Epigeneetilise protsessi põhimõisted

Leidub kolm põhilist signaalide rühma, mis on vajalikud stabiilselt pärandava epigeneetilise seisundi välja kujunemiseks. Need on: epigenaatori signaal (ingl. „Epigenator”), epigeneetiliste protsesside alustaja ehk initsiaatori signaal (ingl. „Epigenetic Initiator”) ja epigeneetiliste protsesside säilitamise signaal (ingl. „Epigenetic Maintainer”) (Bergeret *al*, 2009).

Epigenaator

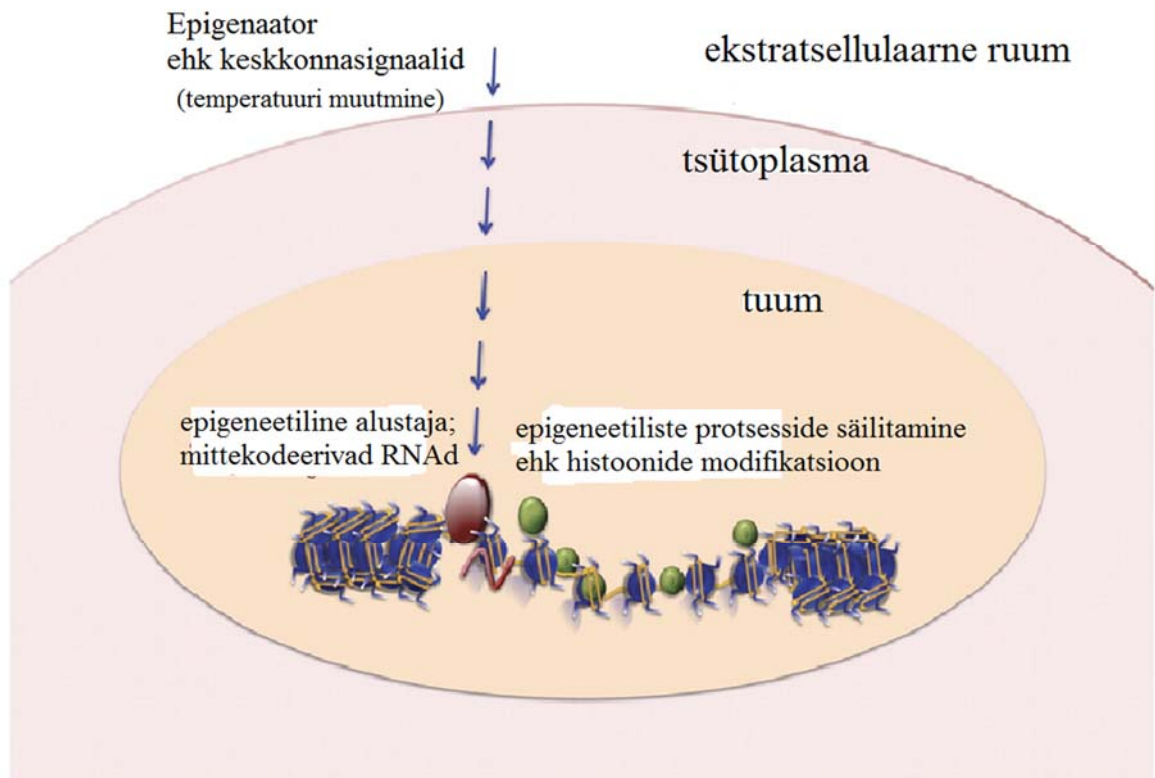
Epigeneetiline fenotüüp lülitakse sisse tõenäoliselt seoses muutustega raku ümbritsevas keskkonnas. Epigenaatori signaali võib defineerida kui ekstratsellulaarse signaali, mis tuleb keskkonnast (näiteks temperatuuri muutumine). Jõudes rakku, epigenaatori signaal lülitab rakusisest epigenaatori, mis omakorda aktiveerib initsiaatorit. Tänapäevaseks kõige paremini uuritud epigenaatori signaalide näide on paramutatsioon taimedel, mis on seotud temperatuuri muutustega (Berger *et al*, 2009).

Epigeneetilise protsessi alustaja- initsiaator

Epigeneetilise protsessi alustaja määrab kromosoomil piirkonda, kus peab kujunema epigeneetiline kromatiini seisund. Epigeneetilise protsessi alustajaks võib olla näiteks DNAGA seonduv valk või mittekodeerivad RNAd. Initsiaator on piisav faktor selleks, et taimerakus hakkasid toimuma epigeneetilised fenotüübilised muutused (Bergeret *al*, 2009).

Epigeneetilise protsessi säilitamine

Epigeneetilise protsessi säilitamise signaal toetab epigeneetilise kromatiini seisundi. See signaal võib toimida mitmel viisil, nagu näiteks DNA metüülatsioon, histoonide modifikatsioon ning histoonide varieerumine. Epigeneetilise protsessi säilitamise signaalid võivad töötada erinevates kromosoomide piirkondades, kus nad on mobiliseeritud epigeneetilise protsessi alustaja poolt. Säilitamise signaalide kõige olulisemaks funktsiooniks on kromatiini modifikatsioonide säilitamine ja nende edastamine järgmisele põlvkonnale (Bergeret *al*, 2009).



Joonis 3. Epigeneetiliste protsesside rada (Berger *et al*, 2009).

