

X-kromosomin inaktivaation epigenetiikkaa



Jasmin Talvitie

LuK-tutkielma
Biologian tutkinto-ohjelma, biotiede
Oulun Yliopisto
Maaliskuu 2022

Sisällys

Tiivistelmä	3
1. Johdanto	4
2. <i>Drosophila</i>-kärpästen ja eleganssimatojen annoskompensaatiomekanismit	5
2.1. Annoskompensaatio	5
2.2. Yhden X-kromosomin kaksinkertainen transkriptio	6
2.3. Molempien hermafrodiittisten X-kromosomien alisäätely	7
3. Epigenetiikan rooli nisäkkäiden geeniekspressiossa	8
4. X-kromosomin inaktivaatio	9
4.1 Ei-koodaavat RNA:t ja X-inaktivaatio	10
4.2 Satunnainen ja ei-satunnainen X-inaktivaatio	11
4.3 Leimattu X-inaktivaatio	12
4.4 Inaktivoidun X-kromosomin epigeneettiset ominaisuudet	13
4.5 X-inaktivaatiota väistävät geenit	14
4.6 X-inaktivaatio ja sairaudet	16
5. Yhteenveto	17
6. Lähteet	18

Tiivistelmä

Nisäkkäiden sukupuolen määräytyminen sukupuolikromosomien mukaisesti aiheuttaa geenituotteiden epätasapainoa. XX- ja XY-sukupuolikromosomien systeemi tuottaa eriarvoisen määrän proteiineja ja RNA:ita sukupuolien välillä, sillä nisäkäsnaarailla on kaksi X-kromosomia ja siten kaksinkertainen määrä sukupuolikromosomaalisia geenejä. Koiraiden yksi X-kromosomi sisältää suurimman osan geeneistä, kun taas sukupuolen määrittävän alueen sisältävä Y-kromosomi on geneettisesti köyhtynyt. Y-kromosomin morfologinen erilaistuminen X-kromosomista on ollut seurausta lokusten välisen rekombinaation estymisestä.

Evoluutiivinen valintapaine on kehittänyt erilaisia mekanismeja, annoskompensaatioita, geenituotteiden epätasapainon välttämiseksi. Annoskompensaatiomekanismit muuttavat sukupuolilinkittyneiden geenien ilmentymistä, jotta kumpikin sukupuoli ilmentäisi niitä tasapuolisesti. Mekanismeja ovat X-kromosomin kaksinkertainen ylisäättely, molempien hermafrodiittisten X-kromosomien alisäättely sekä X-kromosomin inaktivaatio. Tutkielmassa keskitytään X-kromosomin inaktivaatioon, jota ilmentyy nisäkkäillä. X-kromosomin inaktivaatio on molekyyli tapahtumien sarja, jossa yksi naaraan X-kromosomeista inaktivoidaan satunnaisesti tai leimatusti. Inaktivaatio perustuu kromatiinirakenteiden epigeneettisiin modifikaatioihin sekä ei-koodaavien RNA:iden toimintaan. Satunnaisessa X-inaktivaatiossa kummallakin X-kromosomilla on yhtäläinen mahdollisuus hiljentyä. Pussieläinten ja kehittyvien hiirten alkioissa inaktivoituminen on leimattua ja hiljennettävä X-kromosomi on aina isältä peritty.

Inaktivoitu X-kromosomi poikkeaa aktiivisesta homologistaan myöhäisemmällä replikaatioajankohdalla, Barr-kappaleella sekä histonien erilaisilla metylaatioilla ja asetylaatioilla. Poikkeuksena ovat X-inaktivaatiota väistävät geenit, jotka sijaitsevat hiljennetyssä X-kromosomissa, mutta ilmentyvät yhtäaikaisesti aktiivisen X-kromosomin geenien kanssa. Geenien hiljentymiseltä väistyminen on seurausta epänormaaleista epigeneettisistä muutoksista, kuten CpG-saarien metylaatioiden puuttumisesta sekä toistoelementtien epänormaalisti jakautumisesta. Epigeneettisten prosessien säätelyn epäonnistuminen voi myös johtaa erilaisiin sairauksiin, kuten Rett-oireyhtymään, tai jopa kasvainten kehitykseen. Nisäkkäiden annoskompensaatiomekanismin tutkiminen on tuottanut paljon tietoa muilla epigenetiikan osa-alueilla, syöpädiagnostiikassa sekä geeniekspression säännöstelystä. Lukuisista löydöksistä ja havainnoista huolimatta X-kromosomin inaktivaatio herättää vielä useita vastaamattomia kysymyksiä ja aihetta läpikohtaiselle tutkimukselle.

1. Johdanto

Sukupuoli voi määräytyä erilaisilla tavoilla eri organismeilla. Näitä määräytymistapoja ovat esimerkiksi ympäristöstä johtuva sukupuolen määräytyminen, jota tapahtuu eniten selkärangattomilla ja joillakin matelijoilla sekä geneettinen sukupuolen määräytyminen sukupuolikromosomien avulla, esimerkiksi nisäkkäillä ja linnuilla (D'Aquino & Stallone, 2013).

Monien eukaryoottisten organismien sukupuolikromosomaaliset rakenteet vaihtelevat sukupuolien välillä. Kromosomien morfologinen erikoistuminen on ollut seurausta geenitoiminnan asteittaisesta häviämisestä toisessa kromosomissa (Marín ym., 2000). Nisäkkäiden sukupuolen määräytyminen perustuu XX- ja XY-sukupuolikromosomien systeemiin, jossa koiraat ovat heterogameettisia (XY) ja naaraat homogameettisia (XX) kromosomien suhteen (D'Aquino & Stallone, 2013). Sukupuoli määräytyy Y-kromosomissa sijaitsevan *SRY*-geenin mukaan (Koopman ym., 1991).

Sukupuolikromosomien periytyminen aiheuttaa epätasapainoa geenituotteiden, kuten proteiinien sekä RNA:iden määrässä. Naarilla on kaksi X-kromosomia, yksi peritty isältä ja yksi äidiltä, ja siten tuplamäärä X-kromosomin sisältämiä geenejä. Ilmennettävien geenien sekä geenituotteiden epätasapainon välttämiseksi on kehittynyt mekanismeja annostelun kompensoimiseksi (eng. dosage compensation mechanisms). Annoskompensaatiota tavataan kolmea erilaista, joissa geenien ilmentymistä on pyritty tasapainottamaan erilaisilla säätelymekanismeilla. Näiden mekanismien esittäminen on tärkeää, jotta voidaan ymmärtää nisäkkäiden annoskompensaation kehittymistä evolutiivisesta näkökulmasta. Erilaisten molekulaaristen mekanismien konvergentti kehitys annoskompensaation saavuttamiseksi viittaa siihen, että annoskompensaatio on kriittinen lajeille, joilla on heteromorfiset sukupuolikromosomit. Nisäkkäillä annoskompensaatiomekanismina toimii X-kromosomin inaktivointi (Brockdorff & Turner, 2015).

