

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových  
a přírodních zdrojů**

**Katedra etologie a zájmových chovů**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Epigenetické modifikace a jejich projevy  
v genomu koně domácího (*Equus caballus*)**

**Bakalářská práce**

**Autorka práce Laura Jůvová**

**Obor studia Chov koní**

**Vedoucí práce doc. Ing. Jitka Bartošová, Ph.D.  
Konzultantka Ing. Klára Ničová**

© 2020 ČZU v Praze



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci *Epigenetické modifikace a jejich projevy v genomu koně domácího (Equus caballus)* jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17. 7. 2020

---



## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat doc. Ing. Jitce Bartošové, Ph.D. a konzultantce Ing. Kláře Ničové za podnětné připomínky, rady a pomoc při zpracování mé bakalářské práce.



# Epigenetické modifikace a jejich projevy v genomu koně domácího (*Equus caballus*)

## Souhrn

Epigenetika je mladý vědní obor, který se začal vyvíjet v 50. letech 20. století. V současné době se stává důležitou, ne-li zásadní součástí biologie. Epigenetické modifikace poskytují mechanismus pro regulaci genové exprese bez změny v sekvenci DNA a hrají klíčovou roli v mnoha biologických procesech v organismu. Jejich aberantní výskyt může způsobit poškození životně důležitých funkcí. Epigenetické modifikace jsou potenciálně reverzibilní, ale mohou být také děděny z jedné generace na druhou a reagovat na faktory prostředí. Díky tomuto mechanismu může být potomstvo ovlivněno prostředím rodičů, a dokonce i prarodičů.

V této bakalářské práci byly zmapovány dosavadní poznatky týkající se epigenetických mechanismů a modifikací, které ovlivňují expresi genů. Podrobněji byla popsána metylace DNA a histonové posttranslační modifikace v genomu koně domácího (*Equus caballus*) a jejich dopad na výkon, chování a reprodukci.

Dle vědeckých zdrojů se zejména prenatální a časné postnatální období považují za kritická, jelikož právě v této době činí epigenetická plasticita vyvíjející se organismus velmi citlivým vůči jeho prostředí. Z tohoto důvodu jsou dobrá péče a výživa chovných klisen velmi důležitými faktory pro budoucí zdraví a kvalitu potomstva. Využití biotechnologií v reprodukci má také svůj dopad, jelikož může způsobit změny epigenetických modifikací zárodečných buněk nebo embrya.

V současné době se koně používají především pro jezdecký sport, práci a rekreaci. Výkonnost je důležitá pro chovatele a majitele a je také zásadním faktorem při selekci. Epigenetické modifikace mohou být ovlivněny fyzickou aktivitou. Výzkum epigenetických změn v důsledku fyzické aktivity je u koní na svém začátku, je však důležitý pro lepší pochopení fyziologických procesů, které probíhají během zátěže.

Poslední oblastí, na kterou se tato práce zaměřila, bylo chování koní, které ovlivňuje všechny aspekty jejich využití z důvodu blízkých interakcí s lidmi. Chování může být ovlivněno epigenetickými modifikacemi v důsledku mnoha faktorů prostředí. V budoucnu by nám epigenetika mohla pomoci lépe pochopit chování a životní projevy jednotlivých koní.

**Klíčová slova:** metylace DNA, posttranslační modifikace histonů, reprodukce, zátěž, chování, imprinting, epigenetická dědičnost.





# Epigenetics and its effect in genome of domestic horses (*Equus caballus*)

## Summary

Epigenetics is a young study field which evolved in the 1950s. Nowadays it is becoming more and more important, even crucial, component of biology. Epigenetic modifications provide a mechanism for the regulation of the gene expression without alternations in the DNA sequence. They play a crucial role in many biological processes in an organism and their aberrant presentation might cause damages of many vital functions. Epigenetic modifications are potentially reversible but also can be inherited from one generation to another and react to the environmental factors. Thanks to this mechanism, offspring can be affected by its parent's and even grandparent's environment.

In the bachelor thesis the existing knowledge has been mapped concerning epigenetic mechanisms and modifications that affect the gene expression. DNA methylation and histone posttranslational modifications in the genome of the domestic horse (*Equus caballus*) and their impact on performance, behaviour and reproduction have been described in more detail.

According to the available scientific resources, especially the prenatal and early postnatal periods are considered critical because it is at this time that the epigenetic plasticity of the developing organism which makes it very sensitive to its environment. This is the reason why good care and nutrition of broodmares are very important factors for the future health and quality of the offspring. The use of biotechnologies in reproduction also has its impact, as it can cause changes in epigenetic modifications of germ cells or an embryo.

Nowadays horses are mainly used for equestrian sport, work and recreation. The performance is important for breeders and owners and it is also an essential factor in selection. Epigenetic modifications can be affected by physical activity. The research of epigenetic changes due to physical activity in horses is in its beginning but it is important for better understanding of physiological processes during the exercise.

The last area of the work's focus was on horses' behaviour which affects all aspects of their use because of close interactions with humans. The behaviour can be affected by epigenetic modifications due to many environmental factors. In the future the epigenetics could help us better understand behaviour and life characteristics of individual horses.

**Keywords:** DNA methylation, histone posttranslational modifications, reproduction, exercise, behaviour, imprinting, epigenetic heredity.



## Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>13</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>15</b>
<b>3 Literární rešerše .....</b>	<b>17</b>
<b>3.1 Genetická informace a její přenos.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Epigenetika.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Epigenetické mechanismy regulující genetickou expresi.....</b>	<b>19</b>
3.3.1 Metylace DNA .....	20
3.3.2 Modifikace histonů.....	23
3.3.2.1 Acetylace histonů .....	24
3.3.2.2 Metylace histonů .....	24
<b>3.4 Dědičnost .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Epigenetická dědičnost .....	26
3.4.1.1 Mitotická dědičnost.....	26
3.4.1.2 Transgenerační dědičnost .....	27
<b>3.5 Genomický imprinting .....</b>	<b>28</b>
<b>3.6 Epigenetika a její vliv na chov a využití koní.....</b>	<b>29</b>
3.6.1 Epigenetické modifikace v souvislosti s reprodukcí koní.....	30
3.6.1.1 Vliv technologií asistované reprodukce na epigenetické modifikace .....	30
3.6.1.2 Vliv výživy březí klisny na epigenetické modifikace hříbete.....	31
3.6.2 Vliv fyzické zátěže na epigenetické modifikace.....	33
3.6.3 Vliv epigenetických modifikací na chování.....	34
<b>Závěr .....</b>	<b>36</b>
<b>Literatura .....</b>	<b>38</b>
<b>Seznam použitých zkratk .....</b>	<b>47</b>



# 1 Úvod

Epigenetika je vědním podoborem genetiky (Vyskot 2010) zabývající se studiem dědičných změn v genové expresi, které nejsou způsobeny změnou sekvence DNA. Klíčovou roli v regulaci genové exprese savců (*Mammalia* Linnaeus, 1758) hrají epigenetické modifikace, mezi které patří metylace DNA a posttranslační modifikace histonů (Dindot & Cohen 2013; Colciago & Magnaghi 2016).

Epigenetické modifikace se v organismu vyskytují běžně a přirozeně (Davies 2017) a souvisí s různými biologickými procesy, jako je například imprinting nebo inaktivace chromozomu X (Dupont et al. 2009). Mohou ale také reagovat na podmínky prostředí (Dindot & Cohen 2013; Tuscher & Day 2019). Mezi faktory, které mohou epigenetické modifikace ovlivnit, patří mimo jiné věk, onemocnění, výživa, zátěž, léčiva (Davies 2017), rodičovská péče (Bas Rodenburg 2014) nebo také stres (Jensen 2014).

Epigenetika má výrazný interdisciplinární přesah. Znalosti v tomto oboru mohou být užitečné například pro lepší pochopení procesů, které jsou spojeny s rakovinou a její možnou budoucí terapií (Duruiseaux & Esteller 2018) nebo pro pacienty trpící psychickým onemocněním (Hackney 2015). V oblasti chovu koní a jejich využití souvisí s různými aspekty, které mají vliv na zdraví a welfare zvířat a mohou mít dopad také na ekonomiku chovu. Jde především o reprodukci, kde se epigenetické modifikace úzce pojí s využitím metod asistované reprodukce a s výživou březí klisny (Chavatte-Palmer et al. 2017), dále pak s vlivem fyzické zátěže (Davies 2017) a v neposlední řadě s ovlivněním chování (Beaver 2019).

V této práci se budeme blíže věnovat epigenetickým modifikacím, se zaměřením na metylaci DNA a posttranslační modifikace histonů a následně jejich souvislostem s chovem a využitím koní domácích (*Equus caballus* Linnaeus, 1785).



## 2 Cíl práce

Epigenetika je mladým vědním oborem, který je stále v počátcích svého vývoje. Epigenetické modifikace jsou unikátní, buněčně specifické, dědičné a dynamické. Epigenetický regulační systém hraje základní roli v zprostředkování biologických procesů a utváření fenotypové plasticity organismů. Jde o soubor mechanismů vytvářející rámec pro regulaci genetické exprese, mapu funkčně nekódovaných elementů genomu a biologické senzory pro podmínky životního prostředí. Na rozdíl od genetických změn se v případě epigenetických modifikací může jednat i o reverzibilní jev, který může být využit při terapeutických strategiích. Cílem bakalářské práce je proto zmapovat dosavadní poznatky týkající se epigenetických mechanismů, které ovlivňují genetickou expresi se zaměřením na DNA metylace a posttranslační modifikace histonových proteinů v genomu koně domácího (*Equus caballus*) a jejich dopad na chování a výkonnost koní.





## 3 Literární rešerše

### 3.1 Genetická informace a její přenos

Genetika je věda o dědičnosti a proměnlivosti, která se začala rozvíjet v průběhu 20. století (Gayon 2016). Původ této vědní disciplíny však můžeme najít již v práci Pokusy s rostlinnými hybridy (*Versuche über Pflanzen-Hybriden*) Johanna Gregora Mendela (1822 – 1884), kterou publikoval v roce 1866. Mendel zde shrnul výsledky svého výzkumu, který prováděl v Augustiniánském opatství v Brně, a položil tak základy zcela nového oboru – Genetiky (Snustad & Simmons 2017).

Nositelkou dědičné genetické informace je deoxyribonukleová kyselina neboli DNA (Gayon 2016; Snustad & Simmons 2017). DNA byla objevena již v roce 1869 Friedrichem Miescherem (1844 – 1895) (Politi 2018). Struktura DNA však byla popsána až v roce 1953 genetikem Jamesem Watsonem (\*1928) a biofyzikem Francisem Crickem (1916 – 2004), kteří za svůj objev obdrželi Nobelovu cenu (Politi 2018; Dai & Rudge 2018). Molekula DNA v sobě obsahuje jednotlivé geny a skládá se ze dvou řetězců nukleotidů. Ty jsou tvořeny molekulami cukru (deoxyribózou), molekulami fosfátu a dusíkatými bázemi, a to adeninem (A), guaninem (G), cytosinem (C) a tyminem (T). Tyto řetězce jsou spojeny tzv. vodíkovými můstky mezi bázemi, které se navzájem párují (adenin s tyminem a guanin s cytosinem) a dohromady tak vytvářejí dvoušroubovici DNA (Snustad & Simmons 2017).

Geny jsou od sebe odlišeny sekvencí zmíněných bází a právě sekvenování DNA neboli zjišťování pořadí bází bylo dalším významným milníkem ve studiu genetiky. Jedním ze sekvenčních programů byl Projekt lidského genomu (The Human Genome Project), který byl zahájen v roce 1990 a účastnili se jej výzkumné skupiny z mnoha různých zemí (Lander et al. 2001; Snustad & Simmons 2017). Projekt lidského genomu vyvrcholil v roce 2001 publikováním návrhu sekvence lidského genomu a následně v roce 2003 jeho kompletní sekvencí (Huang & Murray 2010). Sekvence genomu koně domácího (*Equus caballus*), plnokrevné klisny Twilight, byla zveřejněna v roce 2009. Zjištěná sekvence genomu se v současné době využívá při genetickém výzkumu koní po celém světě (Davies 2018).

V návaznosti na Projekt lidského genomu vznikla v roce 2003 další mezinárodní spolupráce, projekt ENCODE (The Encyclopedia of DNA Elements). Cílem tohoto výzkumu je identifikovat všechny funkční elementy lidského genomu. Projekt ENCODE zatím přinesl důležité informace o organizaci a funkci lidského genomu v různých oblastech, mimo jiné o DNA metylaci, která je významným epigenetickým regulačním faktorem (Qu & Fang 2013).

Genom, neboli genetická výbava jedince, je uložen v buněčném jádře, v útvech zvaných chromozomy. Jejich počet se u jednotlivých druhů liší, člověk má 23 párů chromozomů. U koně domácího (*Equus caballus*) je toto číslo vyšší, má 32 párů chromozomů. Chromozomy se dělí na autozomy a gonozomy. Gonozomy (X a Y) determinují pohlaví jedince (Chowdhary 2003).

Genetická informace je přenášena při buněčném dělení z mateřských buněk na dceřiné a při reprodukci z rodičů na potomstvo. Aby k tomu mohlo dojít, musí se molekuly DNA

replikovat, což je první významnou funkcí DNA. Její druhou důležitou funkcí je exprese genů. DNA obsahuje informace pro syntézu proteinů. Pořadí aminokyselin, které tvoří polypeptidy, je určováno tripletami sousedících nukleotidů, tzv. kodony (Snustad & Simmons 2017; Davies 2018). Proces exprese genů probíhá pomocí dvou mechanismů. Nejdříve pomocí transkripce vzniká jednovláknová RNA, která je tvořena molekulami cukru ribózy, molekulami fosfátu a dusíkatými bázemi adeninem, guaninem, cytosinem a uracilem. V RNA je thymin zaměněn za uracil. Druhým krokem exprese genů je translace, kdy mediátorová RNA (mRNA) slouží jako podklad pro syntézu polypeptidu (Snustad & Simmons 2017).