6. Kuidas mõista looduslikku epigeneetilist varieeruvust

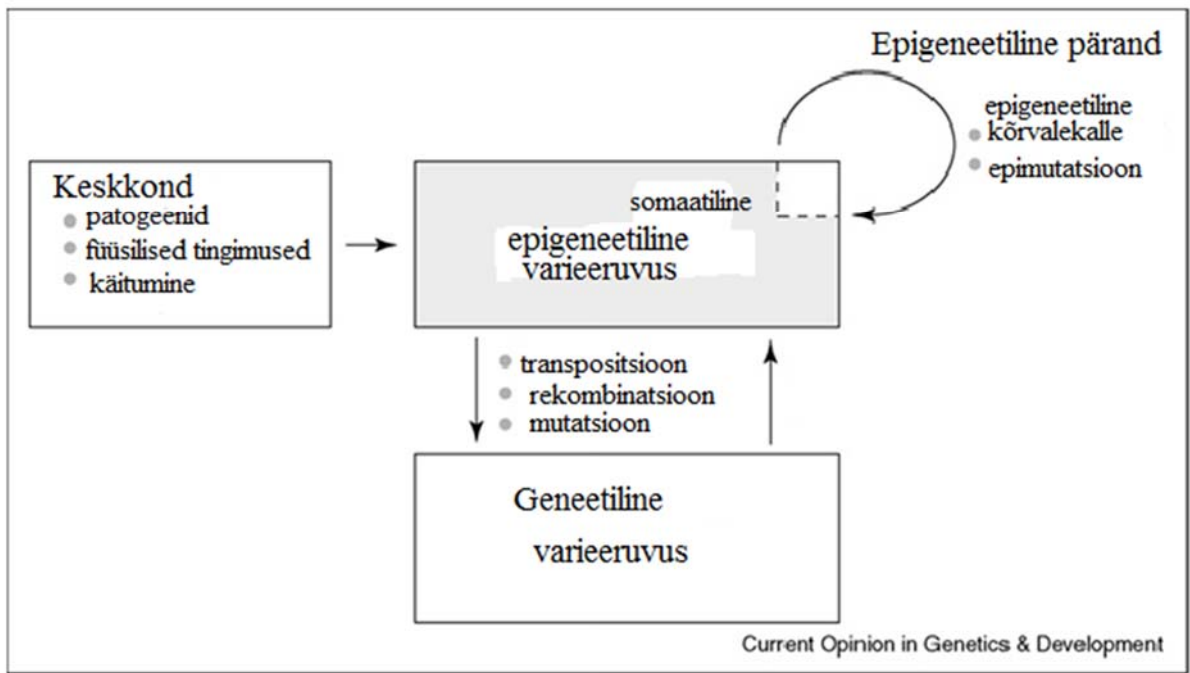
Selleks, et mõista looduslikku epigeneetilist varieeruvust tuleb kõigepealt aru saada, mis on epialleelid. Epialleelid on DNA järjestusest mittesõltuvad varieeruvused, mis on mõjutatud keskkonna ja geneetiliste faktorite poolt (vt. lisa) (Richards, 2008). Avalduvate geenide valikuliste komplektide tõttu eri rakutüüpides kujunevad erinevad epigenotüübid, mis avalduvad epifenotüübina (Heinaru, 2012, p. 705).

Richards klassifitseerib epigeneetilist varieeruvust kolme erinevasse kategooriasse: kohustuslik, hõlbustatud ja puhas. Antud järjekorras kajastavad nad sõltuvuse vähenemist geneetilisest informatsioonist. Kohustuslik epigeneetiline varieeruvus näitab ühest vastavust genotüübi ja epigenotüübi vahel. Samas, hõlbustatud (osaliselt iseseisva) ja puhta (täiesti sõltumatu) epigeneetilise varieeruvuse puhul on geneetilise ja epigeneetilise informatsiooni lahknemine võimalik. (Richards, 2008)

Oma artiklis „Population Epigenetics” järeltas Richards, et kõik epigeneetilised mehhanismid töötavad geneetilise informatsiooni osalusega, kuid samas ei saa genotüübi abil määrata epigeneetiliste protsesside seisundit (Richards, 2008). Järeldustes oli ka mõte sellest, et keskkonna tegurid mõjutavad epigeneetilist varieeruvust. Joonis 4.

Tänaseks on teada, et mõned epigeneetilised protsessid ei kao uues põlvkonnas, vaid päranduvad ühest põlvkonnast teise (Jablonka and Raz, 2009). Samuti on arusaadav, et looduslik varieeruvus eksisteerib mitte ainult DNA nukleotiidses järjestuses vaid ka epigeneetilisel tasemel (Vaughn *et al*, 2007). Veel on selge, et epigeneetiline varieeruvus võib tekitada pärandavaid varieeruvusi taimede fenotüübis (Johannes *et al*, 2009). Samuti on päranduvad epigeneetilised modifikatsioonid seotud keskkonna teguritega (Verhoeven *et al*, 2010).

Herrera ja Bazaga uurisid loomulikku epigeneetilist varieeruvust *Viola cazorlensis* taimede populatsioonis. Uuriti indiviide 14 populatsioonist analüüsides kõigepealt nende DNA-metülatsiooni. Oma katsete tulemustest järeltasid nad et: epigeneetilised varieeruvused on seotud populatsioonide mitmekesisusega. Samuti on epigeneetilistel varieeruvustel oluline roll populatsioonide adaptatsioonis. Seega, looduslikud epigeneetilised varieeruvused mängivad olulist rolli evolutsioonis (Richards *et al*, 2010; Herrera and Bazaga, 2010).



Joonis 4. Loodusliku epigeneetilise varieeruvuse allikad. (Richards, 2008)

7. Mudeltained epigeneetikas

7.1. *Arabidopsis thaliana*- harilik müürlook

Arabidopsis thaliana kogu genoom on sekveneeritud ning taim on väga levinud molekulaarse biotehnoloogia ja geneetika uuringute objekt. Palju on *Arabidopsis thaliana* t kasutatud selleks, et uurida epigeneetilisi mehhanisme.

Näiteks Kooke ja teised (2015) uurisid missugust rolli mängib epigeneetiline varieeruvus kiiresti muutuvates keskkonna tingimustes. Oletatakse, et epigeneetiline varieeruvus, tänu oma kergemale ümberpöördumisele, soodustab taime fenotüüpilist plastilisust. Autorid leidsid ulatuslikku epigeneetilist varieeruvust taime kasvus ja morfoloogias sõltuvalt kasvukoha tingimustes. Nende tulemused näitasid, et epigeneetika panustab oluliselt taime kasvu, morfoloogia ja plastilisuse varieeruvusse, eriti stressi tingimustes (Kooke *et al*, 2015).

7.2. *Dactylorhiza majalis*, *Dactylorhiza traunsteineri* ja *Dactylorhiza ebudensis*

Ovidiu Paun ja teised (Paun *et al*, 2010) uurisid *Orhidaceae* loomulikku epigeneetilist varieeruvust.

Kasutati kolme liiki: *D. majalis*, *D. traunsteineri* ja *D. ebudensis*. Liikide geograafiline asukoht ja ökoloogilised tegurid erinesid. Kasutades erinevaid uurimisviise, mis andsid sama tulemuse, mõisteti, et taimede epigenoom skaneerib täpselt määratud epilookusi valiku lahknemise järgi, mis on seotud keskkonnategurite muutustega, eriti vee kättesaadavuse ja temperatuuri muutusega. Stabiilne epigeneetiline lahknemine ja varieeruvus mängib liikidel olulist rolli ökoloogiliste ja keskkonnategurite pideval muutumisel (Paun *et al*, 2010).

Uuringute tulemused näitasid, et lisaks arengu kontrollimisele ja geeniekspressioonile on epigeneetilistel protsessidel veel väga olulised funktsioonid. Epigeneetiline varieeruvus aitab liikidel kiiresti kohaneda muutuva keskkonnaga (Paun *et al*, 2010).