Nisäkkäiden annoskompensaatiomekanismin toiminta perustuu epigeneettiseen muokkaukseen. Epigeneettinen X-kromosomin inaktivointi tapahtuu sattumanvaraisesti kussakin solussa, kun solut alkavat erikoistua. Poikkeuksena tähän on leimattu X-inaktivaatio, jota tapahtuu pussieläimillä sekä preimplantaatiovaiheessa olevissa hiiren alkioissa. Tässä tapauksessa inaktivoituvat X-kromosomit ovat aina isältä perittyjä. X-kromosomin hiljentymisen epigeneettiset mekanismit perustuvat kromatiinirakenteiden muokkaukseen

modifioimalla histonipäitä, lisäämällä tai poistamalla erilaisia histonivariantteja, metyloimalla CpG-saaria (eng. CpG islands) sekä uudelleenjärjestämällä histonitaitoksia (Brockdorff & Turner, 2015).

Tutkielmassa keskitytään erilaisten nisäkkäiden annoskompensaatiomekanismeihin, niiden epigeneettisiin ominaisuuksiin sekä keskeisimpiin geeneihin ja proteiineihin. Tutkielmassa tutustutaan myös *Drosophila*-kärpäsen ja eleganssimadon annoskompensaatioon ja vertaillaan mekanismien toimintojen erilaisuuksia.

2. *Drosophila*-kärpästen ja eleganssimatojen annoskompensaatiomekanismit

2.1. Annoskompensaatio

Sukupuolen määräytymisen geneettiset keinot vaihtelevat organismien välillä.

Yksinkertaisimmassa järjestelmässä on sukupuolen määrittävä lokus, joka on homotsygoottinen yhdessä sukupuolella ja heterotsygoottinen toisessa. Järjestelmä on kehittynyt erilaisiin monimutkaisuuden tasoihin erilaisissa organismeissa. Esimerkiksi joissakin eliöissä mekanismit estävät sukupuolen määrittävien alleelien meiotista rekombinaatiota, estäen alleelien sekoittumisen ja kaksineuvoisten eliöiden kehittymisen (Brockdorff & Turner, 2015).

Joidenkin diploidisten organismien sukupuolen määräytymisen järjestelmä johtaa geenien epätasapainoon, jos sukupuolen määrittävä geeni sijaitsee rappeutuneessa kromosomissa. Useat näistä geeneistä ovat tärkeitä kummankin sukupuolen kehitykselle sekä ylläpidolle (Lucchesi et al., 2005). Annoskompensaatio on prosessi, jossa sukupuolilinkittyneiden geenien ilmentymistä muutetaan, jotta välttyttäisiin epätasapainolta sukupuolikromosomien sisältämien geenien määrässä eri sukupuolilla. Evolutiivinen valintapaine pyrkii tasapainoittamaan sukupuolien välistä geenien ilmentymisen epätasapainoa, johtaen erilaisiin geenien ilmentämisen annostelumekanismiin. Mekanismeja on tutkittu molekulaarisella tasolla malliorganismeilla, jotka luokitellaan kolmeen kaukaisesti sukua olevaan taksoniin. Näitä malliorganismeja ovat *Drosophila*-kärpäset, eleganssimadot ja nisäkkäät (Lucchesi et al., 2005). X-kytkettyjen geenituotteiden samanvertainen ilmentyminen on saavutettu *Drosophila*-kärpästen X-kromosomin kaksinkertaisella ylisäätelyllä, eleganssimatojen (*Caenorhabditis elegans*) molempien hermafrodiittisten X-kromosomien alisäätelyllä sekä nisäkäsnaraisten X-kromosomin inaktivaatiolla (Marín ym., 2000).

2.2. Yhden X-kromosomin kaksinkertainen transkriptio

Drosophila-kärpästen naarailla on kaksi X-sukupuolikromosomia ja koirailta on X- ja Y-kromosomit. Fenotyyppinen sukupuoli määräytyy tumassa olevan X-kromosomimäärän mukaan. Koiraiden Y-kromosomi on tarpeellinen hedelmöityksessä, mutta ei vaikuta fenotyyppiseen sukupuoleen. *Drosophila*-kärpästen sukupuolen määräytymistä ja annoskompensaatiota säädelään X:autosomi-suhteella. Annoskompensaatiomekanismi *Drosophila*-kärpäsissä toimii yhden X-kromosomin ilmentymisen ylisäätelyllä (Lucchesi & Kuroda, 2015).

X-kromosomien ja autosomien suhde säätelee tärkeää kaksoiskytkingeeniä, *Sex lethal*-geeniä. *Sex lethal*-geeni (*Sxl*) koodaa naarasspesifistä RNA:ta sitovaa proteiinia, joka säätelee silmukointia ja keskeisten siirtäjä-RNA:iden translaatiota sukupuolen määrittämisen- ja annostelukompensaatioreiteissä. *Sxl*:n ekspressio aktivoituu XX-alkioissa ja inaktivoituu XY-organismeissa. Naaraaksi erilaistuminen alkaa *transformer*-geenin sukupuolikohtaisella silmukoinnin säätelyllä. *Transformer*-geenin geenituote ohjaa *doublesex*-geenin ensisijaisen transkriptin silmukointia *transformer-2*-geenin avulla, ilmentämään säätelyproteiinia, joka tukahduttaa koiraiden kehitykseen tarvittavat geenit. Koirasalkioilla, *doublesex*-transkripti silmukoidaan vaihtoehtoisella tavalla, jotta saadaan säätelyproteiini, joka tukahduttaa naaraaksi kehittymiseen tarvittavat geenit (Lucchesi & Kuroda, 2015).

Male specific lethal-geenien (*MSL*) proteiinituotteet sekä kahden geenin, *roX1* ja *roX2*, tuottamat ei-koodaavat RNA-tuotteet sitoutuvat koiraiden X-kromosomeihin. Nämä komponentit ko-lokalisoituvat erillisiin kohtiin X-kromosomissa. *Sxl*:n kohde on *MSL-2*:n lähetti-RNA. *Sxl* on yleensä läsnä vain naarailla, joissa se estää *MSL-2* lähetti-RNA:n translaation (Lucchesi & Kuroda, 2015). *MSL-2*:n sitoutuminen useisiin alueisiin naaraiden *Sxl*-geenissä estää *MSL-2* translaation ja tukahduttaa mahdollisuuden X-kromosomin ylisäätelyyn naarailla (Gelbart & Kuroda, 2009).

Koirailta *MSL-2*-proteiini ilmentyy *Sxl*:n aiheuttaman hiljentymisen puuttuessa. Tämä johtaa toiminnallisen *MSL*-kompleksin kokoonpanoon (Lucchesi & Kuroda, 2015). *Drosophila*-kärpästen kompensaatiota annostelee *male-specific lethal*-ribonukleoproteiinikompleksi. *MSL*-kompleksi koostuu viidestä proteiinin alayksiköstä ja kahdesta ei-koodaavasta RNA:sta (Gelbart & Kuroda, 2009). *MSL*-kompleksi on vastuussa H4K16-histonin monoasetyloidun isoformin läsnäolosta koiraiden X-kromosomeissa. H4K16-histonin asetyloinnin lisäksi *MSL*-kompleksi on osana myös kromatiinia modifioivissa aktiivisuuksissa. Tämä H4K16-histonin

kovalenttinen asetyylin lisäys ja kromatiinimuokkaukset korreloivat X-linkittyneiden geenien kaksinkertaistumisen kanssa (Sass ym., 2003).

Naaraat siis tukahduttavat *MSL*-geenien translaation, estäen epätasapainoisen annoskompensaation, kun kaksi X-kromosomia on läsnä. *Sxl*:n puuttuessa koiraat ilmentävät *MSL*-proteiineja, jotka vaikuttavat transkription kaksinkertaistumiseen (Lucchesi & Kuroda, 2015).