V současné době je genetika využívána v různých oborech, například v medicíně (Kulkarni 2015; Snustad & Simmons 2017; Yang 2019) či v zemědělství (Kulkarni 2015; Snustad & Simmons 2017). Velmi zajímavé a do budoucna perspektivní je také využívání genetiky ve sportu, kde její znalosti mohou pomoci se zvýšením výkonnosti atleta nebo se sestavením optimálního tréninkového plánu (Ferec 2017). Genetický výzkum koní přináší benefity v oblastech zdraví, kondice a zlepšení jejich výkonnosti (Davies 2018).

## 3.2 Epigenetika

Epigenetika je vědním podoborem genetiky (Vyskot 2010). V současné době se tento obor s výrazným interdisciplinárním přesahem dostává do popředí zájmu autorů jak vědecké, tak populárně naučné literatury. Propojení s dalšími vědními disciplínami, jako jsou genetika, medicína, evoluční biologie, výživa a další, přináší mnoho nových témat a oblastí k výzkumu. Příkladem mohou být studie věnované výzkumu psychických onemocnění (Schiele et al. 2020), rakoviny (Duruiseaux & Esteller 2018) či prenatálního stresu (Cao-Lei et al. 2017).

Přesto, že jde o poměrně mladý vědní obor, jehož vznik můžeme datovat teprve od 80. let 20. století, pojem epigenetika je starší a v průběhu doby měnil svůj význam (Vyskot 2010; Deichmann 2016). Mnoho staletí před samotným pojmem epigenetika existovalo přídavné jméno „epigenetický“, které se však vztahovalo k epigenezi a ne k epigenetice. Termín epigeneze zavedl fyzik a fyziolog William Harvey (1578 – 1657) kolem roku 1650 pro koncepci vývoje jako postupného procesu rostoucí složitosti z počátečních homogenních materiálů ve vajíčku. Tato idea byla původně představena Aristotelem (385 př. n. l. – 323 př. n. l.) (Deichmann 2016). Stejně tak historie vědeckého oboru epigenetiky je mnohem delší a souvisela především s posunem znalostí v oblastech evoluce, fylogeneze, ontogeneze a samozřejmě genetiky. Kořeny epigenetiky lze najít již na přelomu 18. a 19. století v díle Jean-Baptiste Lamarcka (1744 – 1829), který se jako jeden z prvních pokusil o výklad evoluční teorie. Lamarck předpokládal, že se druhy neustále adaptují na vnější podmínky a tyto adaptivní změny, získané během života, se dědí. Tato myšlenka však byla nesprávná. Bylo zjištěno, že se nepřenáší znak jako takový, ale schopnost organismu znak fenotypově projevit. Lamarckovu teorii překonal Charles Darwin (1809 – 1892) a nástup mendelistické genetiky. Někteří vědci i přesto v pozdější době propagovali teorii o dědičnosti získaných znaků, patřil mezi ně například Trofim Denisovič Lysenko (1898 – 1976) (Vyskot 2010).

Významnou osobností v historii epigenetiky byl embryolog Conrad Waddington (1905 – 1975), který v roce 1942 představil pojem epigenetika v moderní biologii, stále však v souvislosti s epigenezí. Waddington definoval epigenetiku jako celý komplex vývojových procesů, které leží mezi genotypem a fenotypem a byl také autorem teorie tzv. epigenetické krajiny,

kteřá demonstruje možné vývojové cesty buňky, v závislosti na vnějších podmínkách, které vyústí v omezený počet fenotypů (Waddington 1942; Deichmann 2016).

Od druhé poloviny 20. století docházelo již k detailnějším objevům v oblasti epigenetiky. Například v roce 1983 objevili američtí lékaři Andrew P. Feinberg a Bert Vogelstein rozdíl v metylaci DNA nádorových a zdravých buněk. Neméně významný je objev genomického imprintingu Davora Soltera a Azima Suranima v roce 1984 (Vyskot 2010).

Dnes můžeme epigenetiku definovat jako studium změn v genové funkci, které jsou mitoticky a/nebo meioticky dědičné a neznamenaají změnu v sekvenci DNA (Wu & Morris 2001). Epigenetika se tedy zabývá biochemickými ději v chromatinu, které ovlivňují genovou expresi. Epigenetické modifikace jsou potenciálně reverzibilní, mohou však být děděny z generace na generaci a také reagovat na podmínky prostředí (Barros & Offenbacher 2009).

### 3.3 Epigenetické mechanismy regulující genickou expresi

Dnes již víme, že genická informace je kódovaná lineární sekvencí DNA, a současně je ovlivňována epigenetickými modifikacemi (Barros & Offenbacher 2009). Většina těchto změn je spojena s chemickými nebo strukturálními změnami chromatinu, což je komplex DNA a proteinů v jádru buňky (Deichmann 2016). Základní jednotkou eukaryotického chromatinu jsou nukleozomy, které jsou tvořeny DNA a histonovými proteiny. Nukleozom se skládá ze 146 párů bází DNA obtočených kolem histonového jádra neboli oktameru, který tvoří osm histonových proteinů. Oktamer obsahuje vždy dvě molekuly čtyř typů histonů, kterými jsou H2A, H2B, H3 a H4 (Onufriev & Schiessel 2019). Nukleozomy pojí tzv. linker DNA spolu s histonem H1 (Dupont et al. 2009). Právě změna této struktury může vést ke změně exprese příslušných genů beze změny genického kódu (Vyskot 2010).

Epigenetické modifikace zahrnují posttranslační modifikace histonů a kovalentní modifikace DNA bází. Nejčastější kovalentní modifikací DNA u savců (*Mammalia*) je metylace cytosinu, méně časté jsou metylace adeninu a guaninu. Mezi histonové modifikace patří, v současné době nejlépe popsané, acetylace a metylace (Dupont et al. 2009).

Výzkum chemických modifikací chromatinu, především změn histonů a DNA, začal v 60. letech 20. století (Deichmann 2016). Ještě před začátkem tohoto výzkumu, již v roce 1950, předpověděli Edgar a Ellen Stedmanovi možný inhibiční vliv histonů na genovou expresi (Stedman & Stedman 1950; Felsenfeld 2014). Mechanismy histonových modifikací nebyly v té době známy a předpokládalo se, že histony jsou potlačující proteiny, které pasivně umlčují genovou expresi (Felsenfeld 2014). Dle tohoto předpokladu by aktivace genu znamenala vystřížení histonů a následnou transkripci velmi podobnou jako u prokaryot. Byly však předloženy důkazy, že prodloužené úseky otevřené DNA v eukaryotických buňkách neexistují a nebylo objasněno, jakým způsobem by tento proces probíhal (Clark & Felsenfeld 1971; Felsenfeld 2014).

Řešení tohoto problému začalo již v roce 1964, kdy Vincent Allfrey a Alfred Mirsky předpokládali, že by acetylace histonů mohla být spojena s aktivací genů a že aktivní chromatin nemusí být nutně zbavený histonů (Felsenfeld 2014). Ve stejném roce Allfrey a Mirsky dokázali inhibiční efekt histonů na transkripci, avšak nebylo zřejmé, zda modifikace histonů inhibičně způsobují, anebo s ní pouze korelují (Deichmann 2016). V následujících letech zájem o modifikace histonů a jejich vliv na genovou expresi vzrostl, a kromě acetylace byly obje-

veny i další modifikace – metylace a fosforylace, ale jejich funkční význam nebyl jasný. Klíčovým milníkem a základem pro moderní výzkum chromatinu byl objev nukleozomu v roce 1974, který učinili Roger Kornberg a Jean Thomas. Popsání struktury nukleozomu přineslo, kromě důležitých strukturálních informací, také důkaz, že na aminoterminálních koncích histonů mohou vznikat modifikace (Felsenfeld 2014; Deichmann 2016).

Kromě výzkumu histonových modifikací probíhal v 70. letech minulého století také výzkum metylace DNA a jejího možného vlivu na genovou aktivitu. V roce 1975 přednesli Robin Holliday a Arthur Riggs hypotézu, že by DNA metylace mohla hrát roli v regulaci genové exprese. Tato hypotéza byla potvrzena výzkumem na konci 70. let. Howard Cedar a Aharon Razin zkoumali DNA metylaci v souvislosti s regulací genů v eukaryotech a dokázali, že metylace DNA opravdu může ovlivnit genovou expresi. Dále zjistili, že existuje vzorec metylace a ten je (u buněk) předáván z generace na generaci (Deichmann 2016).

Přímý důkaz vlivu acetylace histonů na genovou expresi objevil David Allis v roce 1996 (Brownell et al. 1996; Downey 2006; Felsenfeld 2014). Allis spolu se svým absolventem Jimem Brownellem izolovali protein z kultur vejčovek (*Tetrahymena* Furgason, 1940). Zjistili, že tento protein, který je známý jako Gen5 u kvasinek (*Saccharomyces*), je histonová acetyltransferáza (HAT), která je schopna přidat acetylovou skupinu k lyzinu v histonech (Brownell et al. 1996; Downey 2006). Měsíc po objevení HAT Allis charakterizoval enzym, který odstraňoval acetylovou skupinu z histonů. Tento enzym histon deacetylázy, který již dříve popsal Stuart Schreiber s kolegy, byl spojován s transkripčním korepresorem v kvasinách (*Saccharomyces*) (Downey 2006). Deichmann (2016) uvádí, že není jasné, zda histonové modifikace předchází nebo doprovází transkripci, ale v každém případě hrají zásadní roli v transkripčních mechanismech a mohou mít vliv na fenotyp.

Po těchto objevech se výzkumu modifikací chromatinu věnovala velká pozornost (Downey 2006; Felsenfeld 2014; Deichmann 2016). Důkazem je i průzkum Ute Deichmann, která porovnála počet citací článků s pojmem „epigenetika“ v titulku na Web of Science mezi lety 1990 a 2013. Díky tomuto srovnání zjistila, že vysoký nárůst počtu citací začal v roce 2000 a přisuzuje ho právě předchozím výzkumům metylace DNA a histonových modifikací, které byly provedeny pod označením „epigenetika“ (Deichmann 2016). Význam epigenetických modifikací dokládá i výrok molekulárního biologa Davida Allise: „*Lidé již více nemluví jen o genomu, mluví o epigenomu, o něčem za DNA*“ (Downey, 2006). Dle literárních zdrojů pojem epigenom označuje genom včetně epigenetických modifikací (Bernstein et al. 2007). V dalších kapitolách se budeme blíže věnovat jednotlivým typům epigenetických modifikací, jejich dědičnosti a spouštěčům těchto změn.

### 3.3.1 Methylace DNA

Methylace DNA je biochemická, kovalentní modifikace, při které se na bázi DNA naváže metylová skupina. U savců se vyskytuje především metylace cytosinu, v menší míře pak metylace adeninu a guaninu (Barros & Offenbacher 2009; Dupont et al. 2009).

Při metylaci cytosinu se metylová skupina váže nejčastěji na pátou pozici uhlíku a vzniká tak 5-metylcytosin. Donorem metylové skupiny je S-adenosyl-1-methionin a reakci katalyzují enzymy zvané DNA metyltransferázy (Barros & Offenbacher 2009; Auclair & Weber 2012). DNA metyltransferázy u savců zahrnují tři aktivní formy. Methylaci *de novo*, na nemetylované

DNA, zajišťují metyltransferázy DNMT3A a DNMT3B. O zachování již vzniklé metylace se stará DNMT1 (Auclair & Weber 2012).

DNMT3A a DNMT3B fungují především během vývoje zárodečných buněk a během brzkého embryonálního vývoje (Dindot & Cohen 2013) a jak bylo dokázáno výzkumem, v embryonálním vývoji mají tyto enzymy rozdílné funkce. Ztráta funkce každého z nich způsobovala u myši smrt v raném embryonálním vývoji, avšak z různých důvodů a v jiných vývojových stádiích (Chen & Riggs 2011). DNMT3B převládá v brzkých embryonálních stádiích a je to hlavní enzym zodpovědný za vznik metylace DNA během implantace, zatímco DNMT3A se projevuje v pozdějších embryonálních stádiích a v diferencovaných buňkách. DNMT3A je především zodpovědná za vznik DNA metylovaných úseků ve zrajících gametách a také souvisí s epigenetickou kontrolou postnatálních somatických kmenových buněk (Auclair & Weber 2012). Přestože postrádá vlastní katalytickou funkci, hraje v *de novo* vytvoření metylace důležitou roli také protein DNMT3L, který stimuluje aktivitu DNMT3A a DNMT3B (Chen & Riggs 2011; Auclair & Weber 2012).

Metyltransferáza DNMT1 zajišťuje mitotickou dědičnost metylací DNA (Dupont et al. 2009). DNMT1 je zodpovědná za zkopírování již existujících metylovaných úseků na nově syntetizované vlákno (Chen & Riggs 2011). K tomuto přenosu dochází, po replikaci DNA, metylací úseků na dceřiném vlákně podle templátu (Dindot & Cohen 2013). Při replikaci se vytvoří úseky hemimetylované DNA, které jsou preferovanými substráty pro DNMT1, která kopíruje úseky metylace na nově syntetizované DNA vlákno (Auclair & Weber 2012).

K zachování metylací DNA přispívají i DNMT3A a DNMT3B, zřejmě metylováním úseků dříve opomenutých DNMT1 (Chen & Riggs 2011; Auclair & Weber 2012). Stejně jako u DNMT3A a DNMT3B i nefunkčnost DNMT1 může vést k embryonální letalitě (Dindot & Cohen 2013).

Metylace cytosinu je nejčastěji lokalizována v CpG dinukleotidech (Bird 2002). Jde o úseky vlákna DNA, kde jsou na sebe lineárně za sebou navázány nukleotidy cytosinu a následně guaninu. Ve směru vlákna 5'-3' se tedy nachází (C) cytosin – (p) fosfát – (G) guanin. Metylace cytosinu se však může vyskytovat i v jiných dinukleotidech, například u CpA v raném embryonálním vývoji savců (*Mammalia*) (Dupont et al. 2009; Dindot & Cohen 2013).