Ka mängivad epigeneetilised varieeruvused olulist rolli evolutsioonis, nad aitavad hoida fenotüüpide mitmekesisust. Epigeneetilised protsessid on side geneetika ja keskkonna vahel (Paun *et al*, 2010).

Väidetakse, et epigeneetikat ja evolutsiooni uurides tuleb enam pöörata tähelepanu tervikliku fenotüübi kujunemisele (Paun *et al*, 2010).

8. Epigeneetika roll taimede adaptatsioonis

Epigeneetika hõlmab meiotiliselt ja mitootiliselt stabiilseid muutusi geeniekspressioonis, mis ei põhine DNA järjestuse muutumisel vaid kätkevad protsesse, mis mõjutavad DNA pakendamist (kromatiini struktuuri) (Boyko and Kovalchuk, 2008). Kromatiini struktuur muudab seejärel DNA kättesaadavust transkriptsiooni faktoritele ja mõjutab geenidevõimet avalduda (Gilbert and Wallrath, 2011). Kuigi usutakse, et osaliselt epigeneetilised protsessid arenesid selleks, et genoomi kaitsta transposoonide (DNA liikuv element) ja retroviiruste eest (Johnson, 2007), mängivad epigeneetilised protsessid tähtsat rolli raku diferentseerumises ja arengus ning on ilmselt vastutavad paljude käitumise ja fenotüüpse plastilisuse aspektide eest (Scott, 2001).

Epimutatsioonid võivad luua pärandatavaid epialleele, mis on epigeneetika vasted alleelidele geneetikas. Epialleelid saavad tekkida tänu metülatsiooniveadele (Peter, 2011; Vanyushin and Ashapkin, 2011), *de novo* metülatsioonile (Law and Jacobsen, 2010) ning muudele kromatiini remodelleerimise faktoritele (Gilbert and Wallrath, 2011) või neid võib esile kutsuda teatud keskkonna ärritus (Angers *et al*, 2010).

Kuigi epigeneetiline variatsioon võib esineda geneetilise varieeruvuse puudumisel, saab geneetiline mitmekesisus mõjutada epigeneetilist variatsiooni ja epimutatsioonide kiirust mitmel viisil. Näiteks varieeruvus metüleeritavate tsütosiinide olemasolu (Feinberg and Irizarry, 2010), transposoonid (Parisod *et al*, 2010; Mirouze and Paszkowski, 2011; Furner and Matzke, 2011), väikse RNA tootmine (Zhai *et al*, 2008) ning histoonide modifikatsiooni ja kromatiini struktuuri kontrollivad geenid (Gilbert and Wallrath, 2011) kõik need protsessid võivad mõjutada geeni epigeneetilist vaigistamist. Seega looduslik valik võib otseselt töötada generatsioonidevaheliselt pärandatavatel epialleelidel või toimida DNA polümorfismi kaudu, mis mõjutab epigeneetilist seisundi. Epigeneetiline variatsioon võib olla märkimisväärne fenotüüpse varieeruvuse allikas ning seega võib mängida olulist rolli keskkonnamuutustele kohastumisel. (Robertson and Wolf, 2012)

Lihtne hüpoteetiline stsenaarium illustreerib võimalust, kuidas adaptiivne fenotüüpne evolutsioon võib tekkida epigeneetilise modifikatsiooni kaudu isegi kui populatsioon on geneetiliselt homogeenne (Joonis 5). See näide illustreerib, kuidas keskkonna poolt esile kutsutud fenotüüpne muutus võib olla epigeneetiliste mehhanismide kaudu vahendatud. Sellisel

juhul võib toitainete stress põhjustada fenotüübilist variatsiooni populatsioonis, mis on muudu geneetiliselt homogeenne. (Robertson and Wolf, 2012)

Tänapäevane evolutsiooniteooria põhineb juhusliku geneetilise mitmekesisuse pärilikkusel ehk tunnuste ülekannel vanematelt järglastele. Seoses sellega, viimati on olnud elav arutelu kas evolutsiooniteooria vajab uuendust epigeneetika valguses (Jablonka and Lamb, 2008; Kalisz and Purugganan, 2004; Jablonka, 2009; Richards *et al*, 2010; Pigliucci, 2007). Selleks, et hinnata epigeneetika tähtsust evolutsiooniprotsessis, on esiteks vaja näidata, et epigeneetiline varieeruvus on olemas metsikutes populatsioonides, ja teiseks, et see varieeruvus on seotud fenotüüpse varieeruvusega, mis on valiku all. Järgmiseks, on vaja kindlaks teha, milline epigeneetiline variatsioon on generatsioonidevaheliselt pärandatav. (Robertson and Wolf, 2012)

8.1. Generatsioonidevaheline plastilisus stressi tagajärjel

Epigeneetilised mehhanismid võivad mängida tähtsat rolli keskkonnamõjude reageerimiseplastilisuses (Bastow *et al*, 2004) ja neid on põhiliselt uuritud taimede stressireaktsioonide kaudu. Stressiga toimetulekuks näitavad taimed, paiksete organismidena, tihti kõrget fenotüüpse plastilisuse taset. Stressi kogemine kutsub tulevikus taimes esile kas kõrgemat vastupanu või kiiremat reaktsiooni vastavale stressile, võib olla ühendatud epigeneetiliste markeritega, mis aktiveerivad stressiga seotud geenide transkriptsiooni (Bruce *et al*, 2007). Mõnedel juhtudel on näidatud, et *stressi mälu* kandub üle vanemate generatsioonilt stressivabale järglaste generatsioonile (Bruce *et al*, 2007), eeldatavalt selleks, et valmistada järglased ette keskkonnaks, mis sisaldab samu stressitegureid (Bossdorf *et al*, 2008).

Kaks uuringut on sidunud epigeneetilist varieeruvust stressi fenotüüpide ülekandmisega vanemate generatsioonilt stressivabade järglastele. *Mimulus guttatus* reageeris simuleeritud herbivoori stressile (lehekahjustusele) kasvatades trihhoome lehtede alaküljel, mis on tüüpiline reaktsioon rohusööjate tulevikus eemalepeletamiseks. Reaktsioon oli seotud teatud geeni (*MgMYBML8*) epigeneetilise allareguleerimisega (Robertson and Wolf, 2012). See epimutatsioon päriti stressivabade järglaste poolt, kes võrreldes kontrolltaimedega näitasid samuti suurendatud trihhoomide kasvu (Scoville *et al*, 2011).

Teises töös võrreldi kogu genoomset DNA metülatsiooni profiili *Taraxacum officinale* kontrollindiviidide ja nende taimede vahel, mis olid keemiliselt töödeldud simuleeride herbivoori või patogeeni mõjutust. Märkimisväärsed metülatsiooni muutused genoomis olid tuvastatud

stressis, kängus fenotüüpidega taimedel. Stressi fenotüüp nagu ka enamik metülatsiooni muutusi, pärandati edasi kolme generatsiooni jooksul (Verhoeven *et al*, 2010).