2.3. Molempien hermafrodiittisten X-kromosomien alisäätely

Eleganssimatojen (*Caenorhabditis elegans*) sukupuolikromosomit poikkeavat aiemmin mainituista sukupuolisysteemeistä. Eleganssimadot, joilla on kaksi kromosomia (XX) kehittyvät hermafrodiiteiksi ja yksilöt, joilla on yksi X-kromosomi (XO) kehittyvät koiraiksi. Eleganssimadoilla ei siis ole koirasspesifistä kromosomia, kuten XX/XY systeemissä. Eleganssimatojen X-kromosomien suhde autosomeihin säätelee sekä sukupuolen määräytymistä sekä annoskompensaatiota, kuten *Drosophila*-kärpästen annoskompensaatiossakin (Lau & Csankovszki, 2015). X-linkittyneiden geenien tasapainoisen ilmentymisen epäonnistuminen voi muidenkin organismien tavoin olla tappavaa, jonka vuoksi eleganssimadoille on kehittynyt tietynlainen kaksiosainen annoskompensaatiomekanismi. Ensin X-kromosomin ylisäätely tasapainottaa X-linkittyneiden geenien ilmentymisen koirailta. X-kromosomin ylisäätelyn on huomattu toimivan myös hermafrodiiteissa, johtaen geenien liialliseen ilmentymiseen. Tämän vuoksi tarvitaan toinen mekanismi, joka perustuu kaksinkertaiseen alisäätelyyn kussakin hermafrodiittisessä X-kromosomissa (Lau ym., 2014).

Alisäätelyn toiminta perustuu ”dosage compensation”-kompleksin (DCC) toimintaan, jossa kompleksi lokalisoituu molempiin hermafrodiittisiin X-kromosomeihin alentaen geeniekspressiota puolella. DCC:n subkompleksi I^{DC} on homologinen mitoosissa ja meioosissa esiintyvän kondensiinikompleksin kanssa, joka edistää kromosomien tiivistymistä, järjestäytymistä sekä segregatiota. DCC:n subkompleksilla ei kuitenkaan ole mitoottista toimintaa, vaan se toimii geeniekspression tukahduttamisessa. Mitoosissa esiintyvät kondensiinikompleksit järjestävät ja tiivistävät kromosomeja, minkä vuoksi johtava hypoteesi on, että DCC-aktiivisuus johtaa muutoksiin myös X-kromosomien tiivistymisessä.

DCC muokkaa X-kromatiinia nukleosomitasolla. Histonihäntien modifikaatiot vaikuttavat mitoosin aikaisen kromosomin kondensaatioon. Samankaltaisia modifikaatioita huomataan

myös interfaasivaiheessa olevilla annoskompensoiduilla X-kromosomeilla (Lau & Csankovszki, 2015).

3. Epigenetiikan rooli nisäkkäiden geeniekspressiossa

Yleisesti epigenetiikka viittaa kumulatiivisiin ja perinnöllisiin muutoksiin organismin fenotyypissä, jotka tapahtuvat DNA-sekvenssistä riippumatta. Epigenetiikka mahdollistaa solujen ja kudosten erilaisen toiminnan, vaikka soluissa on sama geneettinen koodi (Zhang & Pradhan, 2014). Nisäkkäiden geeniekspressiota säädelään useilla epigeneettisillä tekijöillä. Säätelyn päätekijöitä ovat DNA:n metylaatio, histonin modifikaatiot, kromatiinin konformaatio-ominaisuudet sekä ei-koodaavat RNA:t. Nisäkkäiden annoskompensaatioissa toisen X-kromosomin inaktivoituminen on seurausta useista kyseisistä epigeneettisistä muokkauksista, jotka vaikuttavat inaktivoituvan kromosomin geeniekspressioon (Zhang & Pradhan, 2014).

DNA:n metylaatio on laajasti tutkittu epigeneettinen merkki nisäkkäiden genomissa. Metylaatio on tarkka alueellinen ja ajallinen transkription säätelymekanismi, joka on tärkeä nisäkkäiden kehitykselle, X-kromosomin inaktivaatiolle sekä genomien vakaudelle. Nisäkkään DNA:n metylaatioissa sytosiinin viidenteen hiiliatomiin lisätään metyyliryhmä kovalenttisesti. Tämä metyloitu sytosiini muodostaa 5-metyylisytosiinikompleksin. Metyloitu sytosiini estää transkriptiofaktoreiden kiinnittymisen geenien promoottoreihin ja estää siten geenin ilmentymisen (Zhang & Pradhan, 2014). Suurin osa näistä modifikaatioista tapahtuu genomien CpG-nukleotideissa. CpG-nukleotidit ovat jakautuneet epätasaisesti genomiin, mutta ne ovat keskittyneet tiheisiin ryhmittymiin, joita kutsutaan CpG-saariksi (Kim ym., 2009). DNA:n metylaatio on osallisena X-kromosomin hiljentyneen tilan ylläpitämisessä nisäkkäiden annoskompensaatioissa (Zhang & Pradhan, 2014).

Eukaryoottien DNA on pakattu kromatiiniksi, joka sijaitsee tumassa. Kromatiini on jaettu hiljennetyksi heterokromatiiniksi ja aktiiviseksi eukromatiiniksi. Heterokromatiini sisältää paljon toistojaksoja, mutta vähän genejä. Eukromatiini sisältää suurimman osan geneistä ja on transkriptionaalisesti aktiivinen. Kromatiinin yksikköjä ovat nukleosomit. Nukleosomit koostuvat 147 DNA-emäsparista, jotka ovat kietoutuneet histoni-proteiinin ympärille. Histoneilla on pallomainen C-terminaalialue sekä N-terminaalinen häntä. Suurin osa histonimodifikaatioista kohdistuu niiden N-terminaaliseen häntään. Näitä modifikaatioita ovat esimerkiksi lysiinin ja arginiinin metylointi, lysiinin asetylointi, seriinin ja treoniinin fosforylointi sekä lysiinin ubikvitinaatio ja sumoylaatio. Nämä modifikaatiot vaikuttavat

kromatiinin aktiivisuuteen, muuttamalla kromatiinia hiljennetyksi heterokromatiiniksi tai aktiiviseksi eukromatiiniksi (Kim ym., 2009). Histonimodifikaatiot osallistuvat nisäkkäiden annoskompensatioon muuttamalla X-kromosomien kromatiiniaktiivisuutta (Zhang & Pradhan, 2014).

Eukaryoottisilla genomeilla on kolmiulotteinen rakenne. Kromosomien kolmiulotteinen järjestely vaikuttaa voimakkaasti geenien ilmaisuun. Kromosomissa on tehostajaelementtejä, joiden vuorovaikutusta efektorigeeneihin voidaan säädellä kromosomien konformaation muutoksilla. Viimeaikaisten tutkimusten avulla on havaittu, että CTCF-transkriptiotekijä, joka on *CTCF*-geenin koodaama transkriptiofaktori, säätelee sekä kromatiinin cis- että trans-vuorovaikutuksia pitkän matkan DNA-vuorovaikutusten välillä. CTCF-transkriptiotekijät myös edesauttavat X-kromosomin pakkaamista kromatiinisilmukoiksi nisäkkäiden annoskompensaatiossa. Kromatiinin konformaation ja histonin metylaatioiden korrelaatio osoittaa, että kromatiinikonformaatiolla on tärkeä rooli geeniekspression säätelyssä. (Zhang & Pradhan, 2014).