CpG dinukleotidy jsou v genomu zastoupeny jen málo (Barros & Offenbacher 2009), výjimku tvoří krátké sekvence DNA zvané CpG ostrůvky (Auclair & Weber 2012). CpG ostrůvky jsou nemetylované úseky s vysokou hustotou výskytu CpG dinukleotidů (Bird 2002), které se často vyskytují v úsecích promotorů a řídicích regionů genů (Dindot & Cohen 2013). Bird (2002) uvádí, že až 60 % lidských genů je ovlivněno CpG ostrůvky, z nichž valná většina zůstává bez metylací během všech fází vývoje a ve všech typech tkání.

Výzkumy poukazují na spojitost mezi metylací cytosinu a hustotou CpG dinukleotidů. Úseky DNA, které jsou chudé na CpG, což zahrnuje většinu genomu, vykazují vysoký stupeň metylace cytosinu, naproti tomu CpG ostrůvky jsou většinou nemetylované (Auclair & Weber 2012). Na rozdíl od CpG dinukleotidů, které jsou metylovány ze 70 – 80 %, CpG ostrůvky jsou metylovány jen zřídka (Chen & Riggs 2011). Pokud dojde k jejich metylaci během vývoje, přidružený promotor zůstane stabilně umlčený. Metylace CpG ostrůvků během vývoje souvisí s genomickým imprintingem a inaktivací X chromozomu, dochází k ní však i u dospělých jedinců vlivem stárnutí nebo třeba rakoviny. Ať již dojde k metylaci CpG ostrůvků nebo ne, jsou v tomto stavu velmi stabilní, mimo jiné i díky DNMT1 (Bird 2002).

Z dostupných zdrojů vyplývá, že hustota zastoupení CpG dinukleotidů v genomu souvisí nejen s metylací, ale také s demethylací, která postihuje především úseky s jejich mírným zastoupením. Tato skutečnost naznačuje, že pouze metylace úseků, které jsou chudé na dinukleotidy CpG, je schopná rapidního snížení v somatických buňkách, zatímco metylace CpG ostrůvků je pravděpodobně reverzibilní pouze v zygotách nebo v primordiálních zárodečných buňkách (Auclair & Weber 2012).

K demethylaci dochází dvěma způsoby – pasivním a aktivním. Demethylace DNA může být dosaženo pasivně, jednoduše nemetylováním nově vznikajícího DNA vlákna po replikaci, nebo aktivně, díky replikačně nezávislým procesům. Pasivní demethylace se pravděpodobně vyskytuje během savčího vývoje. Aktivní demethylace zřejmě probíhá v rámci celého genomu u zygot a primordiálních buněk a lokusově specifická aktivní demethylace probíhá u somatických buněk, ale také u neuronů a T lymfocytů. Mechanismy aktivní demethylace však zůstávají nejasné (Chen & Riggs 2011). DNA demethylace má vliv také na transgenerační přenos epimutací, který může být kompletní demethylací v primordiálních buňkách velmi omezený (Auclair & Weber 2012).

DNA metylace má v organismu savců zásadní význam. Jak již bylo zmíněno dříve, souvisí s inaktivací X chromozomu a genomickým imprintingem. K inaktivaci náhodného X chromozomu neboli lyonizaci dochází u samic v raném embryonálním vývoji a metylace DNA zde hraje zásadní roli jak v udržení jeho inaktivovaného stadia (Dupont et. al. 2009), tak v ochraně aktivního X chromozomu před umlčením. Stejně tak je neporušený systém metylace DNA zásadní pro genomický imprinting, jelikož ztráta DNMT1 vede k narušení monoalelické exprese mnoha imprintovaných genů. Jak inaktivace X chromozomu, tak genomický imprinting znamenají umlčení pouze jedné alely, zatímco druhá zůstává aktivní. Neobvyklá sada genů, které jsou aktivní v zárodečné linii, z nichž většina je vázaná na X chromozom, využívá metylaci k úplnému umlčení v somatických buňkách (Bird 2002). Methylace DNA má u savců (*Mammalia*) vliv na vývoj kmenových buněk (Kim et al. 2008) a díky ovlivnění exprese miRNA dále také na diferenciaci buněk, jejich růst a zánik (Barros & Offenbacher 2009).

Kromě již zmíněných významů je třeba poukázat také na souvislost změny genové exprese vlivem DNA metylace s vývojem onemocnění. Aberantní genová exprese je klíčový znak spojovaný s komplexními nemocemi, jako jsou rakovina, diabetes typu II, schizofrenie a autoimunitní onemocnění. Tato onemocnění jsou dědičná, ačkoli se přesně neřídí Mendelovými zákony dědičnosti. Existuje několik důkazů, které naznačují, že epigenetické abnormality spolu s genetickými změnami jsou zodpovědné za deregulaci klíčových regulačních genů, což má za následek tato onemocnění. Epigenetické mechanismy poskytují alternativní vysvětlení některých rysů komplexních onemocnění, včetně pozdního nástupu, vlivu pohlaví, efektu zdědění vlastnosti od otce či matky a kolísání příznaků (Kim et. al. 2008).

Methylace i demethylace jsou ovlivňovány vnějšími faktory, jako jsou prostředí, výživa, toxiny a infekce. Individuální podmínky prostředí tak mohou způsobit rozdíly v metylaci DNA a histonových modifikacích i u jednovaječných dvojčat a vysvětlit odlišnosti ve fenotypu a ve frekvenci nebo počátku nemocí. DNA metylace je tedy mechanismem, kterým může prostředí stabilně změnit genovou expresi (Barros & Offenbacher 2009).

### 3.3.2 Modifikace histonů

Kromě metylace DNA zahrnují epigenetické změny také posttranslační modifikace histonů. Jak již bylo popsáno dříve, histony jsou proteiny tvořící oktamer složený z histonů H2A, H2B, H3 a H4, kolem kterého je obtočena DNA. Dohromady tak tvoří nukleozomy, které jsou spojeny histonem H1 (Dupont et al. 2009). Nukleozomy jsou základní jednotkou chromatinu (Kouzarides 2007), ve kterém je zabalena DNA v jádru eukaryotické buňky. Chromatin se vyskytuje ve dvou formách – transkripčně aktivní euchromatin, obsahující většinu genů, a neaktivní heterochromatin (Kim et al. 2008).

Nejčastěji se posttranslační modifikace histonů vyskytují na aminoterminálních koncích histonů (Vyskot 2010), kde postihují lyzinová, argininová a serinová rezidua. V dnešní době jsou nejlépe prozkoumány acetylace a metylace lyzinu (Dupont et al. 2009), které jsou zásadní pro aktivaci, anebo represí transkripce (Kim et al. 2008). Nejde však o jediné histonové modifikace. Existuje minimálně osm různých modifikací, a kromě již zmíněných jsou to například metylace argininu, fosforylace, ubiquitinace, sumoylace a další. Dále je důležité poukázat na velkou variabilitu možných modifikací histonů a jejich potenciální funkční dopad. Modifikace vznikají v různých formách, na různých místech histonů a na různých reziduích a to vše způsobuje velké množství různých variant, jejichž vznik závisí na stavu buňky (Kouzarides 2007).

Histony byly dříve považovány za statické, nezúčastněné strukturální elementy. Dnes je však jasné, že jde o nedílné a dynamické komponenty proceců, které regulují genovou transkripci, a spolu s jejich modifikacemi formují tzv. histonový kód (Strahl & Allis 2000).

Hypotéza histonového kódu je diskutovaná napříč dostupnými vědeckými publikacemi (Strahl & Allis 2000; Kouzarides 2007; Guil & Esteller 2009; Dindot & Cohen 2013) a předpokládá, že různé posttranslační modifikace histonů specifikují unikátní transkripční a buněčné děje (Strahl & Allis 2000; Dindot & Cohen 2013). Histonové modifikace se mohou navzájem ovlivňovat a také interagovat s DNA metylací. Kombinace nespočtu modifikací v čase a prostoru (známá jako histonový kód) nakonec naprogramuje profil genové exprese pro každou buněčnou identitu (Guil & Esteller 2009). Existují minimálně tři potenciální mechanismy, pomocí kterých by histonový kód mohl regulovat transkripci. Za prvé HPTM (histonové posttranslační modifikace) mohou změnit strukturu chromatinu, což způsobí buď uvolnění nebo kondenzování chromatinu. Za druhé HPTM mohou inhibovat navázání faktorů vlivem chromatinové struktury a za třetí HPTM mohou nabírat nebo přitahovat určité faktory spojené s DNA na chromatinovou strukturu (Dindot & Cohen 2013).

Neporušené funkční mechanismy histonových modifikací jsou, stejně jako u DNA metylace, zásadní pro správné fungování různých procesů v organismu. Funkce histonových modifikací mohou být rozděleny do dvou kategorií: vytvoření globálního chromatinového prostředí a organizace biologických procesů založených na DNA. Při vytvoření globálního chromatinového prostředí histonové modifikace pomáhají k rozdělení genomu na euchromatin a heterochromatin. V biologických procesech založených na DNA, jako je transkripce genu nebo replikace DNA, organizují modifikace rozvolnění chromatinu, kvůli správnému provedení dané funkce (Kouzarides 2007). Mezi biologické procesy, kterých se účastní histonové modifikace, patří také jejich odpověď na poškození DNA. Histonové modifikace napomáhají při označení polohy poškození a při poskytnutí platformy pro uskutečnění opravy (Kim et al. 2008). Histonové modifikace tak hrají roli v umožnění různých funkcí DNA (Kouzarides 2007).

### 3.3.2.1 Acetylace histonů

Acetylace histonů byla objevena již v roce 1964 a je tak jednou z nejdříve objevených posttranslačních modifikací histonů (Allfrey et al. 1964; Taverna et al. 2006; Verdin & Ott 2015). Ještě dříve, v roce 1959, byla objevena fosforylace (Fischer et al. 1959; Verdin & Ott 2015), která byla nejvíce zkoumanou modifikací. Acetylace se dostala do popředí zájmu až na základě objevů v posledních desetiletích (Verdin & Ott 2015). O spojitosti mezi acetylací a transkripcí se vědělo již od roku 1978, avšak přímý důkaz přinesli až David Allis a Stuart Schreiber popsáním acetyltransferázy a deacetylázy v roce 1996 (Taverna et al. 2007).

Acetylace se vyskytuje na lyzinových reziduích aminoterminálních konců histonů, je reverzibilní a dynamická (Rice & Allis 2001). Acetylace histonů se pojí s různými buněčnými procesy, jako je transkripce, kondenzace chromatinu (Garcia et al. 2007), oprava poškození DNA (Morris et al. 2007) nebo replikace (Strahl & Allis 2000). Donorem acetylové skupiny, která se váže na  $\epsilon$ -aminoskupinu lyzinu (Sternner & Berger 2000), je acetylkoenzym A. Za jeho objev, spolu s objevením koenzymu A, byli oceněni Nobelovou cenou Konrad Bloch (1912 – 2000), Feodor Lynen (1911 – 1979) a Fritz Lipmann (1899 – 1986) (Verdin & Ott 2015). Acetylace lyzinu se může vyskytovat na všech histonech (Dindot & Cohen 2013), avšak nejčastější na histonu H3 (Morris et al. 2007).

Výskyt acetylace je spojen s aktivací transkripce (Dupont et al. 2009), naopak deacetylace způsobuje její represi (Guil & Esteller 2009). Jedná se tedy o dva regulační procesy, které slouží k nastolení odpovídající úrovně transkripce. Zpřístupnění chromatinu pro transkripci je způsobeno změnou kladného náboje na aminoterminálním konci histonů, vlivem navázání záporně nabitě acetylové skupiny (Sternner & Berger 2000). Záporně nabitá acetylová skupina vytvoří uvolněnou chromatinovou strukturu, která chromatin zpřístupní transkripčním dějům buňky (Dindot & Cohen 2013). Odstranění acetylové skupiny z lyzinů ovlivní také vytvoření nebo zánik dalších modifikací lyzinu, například metylace, ubiquitace a sumoylace (Seto & Yoshida 2014).

Rovnovážný stav acetylace a deacetylace zajišťují enzymy histon acetyltransferáz (HAT) a deacetyláz (HDAC) (Strahl & Allis 2000). Díky enzymům HDAC je acetylace lyzinu reverzibilní proces (Barneda-Zahonero & Parra 2012). Enzymy histon acetyltransferázy se dále dělí na typy A a B. Typ A se vyskytuje v jádru buňky, kde acetyluje histony nukleosomálního chromatinu, které jsou spojeny s transkripcí. Typ B se vyskytuje v cytoplazmě, kde acetyluje nově syntetizované histony, které se transportují do jádra, kde mohou být deacetylovány a začleněny do chromatinu (Sternner & Berger 2000).

Nesprávná funkce enzymů HAT a HDAC, která způsobí změny modifikací, může u člověka indikovat různá onemocnění. Například deacetylace lyzinu 16 a trimetylace lyzinu 20 na histonu H4 jsou společným epigenetickým znakem rakovinových buněk (Fraga et al. 2005).

### 3.3.2.2 Metylace histonů

Stejně jako acetylace histonů i metylace byla popsána v roce 1964 (Murray 1964; Rice & Allis 2001). O metylaci histonů se ještě na přelomu století psalo jako o nejméně chápané histonové modifikaci, mimo jiné kvůli neznalosti enzymů zodpovědných za tyto změny a kvůli nemožnosti detekce jejího výskytu (Strahl et al. 1999; Strahl & Allis 2000).



Metylace postihuje především lyzinová a argininová rezidua histonů H3 a H4 a vyskytuje se v různých substitucích (mono-, di- a tri-metylace). Na lyzinových reziduích se může vyskytovat metylace i acetylace, avšak ne současně (Morris et al. 2007). Vlivem metylace může dojít jak k represi, tak k aktivaci transkripce. Vždy záleží na modifikovaném histonu a daném reziduu (Dunham et al. 2012). Mimo jiné souvisí metylace histonů také s tvorbou heterochromatinu, inaktivací X chromozomu a průběhem transkripce (Morris et al. 2007).