Samas tööd oli näidatud, et aseksuaalsete taimede geneetiline monomorfsus teeb nendest ideaalse süsteemi, et demonstreerida keskkonnategurite mõju epigeneetilisele päritavusele (Verhoeven *et al*, 2010).

Muud uuringud on sidunud ökoloogiliselt olulised epigeneetilised reaktsioonid stressiteguritega. Nende seas on globaalne hüpometylatsioon raskmetallidega mõjutatud kanepis (*Cannabis sativa*) (Aina *et al*, 2004), põua poolt põhjustatud metülatsiooni muutused riisis (*Oryza sativa*), mis oletatavalt võivad tõsta põuataluvust (Wang *et al*, 2011) ja kromatiini modifikatsioon pikaajalises kuumastressis olevas *Arabidopsis thaliana* (Pecinka *et al*, 2010).

8.2. Metülatsiooni varieeruvus looduslikes populatsioonides

Mõistmaks epigeneetiliste muutuste rolli taimede kohastumisel, on vaja mõista looduses esineva epigeneetilise varieeruvuse esinemist ja struktuuri (Richards *et al*, 2010; Richards and Wendel, 2011). Siiani on vaid mõned uuringud läbi viidud looduslike populatsioonidega, kuid tööriistad nagu näiteks amplifitseeritud fragmentide pikkuspolümorfismid (AFLP-d), mis on muudetud selleks, et avastada erinevusi tsütosiinide metülatsioonis (metülatsiooni tundlik AFLP; MSAP), on võimaldanud kvantifitseerida epigeneetilist varieeruvust, et jõuda kaugemale laborist ja mudelorganismidest (Robertson and Wolf, 2012). Ühes uuringus, mis seda tehnikat kasutas, näitasid Herrera ja Bazaga (2011), et looduslikes kannikese (*Viola cazorlensis*) populatsioonides indiviidide nii MSAP epigenotüübid kui ka AFLP genotüübid on kooskõlas pikaajalise herbivooria tasemega.

Teine oluline empiiriline vaatlus on see, et tagasipöörduvad epimutatsioonid on palju sagedasemad kui tagasipöörduvad nukleotiidide mutatsioonid (Becker *et al*, 2011). Seda võib seletada kõrge epimutatsiooni kiirusega mõnedes saitides ja asjaolule, et individuaalsel tsütosiinil on ainult kaks võimalikku olekut (metüleeritud ja mitte-metüleeritud), samas kui nukleotiididel võib olla neli erinevat olekut. Tagasipöördumiste määr on oluline epigeneetika kaasamiseks populatsioonigeneetika mudelitesse. Lisaks hõlbustavad sagedased tagasipöördumised kahe fenotüübi vahel edasi-tagasi liikumist, mis võib olla kasulik, kui keskkond kõigub kahe eri oleku vahel. (Robertson and Wolf, 2012)

Sarnaselt nukleotiidide mutatsioonidele, on epimutatsioonidel potentsiaal olla kas kasulik, neutraalne või kahjulik. Stabiilses keskkonnas, kus enamik indiviide on hästi kohastunud, võivad mutatsioonid või epimutatsioonid tõenäoliselt vähendada indiviidi kohasust, luues geneetilise või epigeneetilise koormuse. (Robertson and Wolf, 2012)

Kuid selleks, et mõista epigeneetilise koormuse mõju võrreldes geneetilise koormuse mõjuga, vajame paremaid hinnanguid selle kohta, kuidas nii pärilikud kui mittepärilikud epimutatsioonid mõjutavad kohasust. Erinevalt stabiilsele keskkonnale, võivad ajaliselt või ruumiliselt muutuvas keskkonnas mutatsioonid või juhuslikud epimutatsioonid olla kasulikud. Olles silmitsi ettearvamatute keskkonnategurite kõikumistega generatsioonide vahel, võimaldavad osades järglastes olevad epimutatsioonid indiviidil toota erinevate fenotüüpidegajärglasi. Kuna epigeneetilised mehhanismid võimaldavad tõenäoliselt sagedasemat vaheldumist kahe alleelse oleku vahel kui geneetilised mehhanismid, võivad epigeneetilised mehhanismid olla soodustatud neil tunnustel, mis mõjutavad ellujäämist muutuvas keskkonnas. (Becker *et al*, 2011; Lachmann and Jablonka, 1996)

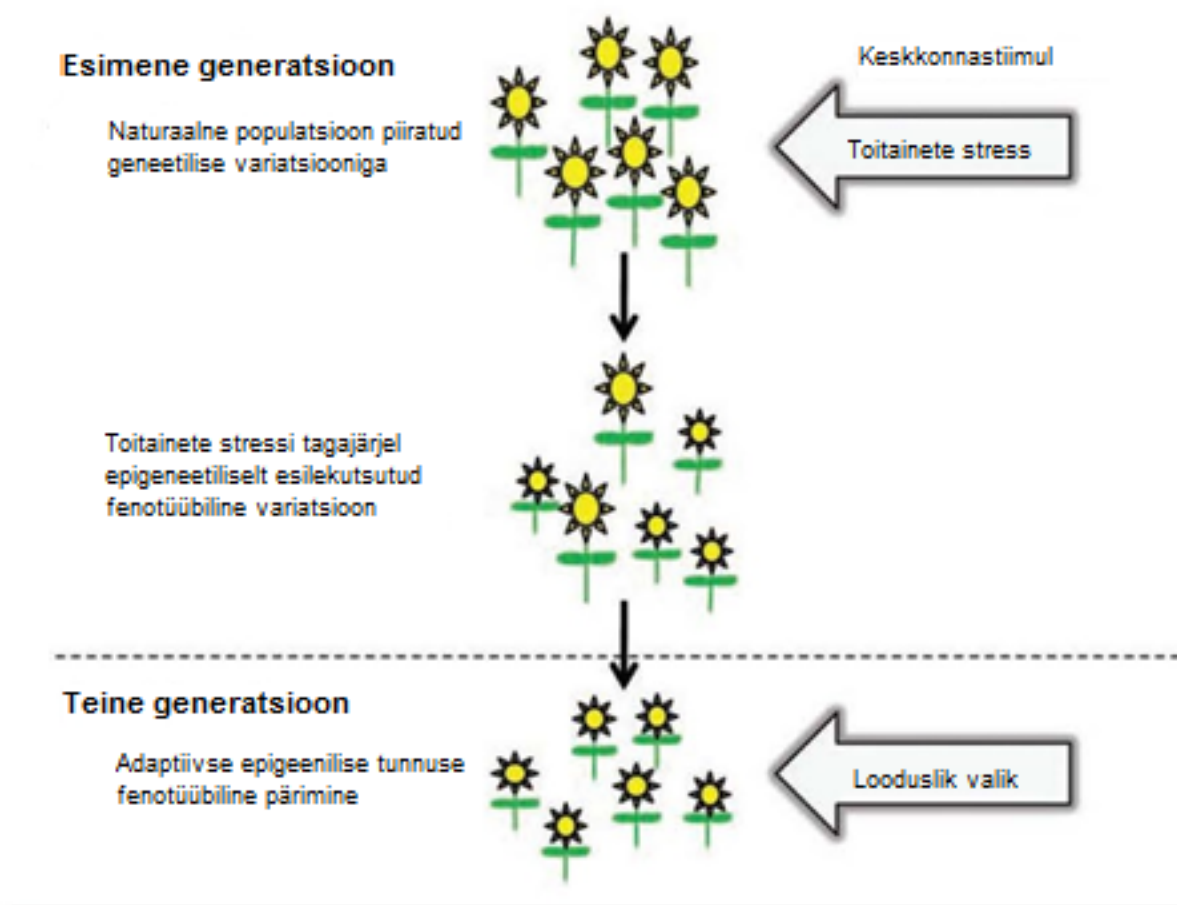
Mudelid on samuti uurinud pärilike, keskkonna poolt põhjustatud epimutatsioonide (generatsioonidevaheline plastilisus) adaptiivset tähtsust võrreldes puhtalt geneetilise või puhtalt plastilise (keskkonna poolt põhjustatud, kuid mitte generatsioonidevaheline) fenotüübi määramise strateegiaga (Jablonka *et al*, 1995). Jablonka *et al*. (1995) pakub, et generatsioonidevaheline plastilisus on keskmine, plastilise ja geneetilise strateegia vahepealne, strateegia.