Ei-koodaavat RNA:t ovat transkriptoituja RNA-molekyylejä, joita ei ole transloitu proteiineiksi. Ei-koodaavia RNA-molekyylejä on useita, kuten lähetti-RNA, siirtäjä-RNA, lnc-RNA, mitokondriaalinen RNA ynnä muita. Ei-koodaava RNA kontrolloi geeniekspressiota kiinnittymällä koodaavaan RNA-juosteeseen tiettyjen proteiinien kanssa ja hajottamalla koodaavaa RNA:ta. Suuri määrä lnc-RNA:ista (pitkä ei-koodaava RNA) toimii rekrytoimalla kromatiinia modifioivia entsyymejä, jotka edistävät kromatiinin muokkaamista ja siten säätelevät geeniekspressiota. Lnc-RNA:t osallistuvat X-kromosomin inaktivaatioon usealla ei-koodaavalla RNA:lla (Zhang & Pradhan, 2014).

4. X-kromosomin inaktivaatio

Nisäkkäillä X-linkittyneiden geenien annoskompensatio onnistuu naarilla yhden X-kromosomin inaktivaatiolla. X-kromosomin inaktivointi on molekyyli tapahtumien sarja, joka alkaa pian alkion kiinnittymisen jälkeen. Valinta siitä, kumpi X-kromosomi inaktivoituu on sattumanvaraista istukallisilla nisäkkäillä, mutta pussieläimillä inaktivaatio koskee yksinomaan isältä peräisin olevaa X-kromosomia. Nisäkkäiden X-kromosomin inaktivaation erottuvin piirre muista annoskompensatioista on tuman kummankin X-kromosomin erilainen käsittely. Nisäkkäiden X-kromosomin inaktivaatiota kontrolloi suurimmaksi osaksi X-inaktivaatiokeskus (*Xic*), joka sijaitsee X-kromosomilla. *Xic* säätelee X-kromosomien lukumäärän laskua ja sisältää ei-koodaavan *Xist* RNA-geenin, joka lokalisoituu tarkasti

inaktiiviseen X-kromosomiin ja laukaisee kromosominlaajuisen geenin tukahduttamisen (Wutz & Gribnau, 2007).

Diploidisissa soluissa varmistetaan vain yhden X-kromosomin aktiivisen muodon ylläpitäminen laskennallisen mekanismin avulla. Kyseinen mekanismi on huonosti tunnettu ja siitä on useita erilaisia teorioita. Yhden mallin mukaan X-kromosomin inaktivoituminen on määrätty jo ennen inaktivoitumisprosessia ja inaktivoituminen päätellään sisarkromatidien koheesion erilaisuuksista naaraiden alkion kantasoluissa. Laskennallisen mekanismin uskottavin ja yhteisesti ymmärretyin teoria kuitenkin selittää, että X-kytkettyjen tekijöiden ja autosomaalisten tekijöiden tasapaino auttaa solua määrittämään kuinka monta X-kromosomia on autosomeihin verrattuna (Monkhorst et al., 2008). X:autosomi translokaatiot viittaavat estosignaalin läsnäoloon, joka suojelee yhtä X-kromosomia inaktivoitumiselta. Estosignaalia tuotetaan rajoitettu määrä ja se sitoutuu yhden X-kromosomin Xic:hen per diploidinen solu ja siten suojaa sitä inaktivaatiolta. Xic:n inaktivaatiosignaali leviää, johtaen useimpien tuhansien geenien cis-rajoittuneeseen X-kromosomin inaktivoitumiseen. Inaktivoitu X-kromosomi tiivistyy kompaktiksi rakenteeksi, jota kutsutaan Barr-kappaleeksi ja se pysyy vakaassa hiljennetyssä tilassa (Heard ym., 1997).

X-kromosomin inaktivoitua on kahta eri muotoa: satunnaista sekä leimattua. Molemmat muodot käyttävät samoja RNA:ita ja hiljentäviä entsyymejä, mutta ne eroavat toisistaan kehityksen ajoituksen ja vaikutusmekanismin suhteen (Ahn & Lee, 2008).

4.1 Ei-koodaavat RNA:t ja X-inaktivaatio

Xist eli *X inactive-specific transcript* on ei-koodaava RNA-molekyyli, joka toimii X-inaktivaatiokeskuksen komponenttina ja aloittaa sekä kontrolloi inaktivaatioprosessia komplementaarisen *Tsix*-RNA:n kanssa. *Xist*:llä on neljä ainutlaatuista erilaista ominaisuutta. *Xist*-geeni koodaa proteiiniin sijasta toiminnallista RNA-molekyyliä, *Xist*-RNA:ta, jota ilmennetään pelkästään soluissa, joissa on vähintään kaksi X-kromosomia. *Xist*-RNA pysyy yksinomaan tumassa ja pystyy päällystämään sen kromosomin, joka sen on tuottanut. *Xist*-RNA:ta ilmennetään myös muuten inaktiivisesta X-kromosomista. Tutkimukset ovat osoittaneet, että *Xist*-RNA on sekä välttämätön että riittävä inaktivaatioon ja se värvää erilaisia hiljentäviä proteiinikomplekseja leimaamaan tulevan inaktiivisen X-kromosomin. Lisääntynyt *Xist*:n ilmentyminen on avaintapahtuma X-inaktivaation aloituksessa, osoittaen tämän ei-koodaavan RNA:n keskeisen roolin (Ahn & Lee, 2008). Kun X-kromosomin inaktivaatioprosessi on aloitettu, kromosominlaajuiset rakenteelliset muutokset aiheuttavat

kondensoituneen Barr-kappaleen muodostumisen, joka on päällystetty *Xist*:llä (Fang ym., 2019).

Tsix-RNA on pitkä komplementaarinen ei-koodaava RNA-sekvenssi *Xist*:lle ja sitä transkriboidaan *Xist*-geeniä vastakkaiseen suuntaan. *Xist*:n tavoin *Tsix* päällystää vain sitä tuottaneen kromosomin. *Tsix*-transkription vähentyessä yhdessä X-kromosomissa *Xist*:n ilmentyminen lisääntyy johtaen saman X-kromosomin inaktivoitumiseen. *Tsix*:n yli-ilmentyminen estää *Xist*:n ilmentymisen lisääntymisen ja estää siten kyseisen X-kromosomin inaktivoitumisen. Tämän perusteella on ehdotettu, että *Tsix*:n ilmentyminen on tarpeellinen antagonisoimaan *Xist*:iä tulevassa aktiivisessa X-kromosomissa (Ahn & Lee, 2008).

Inaktivoituva kromosomi tiivistyy kahteen superdomeeniin, joita erottaa alue, joka sisältää konservoituneen pitkän ei-koodaavan *Dxz4*-RNA:n mikrosatelliittitoiston. *Dxz4*-RNA sisältää hyvin konservoituneen CTC-sitoutumiskohdan. CTCF-trankskriptiotekijän välittämät vuorovaikutukset *Dxz4*-lokusten ja muiden X-kytkettyjen lokusten välillä näyttävät olevan olennainen osa inaktivoituneen X-kromosomin pakkaamista kromatiinisilmukoiksi (Fang ym., 2019).