Histony jsou metylovány histon metyltransferázami (HMT), které používají S-adenosylmethionin (SAM) jako kofaktor velmi podobným způsobem, jako HAT využívají kofaktor acetylkoenzym A (Rice & Allis 2001). Oproti acetylaci histonů je metylace stabilnější modifikací (Garcia et al. 2007), zda je možná její reverzibilita však zůstává otázkou (Allis & Jenuwein 2016). Marmorstein a Trievel (2009) uvádí, že v roce 2004 byla objevena první demetyláza, tzv. lysine specific demethylase 1 (LSD1) a krátce na to také další, tzv. Jumanji C (JmjC). Tyto objevy naznačují, že i metylace histonů je, stejně jako acetylace, dynamický a reverzibilní proces (Klose et al. 2006).

Na rozdíl od acetylace histonů, metylace nemění na aminoterminálních koncích náboj, ale bazicitu, hydrofobii a zvyšuje afinitu vůči aniontovým molekulám (tj. DNA). Tato skutečnost naznačuje blízkou souvislost mezi metylovanými aminoterminálními konci a DNA anebo chromatinem. Navíc, podobně jako acetylace, metylace histonů může ovlivnit interakce aminoterminálních konců s proteiny souvisejícími s DNA anebo chromatinem, a také nukleosomální strukturu a funkci (Rice & Allis 2001).

Metylace histonů úzce souvisí s dalšími ději v organismu, například s embryonálním vývojem, kdy metylace DNA a histonové modifikace zajišťují kontrolu embryonální genomové aktivity, která je zásadní pro další vývoj. Jde o proces, kdy je kontrola transkripce a vývoje zygotického genomu předána z poskytnutých mateřských genových produktů na ty syntetizované zygotickým genomem (Abe et al. 2018; Deng et al. 2020).

Histonové modifikace a metylace DNA se navzájem ovlivňují. Příkladem může být interakce mezi DNMT3L a metylací lyzinu 4 histonu H3. DNMT3L je nezbytná pro *de novo* metylaci řídicích úseků imprintingu v samičích zárodečných buňkách a pro *de novo* metylaci rozptýlených repetitivních sekvencí v samčích zárodečných buňkách. Výzkum poukazuje na mechanismus, pomocí kterého by DNMT3L mohla převést vzorce metylace zmíněného lyzinu na vzorce metylace DNA, které by zprostředkovaly dědičné transkripční umlčení postižené oblasti (Ooi et al. 2007).

### 3.4 Dědičnost

V literárních zdrojích je pojem dědičnost spojován s přenosem vlastností nebo informací z jedné generace organismů či buněk na další generaci (McCarrey 2018). Dědičnost je klíčovým pojmem již v samotné definici genetiky, jako vědy o dědičnosti a proměnlivosti (Gayon 2016). Počátky výzkumu dědičnosti, které se úzce pojí se vznikem genetiky jakožto samostatné vědní disciplíny, můžeme datovat do druhé poloviny 19. století. V roce 1866 v Brně vydal Johann Gregor Mendel (1822 – 1884) publikaci *Pokusy s rostlinnými hybridy (Versuche über Pflanzen-Hybriden)*, která vstoupila do povědomí nejen jako zdroj informací o jeho práci, ale také položila základy genetiky (Gayon 2016; Zhang et al. 2017). Za svého života se

Mendel zájmu o svou práci nedočkal, jeho publikace vzbudila pozornost až 16 let po jeho smrti (Snustad & Simmons 2017).

Na začátku 20. století, po znovuobjevení Mendelovy práce, začala genetika vzkvétat. V té době se genetika a vývojová biologie vyvíjely jako dvě samostatné disciplíny, až v 50. letech použil Konrad Waddington poprvé termín epigenetika k propojení těchto dvou oblastí výzkumu. Jak je v této práci napsáno již dříve, druhá polovina 20. století byla obdobím objevů v oblasti epigenetiky včetně zjištění, že epigenetické modifikace mohou být dědičné (konkrétně 5-metylcytosin), a to i v zárodečné linii (Holliday 2006).

Dnes tedy můžeme hovořit o dvou různých mechanismech dědičnosti, o genetické a epigenetické dědičnosti, které se liší v chemické podstatě dědičné informace a ve způsobu jejího přenosu. Genetická dědičnost označuje proces přenosu sekvence genů pomocí replikace DNA, zatímco epigenetická dědičnost se týká sekundárních změn DNA a/nebo chromatinu, které se přenášejí pomocí jejich propagace (například zachování metylace DNA díky DNMT1) (McCarrey 2018). Maynard Smith zavedl pojem „duální dědičnost“, kterým poukazuje právě na tyto dva různé mechanismy dědičnosti (Smith 1990; Holliday 2006).

### **3.4.1 Epigenetická dědičnost**

Dědičnost je klíčovou vlastností epigenetických modifikací. Modifikace, která není dědičná, nemůže být označena za epigenetickou (Yuan & Zhu 2012). Na rozdíl od genetické informace, která je velmi stabilní, informace epigenetická si zachovává jistou míru plasticity a její dědičnost je reverzibilní. V závislosti na podstatě epigenetické modifikace se uplatňují různé způsoby k jejímu zachování (Probst et al. 2009). Oba typy modifikací zmíněné v této práci, tedy DNA metylace a modifikace histonů, mohou být přenášeny jak mitózou, tak meiózou (Tuscher & Day 2019).

#### **3.4.1.1 Mitotická dědičnost**

Během mitózy jsou přenášeny epigenetické informace z mateřských buněk na dceřiné k zajištění identity buněčné linie a správné genové exprese (Yuan & Zhu 2012). Mechanismy dědičnosti epigenetických modifikací během mitózy zatím nejsou zcela jasné. Nejlépe chápaná je dědičnost DNA metylace na CpG dinukleotidech, která je udržována enzymy DNA metyltransferáz DNMT1 spolu s DNMT3A a DNMT3B (Jones & Liang 2009; Yuan & Zhu 2012; Auclair & Weber 2012). DNA metylace se vyskytuje nepravidelně na obou vláknech DNA, na kterých se po replikaci dočasně vytvoří hemimetylované úseky. Na těchto místech působí DNMT1 spolu s dalšími proteiny, například s UHRF1, který navádí DNMT1 na hemimetylované CpG úseky v replikační vidličce. Spolupráce mezi DNMT1 a UHRF1 je zásadní pro dědičnost úseků DNA metylace, avšak v buňce souvisí i s dalšími procesy, například s diferenciací, buněčným stárnutím, neurogenezí a obnovou kmenových buněk (Bronner et al. 2019).

Zatímco mechanismus dědičnosti DNA metylace během mitózy je již poměrně dobře popsán, u histonových modifikací zůstává nejasný (Martin & Zhang 2007; Skinner 2011). Během replikace DNA jsou histony přenášeny z parentálního vlákna na dceřiné a kvůli zachování hustoty histonů jsou k nim následně zařazeny nově syntetizované histony. Parentální tetramery (H3–H4)<sub>2</sub> jsou náhodně segregovány na nově vznikající dceřiná vlákna a spolu se starými

nebo novými dimery H2A–H2B vytvoří nukleozomy. Způsob přenosu parentálních histonů není objasněn, stejně tak zda jsou histony H3 a H4 přenášeny výhradně ve formě tetramerů nebo i dimerů (Alabert & Groth 2012). Chromatin je tedy složený z parentálních histonů, které jsou na nově syntetizované vlákno přenášeny i s modifikacemi, a z histonů nových, které jsou většinou zařazeny bez modifikací.

Na základě sledování histonových modifikací během DNA replikace a v průběhu buněčného cyklu byly popsány dva možné mechanismy jejich propagace. První variantou je modifikace nových histonů tak, aby byly identické s parentálními histony. Tento mechanismus se vyskytuje u většiny histonových modifikací, ale neplatí pro všechny. Některé modifikované histony, například H3K9me3 a H3K27me3, jsou propagovány kontinuálním modifikováním starých i nových histonů, a to po několik buněčných cyklů (Alabert et al. 2015).

Ne všechny typy histonových modifikací jsou dědičné – zůstává otázkou, které typy jsou plně zachovány na nově vytvořených histonech a jakým způsobem. V řešení této problematiky výrazně napomáhá vývoj nových technologií, které jsou schopny monitorovat vznik modifikací na nově zařazených histonech (Zhu & Reinberg 2011).

Příkladem může být technologie, kterou vytvořili Reverón-Gómez et al. (2018), s názvem ChOR-seq (**Chromatin Occupancy after DNA Replication by next-generation sequencing**), která je schopná detekovat histonové modifikace na nově replikované DNA a během buněčného cyklu. Objasnění toho, kdy a kde jsou modifikované histony po replikaci ukládány do daného lokusu, je zásadní k pochopení způsobu, jakým jsou během DNA replikace tyto histony duplikovány. Díky sledování několika modifikovaných histonů (H3K4me3, H3K36me3, H3K79me3, H3K27me3) bylo prokázáno, že informace o pozici histonových modifikací jsou během DNA replikace plně děděny na dceřiné vlákno. Podstatným zjištěním bylo, že lokalizace parentálních modifikovaných histonů je na dceřiném vlákně zachována, zatímco nastolení prereplikační úrovně PTMH je, díky vzniku modifikací na nových histonech, řízeno modifikačně a lokusově specifickou kinetikou.

### **3.4.1.2 Transgenerační dědičnost**

Meiotickou epigenetickou dědičnost lze definovat jako epigenetickou dědičnost prostřednictvím meiotických produktů (gamet), během nejméně dvou generací (tj. z F0 na F1 a dále). Dělí se na mezigenerační epigenetickou dědičnost a transgenerační epigenetickou dědičnost. Mezigenerační epigenetická dědičnost se týká dědičnosti epigenetického znaku napříč dvěma generacemi (F0 a F1). Transgenerační epigenetická dědičnost pokrývá více než dvě generace (F0 až F2 a dále) (Skvortsova et al. 2018). Zděděné informace nekódované v sekvenci DNA mohou regulovat celou řadu komplexních fenotypů, jako například fyzický vzhled, energetický metabolismus nebo dlouhověkost. Podílí se také na dědičných reakcích na změny prostředí (Lieberman et al. 2019).

Působení environmentálních faktorů v jedné generaci může ovlivnit fenotyp budoucích generací (Sharma 2017). Tyto mechanismy se mohly vyvinout, aby umožnily organismům přizpůsobit se extrémním podmínkám prostředí. Odborná literatura sjednocuje tyto procesy pod pojem adaptabilita neboli schopnost organismů přizpůsobit se jiným či extrémním podmínkám prostředí a přenášet tyto schopnosti na své potomstvo. Schopnost přizpůsobit se daným podmínkám se však přenáší na další generace beze změny (mutace) genomu. Podněty

vyvolávající transgenerační epigenetickou dědičnost mohou být environmentální nebo behaviorální. Mezi environmentální stimuly patří například změny teploty, intenzita slunečního záření, dostupnost kyslíku a výživa. Mezi stimuly behaviorální patří například stres, rodičovská péče a fyzická zátěž (Lieberman et al. 2019).

Přesný mechanismus transgenerační epigenetické dědičnosti dosud není zcela jasný. Dle dostupné literatury se předpokládá, že se komplexní, vícesložkové mechanismy, podílejí na vzniku paměťové smyčky genové exprese a epigenetické regulace, které se zachovávají napříč generacemi. Mezi tyto mechanismy patří změny v krátké nekódující RNA zárodečných buněk způsobené vlivem prostředí, metylace cytosinu a histonové modifikace. Do mechanismu epigenetické transgenerační dědičnosti je zřejmě zapojen i přenos informací mezi somatickými a zárodečnými buňkami. Možným přenašečem informací v tomto směru je extracelulární RNA, především ta, která se pojí s extracelulárními vezikuly. Tato komunikace pravděpodobně hraje roli v přenosu informací na základě environmentálních vlivů napříč generacemi (Sharma 2017).

V kontextu transgenerační epigenetické dědičnosti je lépe prostudovaná metylace DNA, na rozdíl od modifikací histonů. Aby mohla být metylace DNA dědičná, musí se vyhnout tzv. epigenetickému reprogramování (Blake & Watson 2016). Epigenetické reprogramování nastává při gametogenezi a v embryu před implantací (Monk 2015). Při epigenetickém reprogramování dochází k dynamickým změnám epigenetických modifikací (Blake & Watson 2016). Tento proces zajišťuje odstranění metylace v celém genomu v primordiálních zárodečných buňkách (Monk 2015). Aby mohly epigenetické modifikace způsobené environmentálními stresory ovlivnit fenotyp dalších generací, musely by být vůči těmto dějům rezistentní. Jak jsou epigenetické modifikace způsobené vlivy prostředí přenášeny z generace na generaci není doposud objasněno. Zda mohou fenotyp potomstva ovlivňovat i modifikace histonů zárodečných buněk je zatím předmětem výzkumu. Na základě nedávných důkazů by histonové modifikace a jejich regulační enzymy mohly souviset s epigenetickou pamětí napříč generacemi (Blake & Watson 2016).

### 3.5 Genomický imprinting

Genomický imprinting je jedním z jevů nemendelistické dědičnosti, mezi které patří také například inaktivace X chromozomu. Genomický imprinting se vyskytuje u placentálních savců (*Placentalia* Owen, 1837), u kterých byl popsán v 80. letech 20. století na základě výzkumu vývoje myších embryí (*Mus Linnaeus*, 1758) a genetických poruch člověka, dále také u rostlin a některých druhů hmyzu (Thamban et al. 2020).