Keskkonnamuutuste muster ja sagedus teeb tõenäoliselt kindlaks, millal generatsioonidevaheline plastilisus on kasulik (Shea *et al*, 2011; Lachmann and Jablonka, 1996; Jablonka *et al*, 1995). Kui keskkond muutub põlvkonna jooksul sageli, ei tundu generatsioonidevahelisest plastilisusest olevat mingit kasu. Samuti, kui see püsib stabiilsena sadu põlvkondi, fikseeriksvalik tõenäoliselt ainsa geneetiliselt määratud fenotüübi enne kui keskkond muutuks. Kui aga keskkond püsib stabiilne mõne põlvkonna jooksul nii, et vanema keskkond ennustab järglase keskkonna mõningase täpsusega, võib olla kasulik pärida vanema fenotüüp selle asemel, et tugineda arengu juhtimisel keskkonna signaalidele. (Lachmann and Jablonka, 1996)

Epigeneetika evolutsiooniteooriasse ühildamisel on tehtud märkimisväärseid edusamme kuid mitu teadussuuna on veel uurimata. Näiteks on täiendavaid teadusuuringuid vaja, et mõista miks mõned saidid on väga epimuutlikud, samas kui teised on stabiilsemad. Veel on väga vähe teada

loodusliku epimutatsiooni kiiruse kohta fenotüüpsel tasandil ning fenotüüpi mõjutavate epimutatsioonide generatsioonidevahelisest stabiilsusest. (Robertson and Wolf, 2012)

Mõistmaks epigeneetika rolli taimede kohastumisel, on vaja koostööd molekulaarbioloogide ja evolutsiooniliste ökoloogide vahel, et kombineerida populatsioonigeneetilist informatsiooni mudelitesse ja teoriasse. Kiire edasiliikumine epigeneetika valdkonnas jätkab meie arusaamakujundamist mehhanismide kohta, mis kontrollivad ja loovad fenotüüpset varieeruvust ning mõjutavad evolutsiooni. (Robertson and Wolf, 2012)



Joonis 5. Hüpooteetiline näide epigeneetiliselt esilekutsutud fenotüüpsest variatsioonist keskkonnastiimuli tõttu. Vanemate generatsioonis puutub looduslik taime populatsioon kokku toitainete stressiga, mis toob esile fenotüüpse plastilisuse, millel on epigeneetiline päritolu. Uus keskmine kaldub väiksemate fenotüüpide poole, mis vajavad edukaks paljunemiseks madalamaid toitainete tasemeid. Adaptiivne fenotüüpne tunnus on järeltulija poolt päritav nagu on ka sellega seotud epigeneetilisest markerid. (Robertson and Wolf, 2012)

9. Taimestressireaktsiooni epigeneetiline kontroll

Bioloogilised organismid on pidevas kokkupuutes väliskeskkonnast tulenevate ärritustega, mida kutsutakse stressiteguriteks ning on võimelised looma mehhanisme kaitseks ja adapteerumiseks. Stressiteguritel on kõige olulisem ja peamiselt negatiivne mõju organismi kasvule, arengule ja paljunemisele (Arnholdt-Shmitt, 2004; Madlung and Comai, 2004). Sageli määrab see liigi levikuala ja veelgi olulisemalt, põhjustab populatsioonidele selektiivse evolutsioonilise surve (Doroszuk *et al*, 2006). Vastavalt nende loomule võib stressitegureid jagada sisemisteks, näiteks vabade radikaalide produktsiooni raku metabolismi ajal, ja välisteks, mida võib vastavalt abiootilisele ja biootilisele olemusele omakorda kahte gruppi jagada (Madlung and Comai, 2004).

Stressi mõju minimeerimiseks saab rakendada kolme erinevat strateegiat. Nendeks on taluvus, vastupanu ja vältimine või lõpuks põgenemine. Tänu paiksele eluvormile on taimede käsutuses olevad mehhanismid piiratud taluvuse, vastupanu ja vältimisega. Uute tunnuste genereerimine, millele järgneb adaptiivsete omaduste valik, kujutab endast pikaajalist ellujäämisstrateegiat. Erinevalt loomadest, kes saavad aeglast evolutsiooni kiirust kompenseerida põgenemise või piiratud stressiga kokkupuutumisega, on taimedel vaja tõhusat lühiajalist strateegiat, mis põhineb olemasoleva geneetilise informatsiooni manipuleerimisel. Need strateegiad sisaldavad taime homöostaasi muutmist somaatilise kasvu ajal (Shinozaki *et al*, 2003; Sung and Amasino, 2004) ja pärilikke või generatsioonidevahelisi muudatusi geeniekspressioonis (Whitelaw and Whitelaw, 2006). Viimasena nimetatud muudatused võivad tekkida ilma algse DNA järjestuse muutmiseta ning neid nimetatakse epigeneetilisteks (Boyko and Kovalchuk, 2008).

