

# Epigenetičko utišavanje kromosoma X

---

**Kužet, Sanya Eduarda**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2012**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:337535>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-05**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

**EPIGENETI KO UTIŠAVANJE KROMOSOMA X  
EPIGENETIC SILENCING OF X-CHROMOSOME**

Sanya Eduarda Kužet  
Preddiplomski studij biologije  
(Undergraduate Study of Biology)  
Mentor: prof. dr. sc. Vlatka Zoldoš

Zagreb, 2012.

## **SADRŽAJ**

1. UVOD .....	1
2. UTIŠAVANJE.....	2
3. INAKTIVACIJA POMOĆ U MOLEKULA XIST.....	3
4. XIST MOLEKULA .....	5
4.1 <i>Regulacija i funkcija Xist molekule</i> .....	5
4.2. <i>Stabilnos Xist molekule</i> .....	5
4.3. <i>Funkcija Xist molekule</i> .....	6
5. MODIFIKACIJA HISTONA.....	7
6. BIJEK INAKTIVACIJE X KROMOSOMA .....	9
7. BARROVO TJELEŠĆE.....	10
8. CALICO I „TORTOISE-SHELL“ MAŠKE.....	11
9. DOKAZI X – INAKTIVACIJE.....	14
10. ZAKLJUČAK.....	15
11. LITERATURA.....	16
12. SAŽETAK.....	17
13. SUMMARY.....	18

## 1. UVOD

---

Za razliku od genski siromašnog kromosoma Y, kromosom X sadrži preko 1, 000 gena koji su esencijalni za pravilan razvoj i vijabilnost stanice. Ipak, ženske jedinke nose dvije kopije kromosom X, rezultiraju i potencijalno toksičnom duplom dozom X- vezanih gena. Da bi se ispravio ovaj disbalans, ženke sisavaca su razvile jedinstven mehanizam kompenzacije doze. To nije, procesom inaktivacije kromosoma X ženke sisavaca utišavaju transkripciju s jednog od dva kromosoma X složenim i visoko koordiniranim procesom. Transkripcijski inaktivan kromosom X se tada kondenzira u kompaktnu strukturu nazvanu Barrovo tjelešce i ostaje u utišanom stanju.

U svom seminarskom radu baviti se mehanizmima epigenetičkog utišavanja kromosoma X koje ima važnu ulogu u spolno dimorfnih vrsta, osiguravaju i jednaku ekspresiju gena sa spolnih kromosoma u oba spola.

Riječ je o jedinstvenoj biološkoj slagalici: kako utišati jedan, a ne drugi kromosom X u istoj jezgri; kako prebrojati kromosome X i održati samo jedan aktivnim; kako odabrati koji kromosom X utišati; i kako uspostaviti utišano stanje dovoljno brzo i u inkubito tijekom ranog razvoja.

Glavni element i odgovor u svim ovim procesima je jedinstveni lokus, X-inaktivacijski centar (XIC) i RNA koju kodira gen – Xist.

## 2. UTIŠAVANJE

---

Utišavanje ili lionizacija je proces u kojem jedna od dvije kopije kromosoma X prisutnih u ženki neke spolno dimorfne vrste biva inaktivirana. Inaktivacija samog kromosoma X se postiže ne više na ina, jedna od njih je i pakiranje u transkripcijski inaktivan heterokromatin.

Inaktivacija kromosoma X se može svesti u 3 glavna koraka:

- 1.) **prebrojavanje**, određuje se broj kromosoma X u diploidnim stanicama tako da svaki kromosom X osim jednog bude inaktiviran (n-1 pravilo)
- 2.) **odabir**, u ranom post-implantacijskom embriju ili matičnim stanicama prije diferencijacije odabire se ili majčin ili očev kromosom X za inaktivaciju
- 3.) **proces inaktivacije**, s X inaktivacijskog centra (XIC) se prepisuje velika nekodirajuća RNA (Xist) koja obavija kromosom X i inaktivira ga serijom epigenetičkih markera

Utišavanje jednog od dva kromosoma X kod ženskih jediniki se događa u ranim fazama razvoja, najčešće oko 16. dana embrionalnog razvoja. Inicijacija X inaktivacije uključuje prepoznavanje u kojem se prebrojava broj kromosoma X tako da u diploidnoj odrasloj stanici ostaje jedan funkcionalan kromosom X. Inicijacija još uključuje proces odabira, u kojem jedan od dva kromosoma u ženskoj stanici biva preferencijalno selektiran za utišavanje.