Firre on toinen X-kytketty pitkä ei-koodaava RNA-lokus, joka vaikuttaa inaktivoituneen X-kromosomin epigeneettisiin ominaisuuksiin sekä kolmiulotteiseen rakenteeseen. *Firre*-RNA:ta ilmennetään vain aktiivisesta X-kromosomista. *Firre*-RNA on rakenteiden ja ominaisuuksien säätelemisen lisäksi tärkeä inaktivoituneen X-kromosomin sijainnin ylläpitämiselle tumassa (Fang ym., 2019).

Pitkillä ei-koodaavilla RNA-lokuksilla *Xist*:llä, *Firre*:llä ja *Dxz4*:llä voi olla yhteinen rooli inaktivoituneen X-kromosomin kondensaatioissa ja eristämisessä tietyssä vaiheessa. Näin varmistuisi, että kumpikin kahdesta X-kromosomista säädellään eri tavalla. Tämä on kuitenkin kokeellisten tutkimusten haasteellisuuden vuoksi vielä vain hypoteesi (Fang ym., 2019).

4.2 Satunnainen ja ei-satunnainen X-inaktivaatio

Satunnainen X-inaktivaatio tapahtuu varhaisessa naaraan alkiossa, jossa molemmilla, maternaalisella ja paternaalisella X-kromosomilla on samanvertainen mahdollisuus inaktivoitua. Jokainen naaraan solu tunnistaa kaksi X-kromosomia samassa tumassa ja määrää kumpi X-kromosomi muutetaan inaktiiviseksi ja kumpi pidetään aktiivisena. Satunnaisen X-kromosomin inaktivaation seurauksena naaraiden somaattiset kudokset ovat mosaikkisia. Yleisin tunnettu esimerkki tästä on kilpikonnakissa (eng. calico cat), jonka värit ovat

jakautuneet hajanaisesti riippuen solun sisältämästä hiljennettävästä X-kromosomista. Leimatus X-inaktivaation tavoin tämä monimutkainen hiljentämisprosessi suoritetaan jokaisessa solussa *Xist*:in ja *Tsix*:n avulla (Ahn & Lee, 2008).

X-inaktivaatio on usein täysin satunnaista, mutta on esimerkkejä, jossa osittaista tai täysin ei-satunnaista X-kromosomin inaktivaatiota tapahtuu. Nämä tapahtumat voidaan jakaa primaarisiin ja sekundaarisiin mekanismeihin. Primaarista ei-satunnaista X-inaktivaatiota aiheuttaa inaktivoitavan kromosomin valinnan vinoutuneisuus. Sekundaarinen ei-satunnaisuus aiheutuu valintapaineesta soluja vastaan, jotka ovat päättäneet inaktivoita tietyn X-kromosomin (Newall, 2001).

Leimattu X-kromosomin inaktivoituminen on esimerkki primaarisesta ei-satunnaisesta X-inaktivaatiosta. Myös primaarista ei-satunnaista inaktivoitumista aiheuttavat mutaatiot *Xist*:issä ja *Tsix*:ssä. Yksi raportoitu sekvenssivariantti ihmisen *Xist*-geenin promoottorissa liittyi lähes täydelliseen kromosomin inaktivoitumiseen yhdessä sisarkromosomiparissa. 20–30 %:n vääristymä satunnaisesta inaktivaatiosta havaitaan hiirillä, joilla on alleelivariantteja X-ohjauselementti- tai Xce-lokuksesta (=X chromosome controlling element). Sekundaarista ei-satunnaisuutta aiheuttaa monet X:autosomin translokaatiot, joissa tapahtuu valintaa soluja vastaan, jotka sisältävät inaktivoituneen siirretyn X-kromosomin (Newall, 2001).

4.3 Leimattu X-inaktivaatio

Genominen leimaaminen viittaa kehittyvän alkion geenin ilmentymisen muovautumiseen sen mukaan kummalta vanhemmalta geeni on saatu. Genominen leimaantuminen tarkoittaa, että koiras- ja naaraspuoliset sukusolut tuottavat erilaista tietoa tsygootille. Pussieläinten ja kehittyvien hiirten alkioiden X-kromosomin inaktivaatio on leimattu tapahtumaan selektiivisesti isän X-kromosomissa. Hiirillä tapahtuu hetkellinen X-kromosomin uudelleenaktivointi, alkion kehittymisen jälkeen, jota seuraa satunnainen X-kromosomin hiljentäminen. Paternaalisen X-kromosomin leimaantumisen taustalla olevat mekanismit ja tapahtumat ovat edelleen epäselviä. On kuitenkin selvitetty, että mekanismeissa jommankumman tai molemman vanhemman sukusolulinja voi merkitä X-kromosominsa eri tavalla. Äidin merkki X-kromosomissa suojaa sitä inaktivaatiolta ja isän merkki toimii osoittajana, että kyseinen X-kromosomi inaktivoidaan. Leimatus X-inaktivaation vanhempikohtaiseksi säätelijäksi on todettu myös X-inaktivaatiokeskus (*Xic*) ja sen sisältämät *Xist* ja *Tsix*. *Xist* on leimattu ilmentymään ensisijaisesti paternaalisen X-kromosomin inaktivoinnin mukaisesti kiinnittymistä edeltävissä hiirten alkioissa. *Tsix* on leimattu

ilmentymään maternaalisesti ja saattaa tämän vuoksi olla tekijä, joka suojelee maternaalista X-kromosomia hiljentymiseltä kehittyvässä alkiossa (Namekawa ym., 2010).

X-inaktivaatiokeskus säätelee leimautumista nisäkkäillä, mutta sitä ei ole löydetty pussieläimiltä. X-inaktivaatiokeskuksen ja *Xist*:in puuttuminen indikoi, että pussieläimillä on vaihtoehtoinen tapa hiljentää yksi X-kromosominsa. Yksi mahdollinen mekanismi olisi koiraan sukusolulinjan paternaalisen X-kromosomin esihiljentäminen prosessissa, jossa kummatkin sukupuolikromosomit inaktivoidaan meioosin aikana. Tällöin hiljennetty X-kromosomi voitaisiin siirtää seuraavaan sukupolveen (Ahn & Lee, 2008). Epäillään, että meioottinen sukupuolikromosomin inaktivaatio (MSCI) on linkittynyt paternaalisen X-kromosomin leimautumiseen. Viimeaikaisten tutkimusten perusteella on todettu XY-hiljentämisen jatkuvan spermatogeneesin pitkään postmeioottiseen ajanjaksoon, joka tukee ajatusta, että tsygoottinen parentaalinen X-kromosomin hiljentäminen perustuu MSCI:hin ja sen jälkivaikutuksiin isän sukusoluissa. Sukusolulinjan ohjaama hiljentäminen tarjoaa vaihtoehtoisen leimausmekanismin, joka ei vaatisi X-inaktivaatiokeskusta pussieläimissä ja kompensoisi pussieläinten tsygoottin annostelun jo hedelmöitymisessä (Namekawa ym., 2010).

4.4 Inaktivoitujen X-kromosomin epigeneettiset ominaisuudet

Inaktiivinen X-kromosomi voidaan tunnistaa myöhäisen replikaationsa ja tiiviin heterokromatiinirakenteensa eli Barr-kappaleen avulla. Inaktiivisen X-kromosomin muu ominaisuus on sen histonien erilainen metylaatio- ja asetylaatio verrattuna aktiiviseen X-kromosomiin (Heard ym., 1997).