Epigeneetilisi muudatusi on võimalik saavutada mitmel vastastikku sõltuval tasemel, sealhulgas DNA järjestuse tagasipöörduv metülatsiooni, histoonide modifikatsiooni ja kromatiini remodelleerimisega (Wagner, 2003; Vanyushin, 2006). Kõiki neid võib reguleerida mitmete füsioloogiliste ja arenguliste ärritustega ning lõpuks stressiga. Väliste ja siseste mõjutegurite spekter, mida organism enda eluaja jooksul kogeb, võib geeniekspressioonis viia eriliste muutuste tekkele, mida võib epigeneetiliselt (ilma DNA struktuuri muutmata) fikseerida ja järglastele edasi kanda, luues epigeneetilise mälu. (Boyko and Kovalchuk, 2008)

Geeniekspressiooni muudatuste säilimine prokarüootsetes ja eukarüootsetes organismides üle mitme raku põlvkonna on hästi dokumenteeritud (Bender, 2004). Fakt, et põlvkondadevahelised muutused DNA metülatsioonis on sagedamini nähtavad taimedes kui loomades (Takeda and Paszkowski, 2006), on kooskõlas taimede paikse eluviisiga. Erinevalt loomadest, taimedel

reproduktiivsed organid arenevad hilisemas faasis, mis võimaldab elu jooksul kogunenud epigeneetilise mälu edasikandumist järgmistele põlvkondadele (Boyko and Kovalchuk, 2008).

Boyko ja Kovalchuk väidavad, et indutseeritavad epigeneetilised muudatused võivad juhtida genoomi evolutsiooni ja kujundada taimede genoomi. DNA järjestuse modifikatsioon valikulise tsütosiini metülatsiooni kaudu mängib olulist rolli kui stabiilne epigeneetiline tunnus pärandumises taimedes. Hoolimata nende pöörduvusest on muutused DNA metülatsioonis üsna stabiilsed ning neid edastatakse sageli üle mitme põlvkonna. (Boyko and Kovalchuk, 2008)

Pärilike stressi mälestuste adaptiivne roll sai hiljuti toetust vaatluste poolt, mis näitasid, et taimede kokkupuude biotiliste (haigustekitaja) või abiootiliste (sool) stressiteguritega viib globaalsete muutusteni genoomi stabiilsuses ja metülatsioonis ning põhjustab ka vahetute järglaste kõrgeenenud taluvuse eelnevalt põhjustatud stressile (Boyko *et al*, 2007).

Kokkuvõttes võib öelda, et epigeneetiline kontroll taime reaktsiooni üle stressile on keerukas nähtus. Epigeneetilised muudatused ei esine ainult taime kokkupuutel stressiga vaid põhjustavad mitmeid muutusi geeniekspressioonis, mis võivad kesta üle mitme põlvkonna. Mitmed epigeneetiliselt vahendatud muudatused, mida põhjustab reaktsioon stressile, võivad põhjustada epialleele ja paramutatsioone, mis võivad populatsiooni jääda mitmeteks põlvkondadeks, viies taimede ökotüüpide lahknemiseni. Epigeneetilised markerid võivad seega reguleerida geeni evolutsiooni stressi poolt suunatud viisil, mis võimaldab uute adaptiivsete alleelide kiiret teket geneetilistel ja epigeneetilistel tasanditel. (Boyko and Kovalchuk, 2008)

10. Epigeneetika eesmärgid tulevikuks

Edasises töös tuleb seondada kõik epigeneetilised protsessid, mis ei lange kokku Mendeli pärilikkusseadustega nagu näiteks paramutatsioon, populatsioonide geneetilisteks mudeliteks. Molekulaar geneetikute ja geneetikute koostöö aitab tulevikus hinnata, kuidas epigeneetilised varieeruvused mõjutavad genoomi stabiilsust, rekombinatsioone ja mobiilsete elementide ehk transposoonide aktiivsust- faktoreid, mis kujundavad evolutsiooni. (Richards, 2008)

Grant-Downton ja Dickinson (2005; 2006) väidavad, et lisaks sisemisele huvile molekulaarbioloogia vastu, vajalik ka epigeneetiline perspektiiv taimede evolutsiooni, süstemaatika, populatsioonibioloogia ja looduskaitse osas. Arvatavasti mõjutab „epigeneetiline revolutsioon“ tulevikus nendes valdkondades mõtlemist.

11. Kokkuvõte

Epigeneetika on teadus organismide päritavatest omadustest, mis ei ole seotud muutustega DNA nukleotiidjärjestustes vaid võivad olla kaudselt kodeeritud genoomis.

Kolm paremini teadaolevat mehhanismi epigeneetikas on DNA metülatsioon, histoonide modifikatsioon ja RNA-ga seonduv vaigistamine miRNA ja siRNA abil. DNA metüleerimine on eriti oluline, sest see kontrollib kõiki geneetilisi funktsioone: DNA replikatsioone, rekombineerumist, parandamist, transkriptsiooni ja samas mängib olulist rolli geenide reguleerimises. Epigeneetiline pärilikkus erineb traditsioonilisest pärilikkuse mõistest. Epigeneetilised mutatsioonid on sagedamad ning on tagasipööratavad.

Epigeneetilised mehhanismid on olulised taimede kohanemises keskkonnale. Väga sageli on need protsessid omavahel seotud või isegi osaliselt üksteist asendavad. Epigeneetiline varieeruvus on oluline varieeruvuse allikas ökoloogiliselt olulistes protsessides nagu reproduktsioon ja stressitaluvus. Looduslik epigeneetiline varieeruvus on väga oluline taimede fenotüübi määramisel.

Epigeneetilised looduslikud varieeruvused mängivad olulist rolli populatsioonide evolutsioonis, nad aitavad hoida fenotüüpide mitmekesisust.

12. Summary

The importance and role of epigenetic variation in modern science of plants

Epigenetics is a science of inheritable organism properties that are not associated with changes in the DNA nucleotide sequence but can be indirectly encoded in the genome. Epigenetic variations are caused by environmental factors that switch genes on and off and affect how cells read genes.

The most known three epigenetic mechanisms are: enzymatic DNA methylation, the histone modifications and gene silencing mediated by small RNAs (miRNA, siRNA), each of which alters how genes are expressed without altering the underlying DNA sequence. Epigenetic mechanisms are important in plant responses to the environment in natural populations. Very often all these processes are interconnected or even partially interchangeable.

DNA methylation is a process by which methyl groups are added to DNA. DNA methylation is the primary epigenetic mark and it is especially important, because it controls all genetic functions: DNA replication, recombination, repair, transcription and others.