Neaktivni kromosom X se razlikuje od aktivnog na više načina; poput acetilacije histona, alocikličke replikacije te metilacije DNA. Utišavanje X-vezanog gena i nesinhronizirana replikacija slijede vrlo brzo, oboje prethode hipoacetilaciji histona, akumulaciji varijante histona H2 karakteristične za kromosom X (macroH2A), metilaciji DNA koja funkcionira kao mehanizam održavanja inaktiviranog stanja kromosoma X.

(<http://www.blatny.com/Epigenetika2007/2007-11-06/papers/Avner%202001.pdf>)

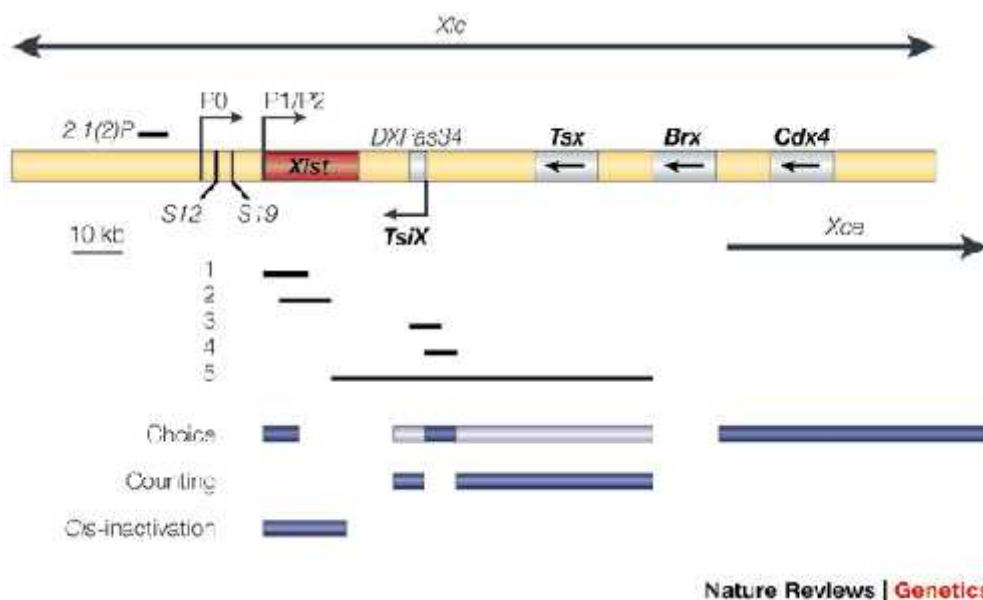
### 3. INAKTIVACIJA POMOĆU MOLEKULE XIST

Inicijacija X-inaktivacije je pod kontrolom X-inaktivacijskog centra (*Xic*) i utjecajem X kromosomskog kontrolnog elementa (*Xce*), koji uzrokuje primarnu nasumičnu X-inaktivaciju. Kromosom X koji nosi jaki *Xce* alel ima veću vjerojatnost ostati aktivan u odnosu na onoga koji nosi slabi alel.

Transkripcijski produkt inaktivacijskog centra, već spomenuta nekodirajuća RNA, igra najvažniju ulogu. Oblaže kromosom X u *cis* konformaciji i potiče utišavanje. Samo obavijanje molekule *Xist* oko kromosoma inducira kaskadu kromatinskih promjena na kromosomu X što ga dovodi u inaktivno stanje koje je u početku labilno, ali se može stabilizirati epigenetičkim oznakama poput DNA metilacije.

Definirano citološki, XIC je regija duga 1 Mb koja sadrži razne elemente koji imaju ulogu u X inaktivaciji i najmanje 4 gena (*Xist*, *Tsix*, *Jpx* i *Ftx*). *Xist* doprinosi XIC funkciji i potrebna je za X inaktivaciju. Drugi elementi koje pronalazimo imaju funkciju kontrole ekspresije molekule *Xist* ili brojanja i odabira.