Inaktivoitu X-kromosomi replikoituu epäsynkronisesti ihmisten, hiirten sekä pussieläinten naaraiden soluissa, verrattuna aktiiviseen homologiinsa. Inaktiivisen X-kromosomin replikoituminen tapahtuu myöhäisessä solun S-vaiheessa. Myöhäistä replikaation ajoitusta käytetään usein kriteerinä inaktivoitujen X-kromosomin tunnistamiseksi ja X-kromosomiin siirtyneiden autosomaalisten alueiden inaktiivisen tilan määrittämiseksi. Geenit, jotka väistävät X-inaktivaatiota analysoitiin niiden replikaatiomallien mukaan ja huomattiin, että nämä väistyneet geenit inaktiivisella X-kromosomilla ja geenit aktiivisella X-kromosomilla replikoituivat synkronoidusti. Tämän perusteella voidaan tulkita, että yksittäisten X-kytkettyjen geenien replikaation ajoitus heijastaa niiden transkriptioaktiivisuutta enemmän kuin kromosomin inaktivaatiotilaa, jossa ne sijaitsevat (Heard ym., 1997).

Annoskompensaatio *Drosophila*-kärpäsissä, ihmisissä, hiirissä ja pussieläimissä liittyy lysiiniäännösten asetylaatiostatusten muutoksiin, jotka ilmentyvät aminoterminaalisisissa päissä. Näiden evoluutionaalinen säilyminen osoittaa histonin asetylaation perustavan roolin kromatiinidynamiikan ominaisuuksissa. Hiirten ja ihmisten inaktiivinen X-kromosomi on ehtynyt H2A-, H3- ja H4-histoneiden asetyloiduista isoformeista. Tämä saattaa viitata heterokromatiinisaatiossa pitkän kantaman histonin ali-asetylointiin. Hiiren inaktiivisen X-kromosomin H4-histonin ali-asetylointi johtuu todennäköisesti asetyylitransferaasi-aktiivisuuden vähenemisestä (Heard ym., 1997).

DNA:n metylaatio on tärkeä komponentti X-inaktivaatiolle sekä inaktiivisen tilan ylläpitämiselle. Vahvat todisteet viittaavat avainelementtien metylaation toimivan primaarisessa roolissa X-inaktivaation aikaansaamisessa. CpG-saaret, joilla on keskimäärää korkeampi CpG-dinukleotiditiheys ja esiintyvät usein geenien 5'-päissä, ovat vahvasti metyloituja somaattisten solujen inaktiivisissa X-kromosomeissa. Aktiivisessa kromosomissa niitä ei ole metyloitu. Istukallisten nisäkkäiden inaktiivisen X-kromosomin CpG-saarien hypermetylaatio on osallisena geenien inaktiivisen tilan ylläpitämisessä ja stabiloimisessa. Vastaavasti pussieläinten CpG-saarien hypometylaatio on liitetty X-inaktivoitujen geenien epävakauteen ja uudelleenaktivoitumiseen (Heard ym., 1997).

CpG-saarien metyloinnin on spekuloitu hiljentävän X-linkitettyjä genejä estämällä transkriptiofaktoreiden sitoutumista geenien promoottoreihin. Tätä hypoteesia on kuitenkin kritisoitu, sillä inaktiivisen X-kromosomin *Sp1*-transkriptiofaktori voi sitoutua sekä metyloituun että metyloitumattomaan DNA:han. Metylaatio voisi vaihtoehtoisesti estää transkription *MeCP1* ja *MeCP2* kaltaisten proteiinien sitoutumisella. Nämä proteiinit sitoutuvat metyloituun DNA:han ilman sekvenssispesifisyyttä. On myös ehdotettu, että tällaisten proteiinien sitoutuminen voisi olla vastuussa nukleaasien erilaiseen pääsyyn aktiiviseen ja ei-aktiiviseen X-kromosomiin (Heard ym., 1997).

4.5 X-inaktivaatiota väistävät geenit

X-inaktivaatio vaikuttaa suurimpaan osaan X-kromosomin geneistä, mutta jotkut geenit väistävät hiljentämistä. Väistävät geenit sijaitsevat pienellä alueella X-kromosomissa, joka pariutuu Y-kromosomin kanssa uroksen meioosin aikana. Aluetta kutsutaan PAR- tai XY-pariutumisalueeksi (Brockdorff & Turner, 2015). PAR-alueella sijaitseviin geneihin ei kohdistu annoskompensaatiota, sillä geneillä on toiminnalliset vastaavat alleelit X- ja Y-kromosomeissa uroksilla sekä molemmissa X-kromosomeissa naarailla. X-inaktivaatiolta

väistyviä geenejä on huomattu myös koiraiden meioottisissa soluissa, joissa meioottinen sukupuolikromosomin inaktivaatio (MSCI) tapahtuu. Solujen X-kytketyt mikro-RNA:t väistävät MSCI:n aiheuttamaa hiljentämistä, mutta niiden vaikutuksia ei vielä tunneta (Berletch ym., 2011).

Muut geenit, jotka väistävät X-inaktivaatiota sijaitsevat X-kromosomin p-käsivarrella, joka on evoluutionaalisesti katsottuna uusi segmentti. Naaraan X-kytketyistä geeneistä noin 15 % ovat väistäviä geenejä, kun vain 3 % hiirien X-kytketyistä geeneistä väistävät X-inaktivaatiota. Tämän perusteella voidaan päätellä hiirien X-inaktivaation olevan perusteellisempaa. Väistävien geenien jakautuminen X-kromosomilla ei ole satunnaista ja se vaihtelee ihmisen sekä hiiren välillä. Ihmisten väistävät geenit ovat rykelmissä, kun hiirillä yksittäiset väistävät geenit on sulautettu hiljennetyn kromatiinin alueisiin. Tämä ehdottaa, että hiirten geenien väistyminen voidaan ohjata yksittäisten geenien tasolla kromatiinidomeenien sijaan (Berletch ym., 2011).

Väistäville geeneille on vähemmän epigeneettisiä muutoksia, kuin tyypillisillä X-inaktivaatioissa hiljentyneillä geeneillä. Väistäneiltä geeneiltä, esimerkiksi *Kdm5c*- ja *Kdm6a*-geeneiltä, puuttuu *Xist*-RNA päällystyksi. Toistoelementtien jakautuminen voi myös olla tärkeää väistymis- ja inaktivaatioalueiden muodostumiselle. LINE-1 toistojen ylläilyminen X-kromosomissa on ehdotettu olevan tärkeä tekijä *Xist*-RNA:n ankkuroimisessa ja siten *Xist*:in leviämisen edistämiseksi. Väistyneiden geenien tutkimuksissa on huomattu, että X-inaktivaatiolta väistyneillä geeneillä on vähemmän LINE-1 toistoja (Berletch ym., 2011).

LINE-1-elementtien lisäksi muut toistot ja sekvenssiaiheet voivat olla osallisia geenien väistämiseksi. Tällaisia tekijöitä ovat hiirten ehtyneet pitkät päätetoistot (eng. long terminal repeats) sekä AT-rikkaat aiheet (eng. AT rich motif). Nämä havainnot viittaavat siihen, että DNA-sekvenssiaiheiden jakautuminen ja sisältö X-kromosomissa vaikuttavat hiljentymiseen sekä väistymiseen ohjaamalla *Xist*-RNA:n rekrytoitumista ja tiettyjen proteiinien sitoutumista, jotka vaimentavat geenejä inaktivoitavalla X-kromosomilla (Berletch ym., 2011).