Genomický imprinting je epigenetický mechanismus, který můžeme definovat jako parentálně specifickou genovou expresi v diploidních buňkách. To znamená, že diploidní buňky, které obsahují dvě parentální kopie všech genů, budou exprimovat pouze jednu parentální kopii imprintovaného genu, zatímco druhá bude umlčena. Parentální alely imprintovaných genů jsou od sebe odlišeny epigenetickými značkami v gametách, v tzv. oblastech řídicích imprinting, pomocí DNA metylace (Barlow & Bartolomei 2014).

Základní charakteristikou genomického imprintingu je jeho cis působení, což znamená, že se různé epigenetické modifikace vyskytují na obou alelách imprintovaného genu, jednu alelu učiní aktivní a druhou umlčí (Barlow & Bartolomei 2014; Thamban et al. 2020). Dle Vyskota (2010) můžeme tento mechanismus nazvat cis-efekt.

Pro regulaci genomického imprintingu jsou zásadní epigenetické modifikace. Skoro každý imprintovaný gen obsahuje jeden nebo více úseků, které vykazují alelově specifické vzorce DNA metylace (tzv. DMR, differentially methylated regions) (Kaneda 2011). DNA metylace může sloužit nejen k označení imprintovaných genů, ale také k umlčení jedné z parentálních alel (Barlow & Bartolomei 2014). Pro některé imprintované geny jsou rovněž zásadní histonové modifikace, které mohou regulovat expresi imprintovaných genů. S expresí imprintovaných genů souvisí také enzymy, které jsou schopny modifikovat chromatin, a krátké i dlouhé nekódující RNA. DNA metylace i histonové modifikace jsou zapojeny jak v procesu vzniku, tak i zachování genomického imprintingu (Kaneda 2011).

U savců (*Mammalia*) je genomický imprinting důležitý pro prenatální vývoj a správnou funkci placenty (Skvortsova et al. 2018; Thamban et al. 2020), dále pro regulaci metabolismu a fyziologických funkcí (Kaneda 2011). V neposlední řadě je genomický imprinting významný pro vývoj mozku a chování. Pomocí změny v epigenetické regulaci imprintovaných genů by tak mohly být přenášeny účinky prostředí na chování, zejména v prenatálním a raném postnatálním vývoji (Davies et al. 2015).

Dle dostupné literatury může genomický imprinting plnit důležitou roli v regulaci sociálního chování k usnadnění života ve skupině. Sociální skupiny tvoří mnoho živočišných druhů, ze savců (*Mammalia*) především placentálové (*Placentalia*). Život ve skupině se zřejmě vyvinul ke zvýšení fitness jednotlivých členů skupiny, umožňuje snazší získávání zdrojů, ochranu teritoria a podílení se na péči o mladé. Je však spojen se složitými sociálními vztahy jedinců mezi sebou. Pro funkční skupinu je zásadní její stabilita, která je často dána jasnou hierarchií mezi jednotlivci.

Příkladem vlivu genomického imprintingu na chování v sociální skupině je gen *Cdkn1c* u myši (*Mus*), jehož nesprávná exprese vyvolávala abnormální sociální chování jedinců, což v důsledku způsobovalo nestabilitu sociální hierarchie skupiny (McNamara et al. 2018). Genomický imprinting může dále ovlivňovat interakce mezi matkou a potomky, cirkadiální rytmy a kognitivní aspekty (Davies et al. 2015).

### 3.6 Epigenetika a její vliv na chov a využití koní

Epigenetika se zabývá dědičnými změnami v expresi genů, které nezahrnují změnu sekvence DNA, což znamená, že epigenetické modifikace mohou ovlivnit fenotyp koně (*Equus caballus*) beze změny jeho genotypu. Epigenetické modifikace jsou přirozenou součástí genomu, avšak jejich výskyt a četnost může být ovlivněn různými faktory, jako jsou věk, zátěž, léčiva, výživa, prostředí a onemocnění (Davies 2017).

Vlivy a mechanismy epigenetických modifikací u koní zatím nebyly příliš dobře prozkoumány. Ukazuje se však, že epigenetické modifikace jsou obecnou vlastností genetiky savců (*Mammalia*), a tak se dá předpokládat, že poznatky získané u lidí, myši a dalších druhů jsou vesměs platné i u koní. Doposud jsou známy tři obecné aspekty epigenetických modifikací: epigenetické programování tkání během vývoje, epigenetické změny způsobené vlivem prostředí a genomický imprinting. Především epigenetické odpovědi na podněty prostředí jsou fenoménem, který zcela jistě může být využitelný jak v chovu koní, tak jiných hospodářských zvířat (Bailey & Brooks 2020).

V neposlední řadě je třeba zmínit také vliv epigenetiky na chování. Přestože zatím byly provedeny výzkumy především v laboratorních podmínkách, například u myši (*Mus*) (McNamara et al. 2018), jejich výsledky byly natolik pozoruhodné, že se dá přemýšlet nad tím, jakým způsobem může být epigeneticky ovlivněno chování také u koní. V současné době probíhají výzkumy ve snaze epigenetice lépe porozumět, což by v budoucnu mohlo přispět k lepšímu pochopení jednotlivých koní (Beaver 2019).

### 3.6.1 Epigenetické modifikace v souvislosti s reprodukcí koní

Schopnost reprodukce je pro přežití divoce žijících populací nezbytná a v chovu koní je také významným ekonomickým faktorem (Raudsepp et al. 2019). V roce 2014 byl celosvětový počet koní přibližně 58 milionů, z nichž 9,4 % je chováno v Evropě. V současné době jsou koně využíváni především ke sportu, práci a trávení volného času a zejména jejich sportovní využití ovlivňuje také management jejich reprodukce. Chovatelé často využívají možnosti různých technologií asistované reprodukce, jako je mražení semene nebo embryonální transfer (Chavatte-Palmer et al. 2017).

Různé aspekty reprodukce souvisí také s epigenetickými modifikacemi, které mají následný vliv na potomstvo. Dle dostupné literatury dochází k epigenetickým modifikacím nejčastěji během gametogeneze, fertilizace a raného embryonálního vývoje (Franciosi et al. 2012; Chavatte-Palmer et al. 2016). Epigenetické modifikace mohou být ovlivněny jak prostředím *in vivo*, tak *in vitro*. Mezi faktory prostředí patří například výživa rodičů, ale také recipientky v případě embryotransferu, věk a procedury spojené s asistovanou reprodukcí (Chavatte-Palmer et al. 2016). Zmíněné faktory mají dopad mimo jiné na vývoj placenty, velikost hříbete a jeho následné zdraví v dospělosti, čímž ovlivňují také výkonnost a dlouhověkost. Tento způsob ovlivnění postnatálního zdraví savců (*Mammalia*) díky vývojovým podmínkám během početí, březosti a neonatálního období je označován jako „vývojový původ zdraví a nemoci“ (Developmental Origins of Health and Disease). Období embryonálního a brzkého postnatálního vývoje jsou považována za kritické periody, jelikož právě v této době jsou epigenetické mechanismy vyvíjejícího se organismu velmi citlivé vůči prostředí (Chavatte-Palmer et al. 2017). Odchyly od normálního, přirozeného prostředí v těchto obdobích tedy mohou mít dopad na epigenetické mechanismy (Franciosi et al. 2012).

#### 3.6.1.1 Vliv technologií asistované reprodukce na epigenetické modifikace

V chovu koní se v současné době používají různé technologie asistované reprodukce. Jejich využití závisí na pravidlech konkrétní plemenné knihy, například v chovu anglického plnokrevníka nejsou povoleny žádné. U jiných plemen je schválen například transfer oocytů a embryí, jejich kryokonzervace nebo intracytoplazmatická injekce spermií, pomocí které jsou produkována embrya *in vitro* (Chavatte-Palmer et al. 2016).

Využití různých biotechnologií v reprodukci je zajímavé pro majitele elitních zvířat, která tak mohou mít více potomků. Mimo to je jejich hlavním přínosem genetická selekce a genetický pokrok (zvýšení genetické hodnoty v populaci z generace na generaci). Genetického pokroku je dosaženo pomocí odhadu genetické hodnoty zvířat a následného výběru těch s nejlepším hodnocením. Následné generace tak vykazují lepší výsledky ve vybraných

vlastnostech, což umožňuje genetický pokrok v každé generaci. Bylo prokázáno, že genetika ovlivňuje výkonnost až ze 30 %. Nesmíme však opomenout vliv podmínek chovu a fyziologie zvířat (výživa, zdraví a velikost matky a další), které mohou ovlivnit kvalitu potomstva (Palmer & Chavatte-Palmer 2020).

Mimo zmíněné výhody s sebou však technologie asistované reprodukce přináší úskalí v podobě ovlivnění epigenetických procesů. Defekt epigenetického reprogramování v souvislosti s asistovanou reprodukcí může vyústit ve vrozené vady nebo i smrt embrya. Mezi procesy, které mohou mít dopad na epigenetické reprogramování, patří superovulace, růst a zrání oocytů *in vitro* a kultivační média gamet a embryí.

Příkladem může být studie porovnávající acetylaci histonu H4 na lyzinech 8, 12 a 16 v oocytech klisen. Oocyty dozrávající *in vitro* vykazovaly aberantní deacetylaci na lyzinu 16, na rozdíl od zvýšené acetylace v oocytech dozrávajících *in vivo*. Toto zjištění podporuje hypotézu, že podmínky dozrávání *in vitro* mohou nepříznivě ovlivnit schopnost oocytů regulovat epigenetické reprogramování, které je zásadní pro správný průběh meiózy a následný embryonální vývoj (Franciosi et al. 2012).

Díky globalizaci chovu koní se v dnešní době zvyšuje také využívání kryokonzervace semene. Při této metodě jsou spermie hřebce uchovávány v tekutém dusíku při teplotě  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nicméně vlivem zmrazení dochází k poškození semene, především v oblasti membrány, důsledkem fyzikálního stresu (tj. změna kapalně struktury na krystalickou, osmotický stres kvůli tvorbě extracelulárního ledu a oxidační stres) a také ke změnám v DNA metylaci. Výzkum prokázal neobvyklý nárůst metylace cytosinu u zmrazeného a následně rozpuštěného semene vlivem kryokonzervace. U klisen inseminovaných mraženou dávkou je schopnost oplodnění nižší, a právě aberantní metylace DNA spermií může být alespoň částečným vysvětlením. Dále se předpokládá, že kromě oplození ovlivňuje také vývoj preimplantačního embrya, a proto byla metylace DNA navržena jako další parametr k hodnocení kvality spermií (Aurich et al. 2016).

Technologie asistované reprodukce mohou ovlivnit vývoj a zdraví potomstva. U koní byl prokázán dopad například také na segregaci chromozomů a acetylaci histonů vlivem dozrávání oocytů *in vitro* a vliv věku donorky oocytu na jeho kvalitu. Přesné důsledky však nebyly zatím prozkoumány dostatečně důkladně. U embryonálního transferu je nejdůležitějším faktorem, který dlouhodobě ovlivňuje budoucí potomky, výběr recipientky, která by měla mít podobný vzrůst a metabolismus jako donorka (Chavatte-Palmer et al. 2016). Na druhou stranu se také ukázalo, že koně odchovaní pomocí embryonálního transferu měli vyšší výkonnostní index v rámci stejné genetické hodnoty. Tento výsledek ale může být přisuzován spíše lepšímu managementu takto odchovaných zvířat, který se pojí s vysokými náklady právě na embryonální transfer (Palmer & Chavatte-Palmer 2020).

### **3.6.1.2 Vliv výživy březí klisny na epigenetické modifikace hřeběte**

Výživa rodičů je jedním z faktorů, které mohou díky epigenetickým mechanismům ovlivnit zdraví potomků, nejen u lidí (Parlee & MacDougald 2014; Robles et al. 2017; Lemparld 2020), ale také u koní (Fowden et al. 2013; Chavatte-Palmer et al. 2017; Robles et al. 2017; Chavatte-Palmer & Robles 2019; Palmer & Chavatte-Palmer 2020). Epigenetické modifikace upravují expresi genů vyvíjejícího se embrya, a tím i jeho zdraví až do dospělosti (Stout 2016). Jde o jeden z aspektů, který souvisí s již dříve zmíněným vývojovým původem

zdraví a nemoci. Atributů zdraví potomstva, které ovlivňuje výživa matky, je hned několik. Může jít například o zdraví kloubů, které je významné pro budoucí sportovní využití, dále pak metabolismus, velikost a celkové zdraví v dospělosti. Správná výživa březí klisny tak může být jednoduchým a levným způsobem prevence kloubních a metabolických onemocnění nebo obezity (Chavatte-Palmer et al. 2017).

Obsah proteinů v potravě úzce souvisí s dostupností donorů metylové skupiny, jako je methionin, což má dopad na proces metylace DNA. Ta je také ovlivňována kofaktory, kterými jsou vitaminy B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> a B<sub>2</sub>, folát, cholin nebo betain. Jakákoliv dysbalance těchto látek tak může mít dopad na epigenetické mechanismy. Metylace DNA není jedinou ukázkou vlivu výživy, ke vzájemnému ovlivňování dochází i s miRNA, která se liší v závislosti na nutričním anebo patologickém stavu jedince a zároveň je zapojena i do kontroly výživy. I tímto způsobem tedy může být regulován fenotyp u domestikovaných druhů.

Právě epigenetické modifikace jsou chápány jako primární mechanismus tzv. programování plodu (vznik trvalých změn v plodu vlivem jeho adaptace na nepříznivé podmínky v děloze) (Chavatte-Palmer & Robles 2019). Komunikace mezi matkou a plodem a tedy i přenos živin a kyslíku je zajištěn pomocí placenty (Fowden et al. 2013), která se považuje za hlavního zprostředkovatele tohoto programování (Chavatte-Palmer & Robles 2019). Na schopnost placenty dodávat plodu potřebné živiny působí i výživa březí klisny, čímž se odráží i v jeho vývojovém programování (Fowden et al. 2013), které má vliv na růst kostí, metabolismus a rezistenci vůči insulinu, osteochondrózu a reprodukci (Chavatte-Palmer & Robles 2019). Počet genů, o kterých se ví, že jsou prokazatelně zasaženy epigenetickými modifikacemi způsobenými prenatální výživou, je v současné době malý. Jedná se však o geny, které jsou klíčové pro regulaci růstu, metabolismu a dostupnosti glukokortikoidů (Fowden et al. 2013).