(<http://www.blatny.com/Epigenetika2007/2007-11-06/papers/Avner%202001.pdf>)



**Slika 1.** X-inaktivacijski centar – pregled genskih elemenata unutar regije XIC koji utječu na odabir, brojanje i *cis*-inaktivaciju prilikom inicijacije X inaktivacije.

Uz Xist, još jedna velika ne-kodirajuća RNA, Tsix, velikim dijelom sudjeluje u regulaciji na in da se transkribira u suprotnom smjeru od Xist i dijelom se preklapa s njom što ukazuje da je ta antisense RNA negativni regulator aktivnost Xist.

## 4. XIST MOLEKULA

---

Xist (X-inactive specific transcript) se eksprimira ekskluzivno sa inaktivnog kromosoma X, produciraju i poliadenilirani transkript dug 17- kb koji se zadržava u jezgri. Smatra se da je Xist transkript primarni signal za širenje inaktivnog stanja duž kromosoma, ali sama Xist se ne uključuje u brojanje. Tijekom nasumične X inaktivacije, brojanje i odabiranje mora biti provedeno, ili popraćeno, početkom inicijacije oblaganjem vjerojatno aktivnog kromosoma X Xist molekulom

### 4.1. Regulacija i funkcija Xist molekule

Prije početka nasumične X inaktivacije u razvoju embrija, Xist se eksprimira u malim količinama sa svakog XIC u stanici. Xist se prvo akumulira i prekriva budući neaktivan kromosom X, dok se u aktivnom kromosomu Xist gen utišava. Početak inaktivacije je, dakle, direktno povezano s akumulacijom Xist RNA u stanici.

Postoji regija u kromosomu koja nije prekrivena Xist molekulom, pericentrična ili pseudoautosomalna regija

### 4.2. Stabilnost Xist molekule

Regulacija Xist molekule se vrši s jednog alela i povezana je s povećanjem u poluživotu Xist RNA. Promjena u stabilnosti je posljedica promjene promotora Xist molekule, naime postoje dva promotora, P1 i P2, koja se koriste u prepisivanju stabilnog Xist transkripta. Treći promotor (P0) koji se nalazi 6kb uzvodno generira nestabilan Xist transkript koji se nalazi u stanicama koje još nisu prošle X inaktivaciju. Nije još u potpunosti razjašnjeno da li P0 zaista sudjeluje u stvaranju nestabilnog transkripta jer su istraživanja pokazala da nestabilan transkript može nastati i kad je P0 deletiran. Također postoje indicije da hiperacetiliranje H4 histona ima ulogu u aktivnosti Xist RNA prije i za vrijeme inicijacije X inaktivacije.