Hiirillä tehdyt tutkimukset osoittavat, että jotkut hiljentymistä väistäneet geenit voidaan inaktivoita varhaisessa yksilönkehityksessä, mutta uudelleenaktivoita progressiivisesti kehitysvaiheessa. Pussieläinten geenien on havaittu väistävän X-inaktivaatiota jossain määrin. Tämä voi johtua yksilönkehityksen aikaisen hiljentyneen tilan ylläpitämisen epäonnistumisesta. Hiljentyneen tilan ylläpitämisen epäonnistuminen voi mahdollisesti johtua

CpG-saarien metylaation puuttumisesta inaktiivisessa X-kromosomissa (Brockdorff & Turner, 2015).

4.6 X-inaktivaatio ja sairaudet

X-kromosomin inaktivaatio ja genominen leimaaminen ovat tärkeitä epigeneettisiä prosesseja, jotka aiheuttavat sairauksia nisäkkäillä, jos niitä ei säännellä täsmällisesti. Vääränlaiset muutokset solun identiteetissä voivat laukaista myös kasvaimen kehittymisen. Urokset ovat herkempiä X-linkittyneille sairauksille kuin naaraat. Naaraita suojaa satunnaisen X-inaktivaation takaama riittävä määrä normaaleja soluja ja geenituotteita sekä vinoutunut X-inaktivaatio, joka suosii normaaleja soluja (Disteche, 2012).

Normaalisti noin puolet soluista ilmentää jompaakumpaa X-kromosomeista, mutta suhdeluvussa voi olla poikkeuksia. Ei-sattumanvaraiset X-inaktivaatiomallit voivat aiheuttaa fenotyypisiä vaihteluita useissa ihmisten sairauksissa, jotka liittyvät mutaatioihin yhdessä X-kromosomissa naispotilailla. Tällaisia sairauksia ovat esimerkiksi *Incontinentia pigmenti* ja Rett-oireyhtymä. *Incontinentia pigmenti* on X-kytketyn mutatoituneen *NEMO*-geenin aiheuttama sairaus, joka aiheuttaa potilaalle kaarimaisia hyperpigmenttiläiskiä iholle. Rett-oireyhtymässä X-kytketyn *MeCP2*-geenin mutaatiot aiheuttavat vakavia neurologisia oireita, joiden on huomattu korreloivan X-kromosomin vinoutuneen inaktivaation kanssa. Ei-satunnaisia X-inaktivoinnin malleja on huomattu myös naisvaltaisten autoimmuunisairauksien kehittämisessä (Agrelo & Wutz, 2010).

Ei-satunnaisuus X-inaktivaatiossa liittyy usein mutaatioihin tai yhden X-kromosomin rakenteellisiin muutoksiin, mutta tapahtuman tarkkaa syytä ei vielä tiedetä. On kuitenkin todennäköistä, että X-kromosomiin kohdistuvat mutaatiot voivat vaikuttaa X-inaktivaatiomalleihin, joko soluvalinnalla kehityksen aikana tai vaikuttamalla suoraan inaktivoitavan X-kromosomin valintaan (Agrelo & Wutz, 2010).

Lukuiset tutkimukset koskien X-kromosomien menettämistä sekä saamista ovat raportoineet laajan korrelaation X-inaktivaation ja syöpäkasvainten kehityksen välillä. Esimerkiksi useissa tapauksissa kivesten sukusolukasvaimissa esiintyy lisääntynyt määrä X-kromosomeja sekä 12- ja 17-kromosomeja. Tämän lisäksi havainto aktiivisesta metyloitumattomasta *Xist*-promoottorista on ehdotettu olevan tuntomerkki kasvaindiagnoosille. Eturauhassyövässä on raportoitu esiintyvän alimetyloitu *Xist*-promoottori, vaikkakin kyseisessä syövässä *Xist*:iä ei löydetty ilmentyneenä. Lisäksi ylimääräisen X-kromosomin saanti on yleinen pahanlaajuisten lymfoomien karyotyypinen muunnos (Agrelo & Wutz, 2010).

Munasarjasyövässä on huomattu *Xist*:n ilmentymisen tason korreloivan potilaiden kemoterapian vasteen kanssa. *Xist*:n ilmentymisen todettiin vähentyneen uusiutuviassa kasvaimissa ja *Xist*:in ilmentymisen taso korreloi Taxol-lääkettä käyttävien potilaiden syöpävapaan ajan kanssa. *Xist*:in ilmentymisen puuttumista, uusiutuviassa munasarjasyövissä, selittäisi inaktiivisen X-kromosomin menetys kasvainsoluissa. Inaktiivisen X-kromosomin menetys voi olla seurausta syöpäsolujen genomisesta epävakaudesta. Inaktiivisen X-kromosomin menetys voisikin toimia hyödyllisenä tunnusmerkkinä kasvaimien aiheuttamien naistensyöpien etenemiselle (Agrelo & Wutz, 2010).

Ylimääräisten aktiivisten X-kromosomien saanti havaitaan kaikissa rintasyövissä ja siihen liittyy huomattava *Xist*:n ilmentymisen heterogeenisyys. *Xist*:n ilmentymisen aktivointia on huomattu myös aktiivisissa X-kromosomeissa. X-inaktivaation on raportoitu puuttuvan tietyssä joukossa 1-tyyppin rintasyöpien syöpäsoluja. *Xist*:in ilmentymisen ja X-kromosomimäärän analyysit saattavat tarjota mahdollisuuksia kehittää diagnostisia tunnistusmerkkejä, joilla voi saada tarkkoja kasvaintyyppispesifisiä tulkintoja (Agrelo & Wutz, 2010).

5. Yhteenveto

X-kromosomin inaktivaatio on kriittinen epigeneettinen mekanismi geenituotteiden annostelulle sukupuolien välillä nisäkkäillä. Tämän annoskompensaation molekulaariset mekanismit sisältävät sukupuolikromosomikohtaisia proteiinikomplekseja, ei-koodaavia RNA:ita sekä tietynlaisia kromosomirakenteellisia ja -paikallisia ominaisuuksia. X-kromosomin inaktivaatiolle tärkeimmät proteiinikompleksit ja ei-koodaavat RNA:t ovatkin X-inaktivaatiokeskus ja sen sisältämät *Xist*-RNA sekä *Tsix*-RNA (Heard ym., 1997).

Monet X-inaktivaation tunnuspiirteet, kuten myöhäinen replikaatio, erilaiset histonien metylaatiot ja asetylaatiot sekä geenien ilmentymisen inaktivaatio ovat fysiologisia ja biologisia ominaisuuksia, jotka liittyvät heterokromatiinin muodostumiseen. Ne esiintyvät myös useissa epigeneettisesti kontrolloiduissa ilmiöissä. Nisäksnaaraiden X-inaktivaatio ja genomisen leimaaminen eroavat kuitenkin muista epigeneettisistä ilmiöistä siinä, että kromosomaaliset homologit tunnistetaan samassa solussa, mutta käsitellään eri tavalla. Tässä suhteessa nisäkkään X-kromosomin inaktivaatio eroaa selvästi eleganssimadon ja hedelmäkärpäsen annoskompensaatiomekanismeista (Heard ym., 1997).