Správný management chovných klisen tak může dlouhodobě zlepšit welfare, zdraví a sportovní výkonnost jejich potomků, a tím ovlivnit jejich ekonomickou hodnotu. Je důležité zajistit, aby si klisny udržely dobrou tělesnou kondici během březosti a laktace, která odpovídá optimální energetické rovnováze. Neadekvátní výživa sice, až na případy výrazné podvýživy, nemusí mít vliv na velikost hříbete při narození, ale může ovlivnit následný vývoj kostí a kloubů a metabolismus glukózy. Ve výživě chovných klisen je problémem jak její nedostatek, tak i překrmování, ke kterému v chovech běžně dochází. Za účelem zajištění zdraví hříbete při narození jsou klisny krmeny příliš energetickým krmivem s vysokým obsahem sacharidů (Peugnet et al. 2016), konkrétně v Evropě jde až o 10 – 40 % nad nutriční doporučení pro dané období březosti.

Praktickým příkladem vlivu výživy je porovnání náchylnosti k osteochondróze mezi hříbaty narozenými klisnám, které byly během březosti krmeny koncentrovaným krmivem, a hříbaty, jejichž matky byly krmeny pouze pící. Osteochondróza je onemocnění, které postihuje až 44 % mladých koní a je způsobeno jak genetickými, tak environmentálními faktory. U hříbat klisen, které byly krmeny koncentrovaným krmivem, byla pravděpodobnost vzniku lézí až 8krát vyšší oproti druhé skupině hříbat, která však na druhou stranu vykazovala menší obvod holeně, menší efektivitu v regulaci glukózy v krvi a opožděný vývoj varlat (Chavatte-Palmer et al. 2017).

Výživa klisny během březosti je jedním z aspektů, které ovlivňují strukturální a funkční vývoj různých tkání plodu, což vede k následkům jak během prenatálního, tak i postnatálního vývoje (Fowden et al. 2013). Adekvátní management chovných klisen, včetně výživy, je tedy zásadní pro produkci zdravých koní s vytouženými vlastnostmi. Ke konkrétním doporučením je však třeba ještě dalšího výzkumu (Peugnet et al. 2016).



### 3.6.2 Vliv fyzické zátěže na epigenetické modifikace

Koně jsou v dnešní době využíváni, kromě práce a trávení volného času, především v jezdeckém sportu a dostizích (Cavatte-Palmer et al. 2017; Khummuang et al. 2020) a právě jejich sportovní výkonnost je zároveň jedním z klíčových kritérií jejich selekce (Gim et al. 2015b). Do popředí zájmu se v oblasti výkonnosti a vlivu zátěže na organismus dostávají i epigenetické procesy asociované s fyzickým výkonem, avšak jejich přesné mechanismy a význam zatím nejsou u koní zcela objasněny (Gim et al. 2015a).

Fyzická aktivita způsobuje změny v řadě různých metabolických dějů v organismu, včetně termodynamiky a fyziologických či biochemických procesů za účelem adaptace organismu na zátěž (Gim et al. 2015b; Khummuang et al. 2020). Tímto způsobem jsou ovlivněny také epigenetické modifikace, a to napříč celým genomem. Porozumění úseků, které jsou takto pozměněny, je důležité pro upřesnění fyziologických procesů, které při zátěži v těle probíhají.

Epigenetické modifikace dokáží regulovat expresi genů v závislosti na podmínkách prostředí a klíčovým mechanismem této regulace je metylace DNA. Na genech souvisejících s fyzickým výkonem může být metylace DNA pozměněna právě vlivem zátěže, což vede ke změně exprese příslušných genů. U koní bylo identifikováno celkem 784 genů, jejichž úseky metylace byly tímto způsobem ovlivněny (Gim et al. 2015a).

Na základě dostupné literatury vyplývá, že se epigenetické mechanismy spojené se zátěží zkoumají zatím především u plnokrevných koní (Gim et al. 2015a; Gim et al. 2015b; Bryan et al. 2017; Khummuang et al. 2020). Staletí jejich selektivního šlechtění pro rychlost a výdrž vedla ke zdokonalení fyziologické adaptace na fyzický výkon, což z nich dělá ideální model ke zkoumání vlivu zátěže a adaptivních odpovědí na trénink (McGivney et al. 2009; Bryan et al. 2017). U koní vykazuje kosterní svalstvo vysokou schopnost adaptace na fyzickou zátěž a dlouhodobý trénink. Během fyzické aktivity dochází k opakujícím se kontrakcím svaloviny, což při pravidelném tréninku vede k fyziologické adaptaci. Avšak přesné genetické, epigenetické a molekulární procesy, které jsou základem adaptivních odpovědí organismu na zátěž, dosud nebyly objasněny (Bryan et al. 2017). V každém případě tato adaptace vede ke zlepšení fyzické výkonnosti a zdraví (McGee & Hargreaves 2019).

Epigenetické mechanismy mohou u koní vlivem zátěže působit také na mitochondrie. Regulátorem tvorby mitochondrií ve svalových buňkách je protein PGC-1 $\alpha$ , který se nachází ve vláknech kosterních svalů a je produkován na základě fyzické zátěže. Díky specializovaným transkripčním faktorům následně dochází k produkci proteinů, které jsou potřebné k sestavení mitochondrií. Vysoké hladiny PGC-1 $\alpha$  se v organismu nacházejí až po zátěži, před ní však ne. Tento proces naznačuje, že zátěž může aktivovat konkrétní geny (Davies 2017).

Gim et al. (2015a) vytvořil databázi Horse Exercise Epigenetic Database, která poskytuje vzorce metylace dvou koní před a po zátěži. Prvním z koní je klisna s nízkou výkonností a druhým hřebec s vysokou výkonností, databáze tedy nabízí srovnání specifických výkonnostních znaků vzhledem k pohlaví i stupni výkonnosti. Cílem této volně dostupné online databáze je poskytnout informace pro další výzkum epigenetických modifikací spojených se zátěží.

### 3.6.3 Vliv epigenetických modifikací na chování

Behaviorální rysy jsou v selekci zvířat jedním z nejsložitějších atributů. Chování je ovlivňováno dědičnými predispozicemi, epigeneticky a prostředím, a navíc se během života mění v závislosti na učení a životních zkušenostech (Wickens & Brooks 2020). Velká variabilita ve vyjádření konkrétních vlastností chování také ztěžuje studium behaviorální genetiky, stejně tak je těžké stanovit přesnou dědičnost u některých typů projevů chování (Beaver 2019). U domestikovaných hospodářských zvířat jde o významný kvantitativní znak a u koní domácích (*Equus caballus*) je tato skutečnost podtržena navíc ještě dopadem chování na výkonnost, využití pro práci nebo rekreaci a s tím spojené interakce mezi koněm a člověkem (Wickens & Brooks 2020).

Chování jedince je určováno geneticky a také fyzickým a sociálním prostředím. Nejde však jen o prostředí, kterému je vystaven během svého života, ale i o to, kterému jsou vystaveny předchozí generace. Stres rodičů nebo prarodičů tedy může díky epigenetickým mechanismům vyústit ve změny chování potomstva (Rutherford 2009; Bas Rodenburg 2014). Jedním z mechanismů, který může mít vlivem stresu dopad na epigenetické modifikace potomků, je sekrece mateřských hormonů během březosti. Dalším faktorem je postnatální rodičovské chování. Důkazem je studie zabývající se mateřskou péčí u myší, která ukázala, že olizování a čištění srsti matkou vedlo u potomků k epigenetickým modifikacím, které měly silný vliv na jejich behaviorální vlastnosti, konkrétně na sociální a mateřské chování. Na základě dostupné literatury nebyly tyto procesy zatím popsány u prekociálních druhů, což však nemusí znamenat, že se u nich neprojevují (Bas Rodenburg 2014).

Stres působí na epigenetické modifikace prostřednictvím steroidních hormonů a může je ovlivnit nejen během prenatalního období, ale i během života, a tak způsobit dlouhotrvající změny v chování a citlivosti na stres. Při stresujících situacích dochází v organismu ke zvýšení hladiny kortikosteroidů, především kortizolu, které snadno procházejí buněčnou membránou. V cytoplasmě dochází k navázání kortizolu na jaderné receptory a přenosu komplexu do jádra, kde se naváže na specifické sekvence DNA, působí jako transkripční faktor a reguluje expresi genů. Nabízí se možnost, že je tento mechanismus zapojen i do dlouhotrvající modifikace genové exprese, například změnou metylovaných úseků na promotorech, ale konkrétní průběh těchto dějů doposud není jasný (Jensen 2014).

Pro chovatele a majitele koní může být zajímavá souvislost mezi epigenetickými modifikacemi a stereotypním chováním. Stereotypy jsou opakující se, neměnné vzorce chování bez zjevného cíle nebo funkce. Projevy stereotypního chování se objevují hlavně u zvířat domestikovaných a chovaných v zajetí. Jde o patologické chování, které naznačuje aktuální nebo dřívější úzkost a špatný welfare. Stereotypnímu chování je věnována pozornost v souvislosti s welfare, ale také z hlediska ekonomické hodnoty zvířat. U koní nejde pouze o neatraktivní chování, ale také o možnou příčinu zdravotních problémů a dopadu na výkonnost. Může jít například o klkání, tkalcování, okusování a kopání (Wickens & Brooks 2020).

Stereotypní chování je ovlivněno různými faktory. Důležitou roli hraje prenatalní prostředí, které má vliv na vývoj chování jedince. Může mít trvalý dopad na neurobehaviorální vývoj, a dokonce může způsobit predispozice ke stereotypnímu chování (Mostard 2011; Wickens & Brooks 2020).

Vliv prenatalního prostředí na stereotypní chování byl potvrzen například u myši pruho-  
vané (*Rhabdomys dilectus* De Winton, 1897), kdy potomci stereotypních matek vykazovali až  
pětkrát větší sklony ke stereotypnímu chování než potomci nestereotypních matek. Zároveň  
bylo zjištěno, že to, zda tito potomci měli otce se stereotypními projevy chování nebo ne,  
nemělo tak velký vliv. Ze závěru této studie vyplývá, že samotná genetika nemůže objasnit  
výskytu stereotypního chování, ale musí být zapojeny i další mechanismy, jako například právě  
vliv prenatalního prostředí (Jones et al. 2008). Pro potvrzení vlivu epigenetických mechanismů  
v projevech stereotypního chování je třeba ještě další výzkum. Lepší porozumění stereotypnímu  
chování a faktorům, které jej ovlivňují, je důležité pro zlepšení welfare zvířat (Mostard 2011).

Epigenetické modifikace mohou figurovat také v procesu učení a paměti. DNA metylace  
a modifikace histonů jsou zásadní jak při vývoji, tak při vytváření dlouhodobé paměti. V nedě-  
lících se buňkách dozrálého nervového systému dochází k dynamické regulaci epigenetických  
úseků, kdy nejméně část genů prochází aktivní demetylací a následnou remetylací, které jsou  
řízeny prostředím nebo zkušeností. Tyto procesy mohou vést k dočasným nebo přetrvávajícím  
funkčním změnám nervového systému (Powledge 2011).

Potenciální rolí epigenetických modifikací, konkrétně metylace DNA, v regulaci dlou-  
hodobé paměti se zabývala studie vlivu absence DNMT1 a DNMT3 u myši (*Mus*). Obě tyto  
metyltransferázy jsou exprimovány v postmitotických neuronech, ale jejich přesná funkce  
v centrálním nervovém systému není jasná. Myši, které postrádaly DNMT1 i DNMT3 vykazovaly  
poruchy učení a paměti, což naznačuje důležitost těchto metyltransferáz pro dané procesy.  
Jejich význam spočívá v udržení metylace DNA a v modulaci genové exprese v neuronech  
nervové soustavy u dospělých jedinců. Svůj význam v procesu učení a paměti mají i modifi-  
kace histonů. Různé modifikace histonů jsou spojeny s různou expresí genů neuronů, navíc se  
ukázalo, že zvýšená acetylace histonů vlivem inhibice histon deacetylázy vedla k obnově učení  
a paměti u myši postižených neurodegenerací (Feng et al. 2010).

Přestože mechanismy vlivu epigenetických modifikací na chování zvířat byly studovány  
zatím především v laboratorních podmínkách na hlodavcích, výsledky jsou natolik pozoruhodné,  
že je rozumné vzít v úvahu také jejich přítomnost a možné působení u koní. V současné době pro-  
bíhají rozsáhlé výzkumy v oblasti epigenetiky, která by nám v budoucnu mohla pomoci lépe  
porozumět této problematice a také dopadu vlivů prostředí na genovou expresi (Beaver 2019).

## Závěr

Bakalářská práce zmapovala dosavadní poznatky týkající se epigenetických mechanismů, které ovlivňují genetickou expresi, se zaměřením na metylaci DNA a posttranslační modifikace histonových proteinů v genomu koně domácího (*Equus caballus*) a jejich dopad na reprodukci, výkonnost a chování koní. Reprodukce, výkonnost a chování jsou významnými aspekty v chovu koní, které mají vliv také na jejich využití. Znalosti v oblasti epigenetiky, mladého vědního oboru s velkým potenciálem, mohou chovatelům a majitelům poskytnout cenné informace o dopadu podmínek prostředí na zdraví a kvalitu koní.

V současné době není k dispozici mnoho literárních zdrojů, které se u koní na tuto problematiku zaměřují. Epigenetické modifikace se však jeví jako společný rys genomu savců (*Mammalia*) a bylo tedy možné čerpat i ze studií zaměřených na jiné druhy. Existující publikace však již nyní zdůrazňují význam epigenetiky a široké spektrum oblastí v chovu koní s její možnou aplikací.