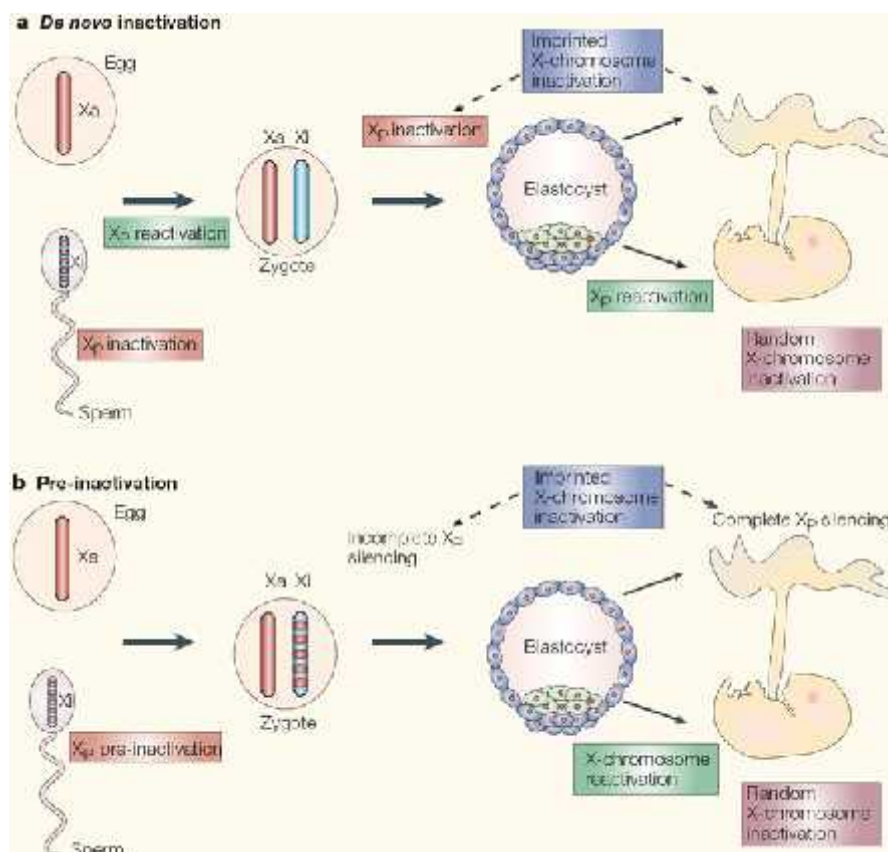
### 4.3. Funkcija Xist

Važnost Xist u procesu X-inaktivacije je pokazana u raznim eksperimentima koji su uključivali *loss- and gain- of function*.

RNA Xist obavija cijeli kromosom X pokrećući i seriju epigenetičkih modifikacija koje uključuju: aktivaciju proteinskog kompleksa EED-EZH2, metilaciju lizina 27 na histonu H3 (H3K27me3), hipoacetilacija H3 i H4 i hipometilaciju H3K4 te trimetilaciju H3K9m3.

(<http://www.blatny.com/Epigenetika2007/2007-11-06/papers/Avner%202001.pdf>)

Ipak, inaktivacije kromosoma X mehanizmom genskog utiska, koja se događa u neplacentarnih sisavaca odnosno tobož, prilikom zygote se preferira utišavanje ovog kromosoma X (koji nosi utisak), razlikuje se u nekim aspektima od nasumične inaktivacije kromosoma X.



**Slika 2.** Razlika u inaktivaciji kod nasumične inaktivacije i inaktivacije kromosoma X mehanizmom genskog utiska (preuzeto s <http://www.nature.com/scitable/topicpage/x-chromosome-x-inactivation-323>)

## 5. MODIFIKACIJA HISTONA

---

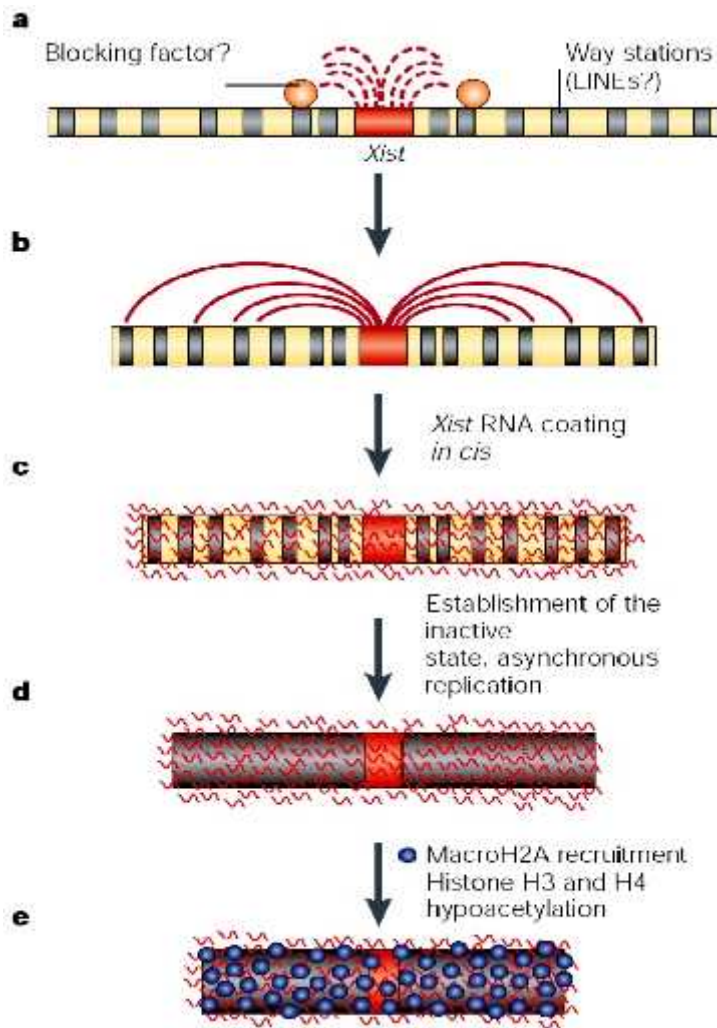
Histoni povezani s inaktivnim kromosomom X su hipoacetilirani, hipometilirani na H3K4 i hipermetilirani na H3K9 i H3K27 pozicijama. Sve ove modifikacije su oznake represivnog stanja kromatina. Metilacije na H3K9 i H3K27 pozicijama su oboga ene u definiranim, nepreklapaju im domenama po inaktivnom kromosomu X. H3K9 metilirane domene su povezane s proteinom HP1 (analoan PEV<sup>1</sup>-u) i H4K20 metilacijom, a H3K27 metilacija je povezana s makroH2A histonima i zakašnjenjem u procesu inaktivacije kromosoma X.