The main question is: how does the natural epigenetic variation affect the adaptation of plants? It is clear however, that both heritable and non-heritable epigenetic variation is an important source of variance in ecologically important traits such as reproduction and stress tolerance. Also, epigenetic variation may be controlled by environmental variation and/or genetic variation, or it may be independent of both. Natural epigenetic variation is very important in shaping the phenotype of plants, too. At the same time, epigenetic variation can affect evolution when epigenetic changes are heritable.

13. Tänuavaldused

Kõige suuremad tänusõnad kuuluvad minu juhendajale vanemteadurile Tatjana Ojale tema meisterliku juhendamise eest ning võimaluse eest rohkem teada saada epigeneetilistest protsessidest taimedes.

Olen väga tänulik Lagle-Marie Tammile ja Kärt Lindhole, kes aitasid mind tõlkimisega eesti keelde.

14. Kasutatud kirjandus

- Agrawal, Dasaradhi, Mohmmmed, Malhotra, Bhatnagar, & Mukherjee (2003).** RNA interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiol Mol Biol Reviews* 67 (4): 657–685.
- Aina, Sgorbati, & Santagostino, et al (2004).** Specific hypomethylation of DNA is induced by heavy metals in white clover and industrial hemp. *Physiol plantarum* 121: 472-480.
- Angers, Castonguay, & Massicotte (2010).** Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Mol ecol* 19: 1283-1295.
- Arnholdt-Schmitt (2004).** Stress-induced cell reprogramming. A role for global genome regulation? *Plant Physiol* 136: 2579–2586.
- Bartel (2004).** MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 116 (2): 281–297.
- Bartel (2009).** MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 136 (2): 215–233.
- Bastow, Mylne, & Lister, et al (2004).** Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature* 427: 164-167.
- Becker, Haggmann, & Muller, et al (2011).** Spontaneous epigenetic variation in the *Arabidopsis thaliana* methylome. *Nature* 480: 245-249.
- Bender (2004).** DNA methylation and epigenetics. *Annu rev plant biol* 55: 41–68.
- Berger, Kouzarides, Shiekhattar, & Shilatifard (2009).** An operational definition of epigenetics. *Genes & Development* 23: 781-783.
- Bhasin, Reinherz, & Reche (2006).** Recognition and classification of histones using support vector machine. *J. Comput. Biol.* 13 (1): 102–112.

- Bossdorf, Richards, & Pigliucci (2008).** Epigenetics for ecologists. *Ecol lett* 11: 106-115.
- Boyko, Kathiria, Zemp, Yao, Pogribny, & Kovalchuk (2007).** Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants: (Virus-induced plant genome instability). *Nucleic acids res* 35: 1714–1725.
- Boyko, & Kovalchuk (2008).** Epigenetic control of plant stress response. *Environmental and molecular mutagenesis* 49: 61-72.
- Bruce, Matthes, Napier, & Pickett (2007).** Stressful memories of plants: evidence and possible mechanisms. *Plant Sci* 173: 603-608.
- Cairns (2009).** The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters. *Nature* 10; 461 (7261): 193-198.
- Chahwan, Wontakal & Roa (2011).** The multidimensional nature of epigenetic information and its role in disease. *Discovery medicine*.
- Chandler, Eggleston, & Dorweiler (2000).** Paramutation in maize. *Plant Mol Biol* 43: 121–145
- Chandler (2007).** Paramutation: from maize to mice. *Cell* 128: 641-645.
- Doroszuk, Wojewodziec, & Kammenga (2006).** Rapid adaptive divergence of life-history traits in response to abiotic stress within a natural population of a parthenogenetic nematode. *Proc biol sci* 273: 2611–2618.
- Feinberg, & Irizarry (2010).** Stochastic epigenetic variation as a driving force of development, evolutionary adaptation, and disease. *Proc natl acad sci USA*, 107Suppl1: 1757-1764.
- Furner, & Matzke (2011).** Methylation and demethylation of the Arabidopsis genome. *Curr opin plant biol* 14: 137-141.
- Gilbert, & Wallrath (2011).** Chromatin and chromosomes. *Mol Biol Cell* 22: 717.

Grant-Downton, & Dickinson (2005). Epigenetics and its implications for plant biology. 1. The epigenetic network in plants. *Annals of botany* 96: 1143-1164.

Grant-Downton, & Dickinson (2006). Epigenetics and its implications for plant biology. 2. The „Epigenetic epiphany”: epigenetics, evolution and beyond. *Annals of botany* 97: 11-27.

Haig (2004). The (Dual) origin of Epigenetics. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 69: 67-70.

Herrera & Bazaga (2010). Epigenetic differentiation and relationship to adaptive genetic divergence in discrete populations of the violet *Viola cazorlensis*. *New phytologist* 187: 867-876.

Herrera & Bazaga (2011). Untangling individual variation in natural populations: ecological, genetic and epigenetic correlates of long-term inequality in herbivory. *Mol Ecol* 20: 1675-1688.

Holliday (1990). Mechanisms for the control of gene activity during development. *Biol. Rev. Cambr. Philos. Soc.* 65: 431-471.

Huxley (1956). Epigenetics. *Nature* 177: 807.

Huxley (1957). Cancer biology: Viral and epigenetic. *Biol. Rev.* 32: 1.

Iizuka & Smith (2003). Functional consequences of histone modifications. *Curr opin genet dev* 13 (2): 154-160.

Jablonka, & Lamb (2008). Soft inheritance: challenging the modern synthesis. *Genet mol biol* 31: 389-395.

Jablonka, Oborny, & Molnar, et al (1995). The adaptive advantage of phenotypic memory in changing environments. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B: biological sciences.* 350: 133-141.

Jablonka, & Raz (2009). Transgenerational epigenetic inheritance: Prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution . *Quarterly review of biology* 84: 131-176.

Jenuwein & Allis (2001). Translating the histone code. *Science* 293 (5532): 1074-1080.

Johannes, Porcher, Teixeira, Saliba-Colombani, Simon, Agier, Bulski, Albuissou, Heredia, & Audigier, et al (2009). Assessing the impact of transgenerational epigenetic variation on complex traits. *PLoS Genetics* 5: e1000530.

Johnson (2007). The genome strikes back: the evolutionary importance of defence against mobile elements. *Evolution* 34: 121-129.

Jones, Ratcliff, & Baulcombe (2001). RNA-directed transcriptional gene silencing in plants can be inherited independently of the RNA trigger and requires Met1 for maintenance. *Current Biology* 11 (10): 747–757.

Kalisz, & Purugganan (2004). Epialleles via DNA methylation: consequences for plant evolution. *Trends ecol evol* 19: 309-314.