Epigenetické mechanismy hrají v organismu savců (*Mammalia*) důležitou roli a jejich aberantní projev může způsobit poruchy v mnoha fyziologických procesech organismu. Epigenetické modifikace dynamicky reagují na podmínky prostředí a mohou tak na základě různých faktorů ovlivnit genovou expresi jedince. Epigenetika tedy nabízí, na základě biochemických reakcí v organismu, vědecky podložené doklady o dopadu environmentálních faktorů na život a zdraví nejen zvířat, ale také lidí.

V bakalářské práci byly popsány souvislosti tří podstatných odvětví chovu a využití koní s epigenetickými modifikacemi, kterým je v dostupné literatuře věnována největší pozornost. Konkrétně jde o:

1. reprodukci
  - a) využití biotechnologií v reprodukci
  - b) výživu březí klisny
2. vliv zátěže na epigenetické modifikace.
3. vliv epigenetických modifikací na chování.

V rámci reprodukce má na epigenetické modifikace významný vliv využití technologií asistované reprodukce, ke kterým se v současné době chovatelé koní často přiklánějí. Tyto biotechnologie s sebou přinášejí různé benefity, zasahují však také do epigenetických modifikací manipulovaných gamet a embryí. Změny epigenetických modifikací, které nastanou tímto způsobem, mohou ovlivnit proces oplodnění a následný vývoj a zdraví potomka. Tento dopad má například aberantní metylace DNA spermií v důsledku jejich kryokonzervace, která byla navržena jako další parametr k hodnocení spermatu hřebce.

Dalším faktorem v oblasti reprodukce, který se pojí se změnami epigenetických modifikací plodu, je výživa klisny během březosti. Nedostatky ve výživě se mohou odrazit v predispozicích potomka k onemocněním (například k osteochondróze), poruchách jeho metabolismu či náchylnosti k obezitě. Počet známých genů, které jsou prokazatelně ovlivněny změnami epigenetických modifikací vlivem prenatální výživy, je zatím malý. Jde však o geny, které jsou klíčové pro regulaci růstu, metabolismu a dostupnosti glukokortikoidů. Výživa chovných klisen je významným faktorem v budoucím zdraví a kvalitě potomstva, který chovatelům nabízí snadný a levný způsob, jak tyto aspekty ovlivnit.

Vliv fyzické zátěže na epigenetické modifikace je diskutovaným tématem nejen u koní, ale také u lidí. Epigenetické modifikace asociované s fyzickou aktivitou se pojí s fyziologickou adaptací organismu na zátěž a trénink a jejich pochopení je důležité pro lepší porozumění procesům, které v organismu během zátěže probíhají. Důsledkem ovlivnění epigenetických modifikací, konkrétně metylace DNA na genech asociovaných se zátěží, je změna jejich exprese. U koní bylo doposud nalezeno 784 genů, jejichž exprese je regulována tímto způsobem.

Důležitým aspektem, který má dopad na všechny oblasti využití koní, je jejich chování. Výzkum epigenetických vlivů na chování zvířat probíhal dosud především v laboratorních podmínkách u hlodavců, avšak jejich výsledky jsou vskutku pozoruhodné a dá se předpokládat jejich možná aplikace také u koní. Dostupná literatura poukazuje na význam stresu, především prenatálního, v možném dopadu na chování. Této problematice se již věnovaly studie u myši (*Mus*), které přinesly zajímavé výsledky poukazující na vliv stresujících podmínek na chování, jenž může postihnout i následující generace. V budoucnu by nám epigenetika mohla pomoci lépe pochopit chování a životní projevy jednotlivých koní.

Epigenetika je skutečně fascinujícím vědním oborem, který přináší inovativní poznatky v mnoha různých oblastech. V chovu koní se do budoucna jistě jedná o oblast výzkumu a následného využití v praxi s obrovským potenciálem, na který poukazuje již aktuální dostupná literatura. Některé studie přináší doporučení, která mohou pozitivně ovlivnit zdraví a welfare koní již nyní. Přehled informovanosti a praktického využití epigenetiky, například ve sportovních stájích či hřebčínách, by mohl být zajímavým tématem pro budoucí diplomovou práci.

## Literatura

- Abe Y, Fujiwara Y, Takahashi H, Matsumura Y, Sawada T, Jiang S, Nakaki R, Uchida A, Nagao N, Naito M, Kajimura S, Kimura H, Osborne TF, Aburatani H, Kodama T, Inagaki T, Sakai J, 2018. Histone demethylase JMJD1A coordinates acute and chronic adaptation to cold stress via thermogenic phospho-switch. *Nature Communications*, **9**: 1–16. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03868-8>.
- Alabert C, Barth TK, Reverón-Gómez N, Sidoli S, Schmidt A, Jensen ON, Imhof A, Groth A, 2015. Two distinct modes for propagation of histone PTMs across the cell cycle. *Genes & development*, **29**(6): 585–590. DOI: <https://doi.org/10.1101/gad.256354.114>.
- Alabert C, Groth A, 2012. Chromatin replication and epigenome maintenance. *Nature Review Molecular Cell Biology* **13**: 153–167. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm3288>.
- Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE, 1964. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of Rna synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **51** (5): 786–794. DOI: [10.1073/pnas.51.5.786](https://doi.org/10.1073/pnas.51.5.786).
- Allis CD, Jenuwein T. 2016. The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews Genetics*, **17**(8): 487–500. DOI: [10.1038/nrg.2016.59](https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59).
- Auclair G, Weber M, 2012. Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie*, **94**(11): 2202–2211. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.05.016>.
- Aurich Ch, Schreiner B, Ille N, Alvarenga M, Scarlet D, 2016. Cytosine methylation of sperm DNA in horse semen after cryopreservation. *Theriogenology* **86**: 1347-1352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.077>.
- Bailey, E., & Brooks, S. A. (2020). *Horse Genetics*. Wallingford, Oxfordshire, UK; Boston: CABI.
- Barlow DP, Bartolomei MS. 2014. Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **6**(2), (a018382). DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018382>.
- Barneda-Zahonero B, Parra M, 2012. Histone deacetylases and cancer. *Molecular Oncology* **6**: 579-589. DOI: [10.1016/j.molonc.2012.07.003](https://doi.org/10.1016/j.molonc.2012.07.003).
- Barros SP, Offenbacher S, 2009. Epigenetics: Connecting Environment and Genotype to Phenotype and Disease. *Journal of Dental Research*, **88**(5): 400–408. DOI: <https://doi.org/10.1177/0022034509335868>.
- Bas Rodenburg T, 2014. The role of genes, epigenetics and ontogeny in behavioural development. *Applied Animal Behaviour Science* **157**: 8-13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.06.002>.

- Beaver, B. V. G., (2019). *Equine Behavioral Medicine*. London: Academic Press an imprint of Elsevier.
- Bernstein B, Meissner A, Lander ES, 2007. The Mammalian Epigenome. *Cell*, **128**(4): 669–681. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.033>.
- Bird A, 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development* **16**(1): 6–21. DOI:10.1101/gad.947102.
- Blake GE, Watson ED, 2016. Unravelling the complex mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. *Current Opinion in Chemical Biology* **33**: 101–107. DOI: 10.1016/j.cbpa.2016.06.008.
- Bronner C, Alhosin M, Hamiche A, Mousli M, 2019. Coordinated Dialogue between UHRF1 and DNMT1 to Ensure Faithful Inheritance of Methylated DNA Patterns. *Genes* **10**(1): 65. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10010065>.
- Brownell JE, Zhou J, Ranalli T, Kobayashi R, Edmondson DG, Roth SY, Allis CD, 1996. *Cell* **84**, 843–851.
- Bryan K, McGivney BA, Farries G, McGettigan PA, McGivney ChL, Gough KF, MacHugh DE, Katz LM, Hill EW, 2017. Equine skeletal muscle adaptations to exercise and training: evidence of differential regulation of autophagosomal and mitochondrial components. *BMC Genomics* **18**(595). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4007-9>.
- Cao-Lei L, de Rooij SR, King S, Matthews SG, Metz GAS, Roseboom TJ, Szyf M, 2017. Prenatal stress and epigenetics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.05.016>.
- Clark R, Felsenfeld G, 1971. Structure of Chromatin. *Nature New Biology* **229**: 101–106. DOI: <https://doi.org/10.1038/newbio229101a0>.
- Colciago A, Magnaghi V, 2016. Neurosteroids Involvement in the Epigenetic Control of Memory Formation and Storage, *Neural Plasticity* (2016: 5985021) DOI: 10.1155/2016/5985021.
- Dai P, Rudge D, 2018. Using the Discovery of the Structure of DNA to Illustrate Cultural Aspects of Science, *The American Biology Teacher* **80**(4): 256–262 DOI: <https://doi.org/10.1525/abt.2018.80.4.256>
- Davies JR, Dent C, McNamara G, Isles AR. 2015. Behavioural effects of imprinted genes. *Current Opinion in Behavioral Sciences* **2**: 28–33. DOI: 10.1016/j.cobeha.2014.07.008.
- Davies, Z. (2018). *Equine Science*. Third edition. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell.
- Deichmann U. 2016. Epigenetics: the origins and evolution of a fashionable topic. *Developmental biology*, **416**(1): 249–254. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.06.005>.

- Deng M, Liu Z, Chen B, Wan Y, Yang H, Zhang Y, Cai Y, Zhou J, Wang F, 2020. Aberrant DNA and histone methylation during zygotic genome activation in goat cloned embryos. *Theriogenology* **148**: 27-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.036>.
- Dindot SV, Cohen ND, 2013. Epigenetic Regulation of Gene Expression: Emerging Applications for Horses. *Journal of Equine Veterinary Science* **33**(5): 288–294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.006>.
- Downey Ph, 2006. Profile of C. David Allis. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* **103**(17): 6425– 6427. DOI:10.1073/pnas.0602256103.
- Dunham I, Kundaje A, Aldred S. et al. 2012. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* **489**: 57–74. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature11247>.
- Dupont C, Armant DR, Brenner CA. (2009). Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective. *Seminars in Reproductive Medicine* **27**(5): 351–357. DOI:10.1055/s-0029-1237423.
- Duruiseaux M, Esteller M. 2018. Lung cancer epigenetics: From knowledge to applications. *Seminars in Cancer Biology* **51**: 116–128 DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.09.005.
- Felsenfeld G. 2014. A Brief History of Epigenetics. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **6** (a018200). DOI:10.1101/cshperspect.a018200.
- Feng J, Zhou Y, Campbell SL, Le T, Li E, Sweatt JD, Silva AJ, Fan G, 2010. DNMT1 and DNMT3A maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult fore-brain neurons. *Nature Neuroscience* **13**: 423–430. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn.2514>.
- Ferec A. 2018. *Genetika pro trenéry*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Fischer EH, Graves DJ, Crittenden ER, Krebs EG, 1959. Structure of the site phosphorylated in the phosphorylase b to a reaction. *The Journal of Biological Chemistry* **234**: 1698–1704.
- Fowden AL, Jellyman JK, Valenzuela OA, Forhead AJ, 2013. Nutritional Programming of Intrauterine Development: A Concept Applicable to the Horse?. *Journal of Equine Veterinary Science* **33**: 295-304. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.005>.
- Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, et al., 2005. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nature Genetics* **37**: 391–400. DOI: <https://doi.org/10.1038/ng1531>.
- Franciosi F, Lodde V, Goudet G, Duchamp G, Deleuze S, Douet C, Tessaro I, Luciano AM, 2012. Changes in histone H4 acetylation during in vivo versus in vitro maturation of equine oocytes. *Molecular human reproduction* **18**: 243-252. DOI: 10.1093/molehr/gar077.
- Garcia BA, Hake SB, Diaz RL, Kauer M, Morris SA, Recht J, Shabanowitz J, Mishra N, Strahl BD, Allis CD, Hunt DF, 2007. Organismal differences in post-translational



- modifications in histones H3 and H4. *The Journal of Biological Chemistry*, 282: 7641–7655. DOI: 10.1074/jbc.M607900200.
- Gayon J. 2016. From Mendel to epigenetics: History of genetics. *Comptes Rendus Biologies* **339**(7-8): 225–230. DOI: 10.1016/j.crvi.2016.05.009.
- Gim J, Lee S, Kim D, Jeong KS, Hong ChP, Bae JH, Moon JW, Choi YS, Cho BW, Cho HG, Bhak J, Kim HS, 2015a. HExDB: a database for epigenetic changes occurring after horse exercise. *Genes Genom* **37**: 287–294. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13258-014-0251-4>.
- Gim JA, Hong CP, Kim DS, Moon JW, Choi Y, Eo J, Kwon YJ, Lee JR, Jung YD, Bae JH, Choi BH, Ko J, Song S, Ahn K, Ha HS, Yang YM, Lee HK, Park KD, Do KT, Han K, Yi JM, Cha HJ, Ayarpadikannan S, Cho BW, Bhak J, Kim HS, 2015b. Genome-Wide Analysis of DNA Methylation before-and after Exercise in the Thoroughbred Horse with MeDIP-Seq. *Molecules and Cells* **38**: 210-220. DOI: <https://doi.org/10.14348/molcells.2015.2138>.
- Guil S, Esteller M, 2009. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **41**(1): 87–95. DOI:10.1016/j.biocel.2008.09.005.
- Hackney AC, 2015. Epigenetic aspects of exercise on stress reactivity, *Psychoneuroendocrinology* **61**: 17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.07.434>.
- Holliday R, 2006. Epigenetics: A Historical Overview. *Epigenetics* **1**(2): 76–80. DOI: 10.4161/epi.1.2.2762.
- Huang KG, Murray FE, 2010. Entrepreneurial experiments in science policy: Analyzing the Human Genome Project. *Research Policy* **39**(5): 567–582 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.respol.2010.02.004>.
- Chavatte-Palmer P, Peugnet P, Robles M, 2017. Developmental programming in equine species: Relevance for the horse industry. *Animal Frontiers* **7**: 48-54. DOI: 10.2527/af.2017-0128.
- Chavatte-Palmer P, Robles M, 2019. Developmental programming: Can nutrition of the mare influence the foal's health?. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* **43**: 168–183.
- Chavatte-Palmer P, Robles M, Tarrade A, Duranthon V, 2016. Gametes, Embryos, and Their Epigenome: Considerations for Equine Embryo Technologies. *Journal of Equine Veterinary Science* **41**: 13-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.03.019>.
- Chen Z, Riggs AD, 2011. DNA Methylation and Demethylation in Mammals'. *The Journal of Biological Chemistry* **286**(21): 18347–18353. DOI: 10.1074/jbc.R110.205286.
- Chowdhary BP, 2013. Defining the equine genome: The nuclear genome and the mitochondrial genome. Pages 1–9 in Chowdhary BP. *Equine Genomics*, John Wiley & Sons, Incorporated. Available from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/czup/detail.action?docID=1115560>.