X-kromosomin inaktivaatioprosessien eroavaisuudet istukallisilla nisäkkäillä ja pussieläimillä tuovat esiin kysymyksiä evolutiivisesta näkökulmasta. Jos paternaalinen X-kromosomi on

inaktivoitu kaikissa varhaisissa preimplantaation alkioissa, miksi X-kromosomi aktivoidaan ja sitten inaktivoidaan satunnaisesti uudelleen? Kysymyksen vastauksena on ehdotettu, että satunnainen X-kromosomin inaktivaatio kehittyi istukallisilla nisäkkäillä tuomaan lisämahdollisuuden selviytyä X-kytketyistä mutaatioista. Leimautumisesta johtuvan paternaalisen X-kromosomin inaktivoitumisen vuoksi X-kromosomin ilmentymisen kuorma kohdistuu maternaaliseen X-kromosomiin. Satunnainen X-kromosomin inaktivoituminen lievittää äidin X-kromosomin mutaatioiden aiheuttamaa taakkaa. Satunnainen X-inaktivaatio on myös toiminnaltaan perusteellisempaa, kuin leimattu X-inaktivaatio (Ahn & Lee, 2008).

X-kromosomin inaktivaatio on laajasti tutkittu aihe, jota on tutkittu jo yli 60 vuoden ajan. Vuosien myötä inaktivaation erilaisia keskeisiä ominaisuuksia ja mekanismeja on selvitetty. Esimerkkejä tällaisista avainlöydöistä ovat esimerkiksi Murray Barrin löytämä Barr-kappale ja Mary F. Lyonin tutkima X-linkittyneiden geenien erilainen ilmentyminen. Viimevuosien aikana annoskompensaatiomekanismien tutkimukset ovat tuottaneet korvaamatonta tietoa perustavanlaatuisista epigeneettisistä mekanismeista ja geeniekspression säännöstelyn malleista. Tutkimusten lisäämä tiedon määrä on mahdollistanut edistyksen muilla samankaltaisilla epigenetiikkaa tutkivilla osa-alueilla. Kehityksestä huolimatta on vielä paljon kysymyksiä, jotka jäävät vastaamatta. Selvittämättömiä tekijöitä ovat esimerkiksi *Xist*-RNA:n laukaisema kromosomin hiljentämissignaali, X-kromosomien laskennallinen mekanismi, hiljentymisen yksityiskohtaiset mekanismit ja ylläpito, X-inaktivaation kumoaminen tietyissä solutyypeissä ja kehityksen vaiheissa sekä kriittisten geenien hiljentymisen väistämismekanismit (Brockdorff & Turner, 2015).

X-inaktivaation tutkiminen voi tuoda uusia näkökulmia vahvasti tutkittujen ihmisten ongelmien, kuten syövän ja geneettisten häiriöiden hoitoon. X-inaktivaatio on loistava mallisysteemi, jonka avulla voidaankin tutkia laajoja kehityksellisiä ja epigeneettisiä prosesseja. Monet näistä prosesseista ovat silti huonosti tunnettuja ja jättävät aihetta perusteellisemmille tutkimuksille tulevaisuudessa.

6. Lähteet

Agrelo, R., & Wutz, A. (2010). ConteXt of change—X inactivation and disease. *EMBO Molecular Medicine*, 2(1), 6–15. <https://doi.org/10.1002/emmm.200900053>

Ahn, J., & Lee, J. (2008). X Chromosome: X Inactivation. *Nature Education*, 1(1), 24.

- Berletch, J. B., Yang, F., Xu, J., Carrel, L., & Disteche, C. M. (2011). Genes that escape from X inactivation. *Human Genetics*, *130*(2), 237–245. <https://doi.org/10.1007/s00439-011-1011-z>
- Brockdorff, N., & Turner, B. M. (2015). Dosage Compensation in Mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(3): a019406. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019406>
- Disteche, C. M. (2012). Dosage Compensation of the Sex Chromosomes. *Annual Review of Genetics*, *46*(1), 537–560. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155454>
- Fang, H., Disteche, C. M., & Berletch, J. B. (2019). X Inactivation and Escape: Epigenetic and Structural Features. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *7*, 219. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00219>
- Gelbart, M. E., & Kuroda, M. I. (2009). *Drosophila* dosage compensation: a complex voyage to the X chromosome. *Development*, *136*(9), 1399–1410. <https://doi.org/10.1242/dev.029645>
- Heard, E., Clerc, P., & Avner, P. (1997). X-CHROMOSOME INACTIVATION IN MAMMALS. *Annual Review of Genetics*, *31*(1), 571–610. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.31.1.571>
- Kim, J. K., Samaranyake, M., & Pradhan, S. (2009). Epigenetic mechanisms in mammals. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *66*(4), 596–612. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8432-4>
- Lau, A. C., & Csankovszki, G. (2015). Balancing up and downregulation of the *C. elegans* X chromosomes. *Current Opinion in Genetics & Development*, *31*, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2015.04.001>
- Lau, A. C., Nabeshima, K., & Csankovszki, G. (2014). The *C. elegans* dosage compensation complex mediates interphase X chromosome compaction. *Epigenetics & Chromatin*, *7*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/1756-8935-7-31>
- Lucchesi, J. C., Kelly, W. G., & Panning, B. (2005). Chromatin Remodeling in Dosage Compensation. *Annual Review of Genetics*, *39*(1), 615–651. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.073003.094210>
- Lucchesi, J. C., & Kuroda, M. I. (2015). Dosage Compensation in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(5): a019398. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019398>
- Marín, I., Siegal, M. L., & Baker, B. S. (2000). The evolution of dosage-compensation mechanisms. *BioEssays*, *22*(12), 1106–1114. [https://doi.org/10.1002/1521-1878\(200012\)22:12<1106::AID-BIES8>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/1521-1878(200012)22:12<1106::AID-BIES8>3.0.CO;2-W)
- Monkhorst, K., Jonkers, I., Rentmeester, E., Grosveld, F., & Gribnau, J. (2008). X Inactivation Counting and Choice Is a Stochastic Process: Evidence for Involvement of an X-Linked Activator. *Cell*, *132*(3), 410–421. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.036>

- Namekawa, S. H., Payer, B., Huynh, K. D., Jaenisch, R., & Lee, J. T. (2010). Two-Step Imprinted X Inactivation: Repeat versus Genic Silencing in the Mouse. *Molecular and Cellular Biology*, *30*(13), 3187–3205. <https://doi.org/10.1128/MCB.00227-10>
- Newall, A. E. T. (2001). Primary non-random X inactivation associated with disruption of Xist promoter regulation. *Human Molecular Genetics*, *10*(6), 581–589. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.6.581>
- Sass, G. L., Pannuti, A., & Lucchesi, J. C. (2003). Male-specific lethal complex of *Drosophila* targets activated regions of the X chromosome for chromatin remodeling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(14), 8287–8291. <https://doi.org/10.1073/pnas.1332749100>
- Wutz, A., & Gribnau, J. (2007). X inactivation Xplained. *Current Opinion in Genetics & Development*, *17*(5), 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.08.001>
- Zhang, G., & Pradhan, S. (2014). Mammalian epigenetic mechanisms. *IUBMB Life*, *66*(4), 240–256. <https://doi.org/10.1002/iub.1264>