Kooke, Johannes, Wardenaar, Becker, Etcheverry, Colot, Vreugdenhil, & Keurentjes (2015). Epigenetic basis of morphological variation and phenotypic plasticity in *Arabidopsis thaliana*. *American society of plant biologists*.

Kouzarides (2007). SnapShot: Histone- modifying enzymes. *Cell* 16; 131 (4): 822.

Lachmann & Jablonka (1996). The inheritance of phenotypes: an adaptation to fluctuating environments. *J Theoret biol* 181: 1-9.

Law, & Jacobsen (2010). Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nat rev genet* 11: 204-220.

Luger, Mäder, Richmond, Sargent, & Richmond (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389 (6648): 251–260.

Madlung, & Comai (2004). The effect of stress on genome regulation and structure. *Ann botany* 94: 481–495.

- Mirouze, & Paszkowski (2011).** Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Curr opin plant biol* 14: 267-274.
- Parisod, Alix, & Just, et al (2010).** Impact of transposable elements on the organization and function of allopolyploid genomes. *New phytologist* 186: 37-45.
- Paun, Bateman, Fay, Hedren, Civeyrel, & Chase (2010).** Stable Epigenetic effects impact adaptation in allopolyploid orchids (*Dactylorhiza*: Orchidaceae). *Mol. Biol. Evol.* 27(11): 2465-2473.
- Pecinka, Dinh, & Buabec, et al (2010).** Epigenetic regulation of repetitive elements is attenuated by prolonged heat stress in Arabidopsis. *Plant cell* 22: 3118-3129.
- Peter (2011).** DNA methylation systems and targets in plants. *FEBS Letters* 585: 2008-2015.
- Pigliucci (2007).** Do we need an extended evolutionary synthesis? *Evolution* 61: 2743-2749.
- Queitsch, Sangster, & Lindquist (2002).** Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature* 417: 618-624.
- Rassoulzadegan, Grandjean, Gounon, Vincent, Gillot, & Cuzin (2006).** RNA-mediated non-Mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature* 441: 469-474.
- Richards, Bossdorf, & Pigliucci (2010).** What role does heritable epigenetic variation play in phenotypic evolution? *BioSci* 60: 232-237.
- Richards, Bossdorf, & Verhoeven (2010).** Understanding natural epigenetic variation. *New Phytologist* 187: 562-564.
- Richards & Wendel (2011).** The hairy problem of epigenetics in evolution. *New phytol* 191: 7-9.
- Richards (2008).** Population epigenetics. *Genetics & Development* 18: 221-226.

Riggs, Martienssen, & Russo (1996). Introduction. In epigenetic mechanisms of gene regulation (ed. Russo et al.). *Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York*, p. 1.

Robertson, & Wolf (2012). The role of epigenetics in plant adaptation. *Trends in evolutionary biology; volume 4:e4*, 19-25.

Scott (2001). Ecological developmental biology: developmental biology meets the real world. *Dev Biol* 233: 1-12.

Scoville, Barnett, & Bodbyl-Roels, et al (2011). Differential regulation of a MYB transcription factor is correlated with transgenerational epigenetic inheritance of trichome density in *Mimulus guttatus*. *New phytologist* 191: 251-263.

Shea, Pen, & Uller (2011). Three epigenetic information channels and their different roles in evolution. *J Evolution Biol* 24: 1178-1187.

Shinozaki, Yamaguchi-Shinozaki, & Seki (2003). Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Curr Opin Plant Biol* 6: 410–417.

Slatkin (2009). Epigenetic inheritance and the missing heritability problem. *Genetics* 182: 845-850.

Strahl & Allis (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403 (6765): 41-45.

Sung, & Amasino (2004). Vernalization and epigenetics: How plants remember winter. *Curr Opin Plant Biol* 7: 4–10.

Takeda, & Paszkowski (2006). DNA methylation and epigenetic inheritance during plant gametogenesis. *Chromosoma* 115: 27–35.

Vanyushin, & Ashapkin (2011). DNA methylation in higher plants: past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 1809: 360-368.

- Vanyushin (2006).** DNA methylation in plants. *Curr topics microbiol immunol* 301: 67–122.
- Vaughn, Tanurdzic, Lippman, Jiang, Carrasquillo, Rabinowicz, Dedhia, McCombie, Agier, & Bulski, et al (2007).** Epigenetic natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS biology* 5: 1617-1629.
- Vedova & Cone (2004).** Paramutation: The chromatin connection. *The Plant Cell* vol. 16 no. 6: 1358-1364.
- Verhoeven, Jansen, van Dijk, & Biere (2010).** Stress-induced DNA methylation changes and their heritability in asexual dandelions. *New phytologist* 185: 1108-1118.
- Waddington (1957).** The strategy of the genes. Allen & Unwin, London.
- Wagner (2003).** Chromatin regulation of plant development. *Curr opin plant biol* 6: 20–28.
- Wang, Pan, & Zhao, et al (2011).** Drought-induced site-specific DNA methylation and its association with drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *J Experiment Bot* 62: 1951-1960.
- Whitelaw, & Whitelaw (2006).** How lifetimes shape epigenotype within and across generations. *Hum mol genet* 15 spec No 2: R131–R137.
- Zhai, Liu, Liu, & Li, et al (2008).** Small RNA-directed epigenetic natural variation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet* 4:e1000056.
- Ванюшин (Vanyushin) (2013).** Эпигенетика сегодня и завтра. *УДК 577.21: 577.24* , 805-832.

Õpik

Heinaru (2012). Geneetika. Õpik kõrgkoolile. p. 217-218; 265-266; 482-484; 705; 989.

15. Lisad

Mõisted

Epialleelid- DNA järjestusest mittesõltuvad varieeruvused, mis on mõjutatud keskkonna ja geneetiliste faktorite poolt.

Epigeneetiline- fenotüübi muutused, mis tulenevad geenide aktiivsuse ajalise ja ruumilise kontrolli geneetilisest ja eksogeneetilisest tegutitest ja mehhanismidest.

Epigeneetilised tunnused- konkreetse genotüübi põhjal võib moodustuda hulk epigeneetilisi tunnuseid, mis sugurakkudega järglastele edasi ei pärandu.

Epigenoomika- genoomi tasandil toimuv keskkonnatoimelise muutlikkuse (metüülimine, heterokromatinisatsioon) uurimine.

Epigenoomne- epigeneetilisest modifikatsioonidest tingitud genoomiväline seisund või protsess.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Valerija Andrjuštšenko

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

„Epigeneetilise varieeruvuse olulisus ja roll tänapäeva taimeteaduses”,

mille juhendaja on vanemteadur Tatjana Oja,

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 18.05.2016.