- Jensen P, 2014. Behaviour epigenetics – The connection between environment, stress and welfare. *Applied Animal Behaviour Science* **157**: 1–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.02.009>.
- Jones PA, Liang G, 2009. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nature reviews. Genetics* **10**(11): 805–811. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg2651>.
- Kaneda M, 2011. Genomic imprinting in mammals-epigenetic parental memories. *Differentiation*. **82**(2): 51–56. DOI: [10.1016/j.diff.2011.05.004](https://doi.org/10.1016/j.diff.2011.05.004).
- Khummuang S, Lee HG, Joo SS, Park JW, Choi JY, Oh JH, Kim KH, Youn HH, kim M, Cho BW, 2020. Comparison for immunophysiological responses of Jeju and Thoroughbred horses after exercise. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **33**: 424–435. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0260>.
- Kim JK, Samaranyake M, Pradhan S, 2008. Epigenetic mechanisms in mammals. *Cellular and Molecular Life Sciences* **66**(4): 596–612. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8432-4>.
- Klose R, Kallin E, Zhang Y, 2006. JmjC-domain-containing proteins and histone demethylation. *Nature Reviews Genetics* **7**(9): 715–727. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg1945>.
- Kouzarides T, 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell*. **128**(4): 693–705. DOI: [10.1016/j.cell.2007.02.005](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005).
- Kulkarni S, 2015. *Clinical Genomics. Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.92823-X>.
- Lander E, Linton L, Birren B et al., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409**: 860–921 DOI: <https://doi.org/10.1038/35057062>.
- Lempradl A, 2020. Germ cell-mediated mechanisms of epigenetic inheritance. *Seminars in Cell & Developmental Biology* **97**: 116-122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.07.012>.
- Liberman N, Wang SY, Greer EL, 2019. Transgenerational epigenetic inheritance: from phenomena to molecular mechanisms. *Current Opinion in Neurobiology* **59**: 189–206. DOI: [10.1016/j.conb.2019.09.012](https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.09.012).
- Marmorstein R, Trievel, RC. 2009. Histone modifying enzymes: structures, mechanisms, and specificities. *Biochimica et biophysica acta* **1789**(1): 58–68. DOI: [10.1016/j.bbagr.2008.07.009](https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2008.07.009).
- Martin C, Zhang Y, 2007. Mechanisms of epigenetic inheritance. *Current Opinion in Cell Biology* **19**(3): 266-272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2007.04.002>.
- McCarrey JR, 2018. Genetic Vs. Epigenetic Inheritance Overview. 434-435 in Skinner MK, editors *Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)*. Academic Press.
- McGee SL, Hargreaves M, 2019. Epigenetics and Exercise. *Trends in Endocrinology & Metabolism* (**30**): 636-645. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.06.002>.

- McGivney BA, Eivers SS, MacHugh DE, MacLeod JN, O’Gorman GM, Park SDE, Katz LM, Hill EW, 2009. Transcriptional adaptations following exercise in Thoroughbred horse skeletal muscle highlights molecular mechanisms that lead to muscle hypertrophy. *BMC Genomics* (10:638) DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-638>.
- McNamara GI, John RM, Isles AR, 2018. Territorial Behavior and Social Stability in the Mouse Require Correct Expression of Imprinted *Cdkn1c*. *Frontiers in behavioral neuroscience* **12**. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00028>.
- Monk D, 2015. Germline-derived DNA methylation and early embryo epigenetic reprogramming: The selected survival of imprints. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **67**: 128–138. DOI:10.1016/j.biocel.2015.04.014.
- Morris SA, Rao B, Garcia BA, Hake SB, Diaz RL, Shabanowitz J, Hunt DF, Allis CD, Lieb JD, Strahl BD, 2007. Identification of Histone H3 Lysine 36 Acetylation as a Highly Conserved Histone Modification. *The Journal of Biological Chemistry* **282**: 7632-7640.
- Mostard KE, 2011. Google Scholar. General understanding, neuro-endocrinologic and (epi) genetic factors of stereotypy. Radboud University of Nijmegen. Nijmegen. Available from [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=General+Understanding,+Neuroendocrinologic+and+\(epi\)Genetic+Factors+of+Stereotypy.&author=K.+E.+Mostard&publication\\_year=2011&](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=General+Understanding,+Neuroendocrinologic+and+(epi)Genetic+Factors+of+Stereotypy.&author=K.+E.+Mostard&publication_year=2011&) (accessed June 2020).
- Murray K, 1964. The occurrence of  $\epsilon$ -N-methyl lysine in histones. *Biochemistry* **3**: 10–15.
- Onufriev AV, Schiessel H, 2019. The nucleosome: from structure to function through physics. *Current Opinion in Structural Biology* **56**: 119–130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2018.11.003>.
- Ooi SK, Qiu C, Bernstein E, et al. 2007. DNMT3L connects unmethylated lysine 4 of histone H3 to de novo methylation of DNA. *Nature* **448**: 714–717. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature05987>.
- Palmer E, Chavatte-Palmer P, 2020. Contribution of Reproduction Management and Technologies to Genetic Progress in Horse Breeding. *Journal of Equine Veterinary Science* **89**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2020.103016>.
- Parlee SD, MacDougald OA, 2014. Maternal nutrition and risk of obesity in offspring: The Trojan horse of developmental plasticity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease* **1842**: 495–506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.07.007>.
- Peugnet P, Robles M, Wimel L, Tarrade A, Chavatte-Palmer P, 2016. Management of the pregnant mare and long-term consequences on the offspring. *Theriogenology* **86**: 99–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.028>.
- Politi V, 2018. Scientific revolutions, specialization and the discovery of the structure of DNA: toward a new picture of the development of the sciences. *Synthese* **195**(5): 2267–2293 DOI: <https://doi.org/10.1007/s11229-017-1339-6>.

- Powledge TM, 2011. Behavioral Epigenetics: How Nurture Shapes Nature. *BioScience* **61**: 588–592. DOI: <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.8.4>.
- Probst AV, Dunleavy E, Almouzni G, 2009. Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **10**(3): 192–206. DOI:10.1038/nrm2640.
- Qu H, Fang XA, 2013. Brief Review on the Human Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) Project. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* **11**(3): 135–141 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2013.05.001>.
- Raudsepp T, Finno CJ, Bellone RR, Petersen JL, 2019. Ten years of the horse reference genome: insights into equine biology, domestication and population dynamics in the post-genome era. *Animal Genetics* **50**: 569–597. DOI: 10.1111/age.12857.
- Reverón-Gómez N, González-Aguilera C, Stewart-Morgan KR, et al., 2018. Accurate Recycling of Parental Histones Reproduces the Histone Modification Landscape during DNA Replication. *Molecular Cell* **72**(2): 239–249. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.08.010.
- Rezapour S, Shiravand M, Mardani M, 2018. Epigenetic changes due to physical activity. *Biotechnology and Applied Biochemistry* **65**: 761–767. DOI:10.1002/bab.1689.
- Rice JC, Allis CD, 2001. Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation. *Current Opinion in Cell Biology* **13**(3): 263–273. DOI:10.1016/s0955-0674(00)00208-8.
- Robles M, Gautier C, Mendoza L, Peugnet P, Dubois C, Dahirel M, Lejeune JP, Caudron I, Guenon I, Camous S, Tarrade A, Wimel L, Serteyn D, Bouraima-Lelong H, Chavatte-Palmer P, 2017. Maternal Nutrition during Pregnancy Affects Testicular and Bone Development, Glucose Metabolism and Response to Overnutrition in Weaned Horses Up to Two Years. *PLOS ONE* (e0169295) DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169295>
- Seto E, Yoshida M, 2014. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspectives in Biology* (a018713) DOI:10.1101/cshperspect.a018713.
- Sharma A, 2017. Transgenerational epigenetics: Integrating soma to germline communication with gametic inheritance. *Mechanisms of Ageing and Development* **163**: 15–22. DOI: 10.1016/j.mad.2016.12.015.
- Schiele MA, Gottschalk MG, Domschke K, 2020. The applied implications of epigenetics in anxiety, affective and stress-related disorders – A review and synthesis on psychosocial stress, psychotherapy and prevention. *Clinical Psychology Review* **77**: 101830. DOI: 10.1016/j.cpr.2020.101830.
- Skinner MK, 2011. Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics* **6**(7): 838–842. DOI:10.4161/epi.6.7.16537.

- Skvortsova K, Iovino N, Bogdanović O, 2018. Functions and mechanisms of epigenetic inheritance in animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **19**: 774–790. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0074-2>.
- Smith JM, 1990. Models of a dual inheritance system. *J Theor Biol.* **143**(1): 41–53. DOI:10.1016/s0022-5193(05)80287-5.
- Snustad DP, Simmons MJ. 2017. *Genetika*. Masarykova univerzita, Brno.
- Stedman E, Stedman, E. 1950. Cell Specificity of Histones. *Nature* **166**: 780–781 DOI: <https://doi.org/10.1038/166780a0>.
- Sterner DE, Berger SL, 2000. Acetylation of Histones and Transcription-Related Factors. *Microbiology and molecular biology reviews* **64**(2): 435–459.
- Stout TAE, 2016. Embryo–maternal communication during the first 4 weeks of equine pregnancy. *Theriogenology* **86**: 349–354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.048>.
- Strahl BD, Allis CD, 2000. The language of covalent histone modifications. *Nature* **403**: 41–45. DOI: 10.1038/47412.
- Strahl BD, Ohba R, Cook RG, Allis CD, 1999. Methylation of histone H3 at lysine 4 is highly conserved and correlates with transcriptionally active nuclei in *Tetrahymena*. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* **96**(26): 14967–14972. DOI:10.1073/pnas.96.26.14967.
- Taverna SD, Allis CD, Hake SB, 2007. “Hunt”-ing for post-translational modifications that underlie the histone code. *International Journal of Mass Spectrometry* **259**(1–3): 40–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2006.07.009>.
- Thamban T, Agarwal V, Khosla S, 2020. Role of genomic imprinting in mammalian development. *Journal of Biosciences* **45** (20). DOI: <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9984-1>.
- Tuscher JJ, Day JJ, 2019. Multigenerational epigenetic inheritance: One step forward, two generations back. *Neurobiology of Disease* **132** (104591). DOI: 10.1016/j.nbd.2019.104591.
- Vyskot B. 2010. *Epigenetika*. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Verdin E, Ott M, 2015. 50 years of protein acetylation: from gene regulation to epigenetics, metabolism and beyond. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **16**: 258–264. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm3931>
- Waddington C. 1942. Canalization of Development and the Inheritance of Acquired Characters. *Nature* **150**: 563–565. DOI: <https://doi.org/10.1038/150563a0>.
- Wickens C, Brooks SA, 2020. Genetics of Equine Behavioral Traits. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **36**: 411–424. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2020.03.014>.

- Wu Ct, Morris JR, 2001. Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science* **293**(5532): 1103–1105. DOI: 10.1126/science.293.5532.1103.
- Yang YB, 2019. The role of genetics in medicine: A future of precision medicine. *BC Medical Journal* **61**(10): 388–389.
- Yuan G, Zhu B, 2012. Histone variants and epigenetic inheritance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms* **1819**(3–4): 222–229. DOI: 10.1016/j.bbagr.2011.06.007.
- Zhang H, Chen W, Sun K, 2017. Mendelism: New Insights from Gregor Mendel’s Lectures in Brno. *Genetics* **207**(1): 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1534/genetics.117.201434>.
- Zhu B, Reinberg D, 2011. Epigenetic Inheritance: Uncontested?. *Cell Research* **21**(3): 435–441. DOI:10.1038/cr.2011.26.

## Seznam použitých zkratek

Cdkn1c	– Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1C
CpG	– dinukleotidy, ve kterých jsou báze cytosinu a guaninu navázány lineárně za sebou
DMR	– differentially methylated regions
DNMT	– DNA metyltransferáza
DNMT1	– DNA metyltransferáza 1
DNMT3A	– DNA metyltransferáza 3A
DNMT3B	– DNA metyltransferázy 3B
DNMT3L	– DNA metyltransferáza 3L
H3K27me3	– histon H3 trimetylovaný na 27. lyzinovém residuu
H3K36me3	– histon H3 trimetylovaný na 36. lyzinovém residuu
H3K4me3	– histon H3 trimetylovaný na 4. lyzinovém residuu
H3K79me3	– histon H3 trimetylovaný na 79. lyzinovém residuu
H3K9me3	– histon H3 trimetylovaný na 9. lyzinovém residuu
HAT	– histonová acetyltransferáza
HDAC	– histon deacetyláza
HMT	– histon metyltransferáza
ChOR-seq	– Chromatin Occupancy after DNA Replication by next-generation sequencing
JmjC	– Jumonji C, histonova demetyláza
LSD1	– lyzinově specifická demetyláza 1
PGC-1 $\alpha$	– Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC)-1 $\alpha$
PTMH	– posttranslační modifikace histonů
SAM	– S-adenosyl-1-methionin
UHRF1	– Ubiquitin-like with plant homeodomain and really interesting new gene finger domains 1