Važnu ulogu u inaktivaciji kromosoma X igraju i PcG proteini (Polycomb Group Proteins) jer kataliti ka podjedinica EZH2 Polycomb represivnog kompleksa 2 (PRC2) metilira H3K27 na inaktivnom kromosomu X koji je vezan na represivni kompleks 1 (PRC1). Deacetilacija histona se nastavlja nakon djelovanja PRC1 i PRC2 i CpG metilacije inaktivnog kromosoma X. Polycomb grupa predstavlja proteinski kompleks epigeneti ke mašinerije koji remodelira kromatinsku strukturu prije avaju i eskpresiju gena (Lanza, 2009).

Inaktivni kromosom X utišan epigeneti kim modifikacijama se jasno razlikuje od inaktivnog jer se nalazi na periferiji stanice kao kondenzirani heterokromatin. Ljudskim stanicama taj se kondenzirani hetrokoromatin još naziva i Barrovo tjelešće.

---

<sup>1</sup> PEV (position-effect variegation) - geni bivaju utišani zbog premještanja unutar heterokromatina



**Slika 2.** Model X inaktivacije (slika preuzeta s <http://www.blatny.com/Epigenetika2007/2007-11-06/papers/Avner%202001.pdf>)

- a)** Prije inaktivacije *Xist* RNA je eksprimirana u nestabilnom obliku (iscrtane crvene linije) i blokiraju i faktori sprije avaju asocijaciju *Xist* s kromosomom
- b)** *Xist* RNA postane stabilizirana, otpuštaju se blokiraju i faktori
- c)** Stabilna *Xist* obavija kromosom X prije njegove inaktivacije
- d)** Transkripcijsko utišavanje gena na kromosomu X se doga a kao posljedica njegovog oblaganja s *Xist* RNA molekulom
- e)** Kromatinske modifikacije, poput deacetiliranja i metiliranja histona u podru ju promotora X-vezanih gena

## 6. BIJEG INAKTIVACIJI

---

. Kao rezultat inaktivacije kromosoma X, dva kromosoma mogu koegzistirati u istoj jezgri, podvrgnuti istim transkripcijskim faktorima, a s u potpunosti različitom ekspresijom gena. No ipak, relativno velik broj gena na inaktivnom kromosomu X, otprilike 15% od ukupnog, ostane transkripcijski aktivan. Ovi lokusi sadrže epigenetičke oznake aktivnog kromatina (primjerice, hiperacetilirane histone i metilirane histone na poziciji Lys 4 H3K4me) te su bialelno eksprimirani i sinhronizirano replicirani sa odgovarajućim aktivnim kromosomom X. Ova pojava upućuje na neki geni „bježe“ svim aspektima inaktivacije kromosoma X.

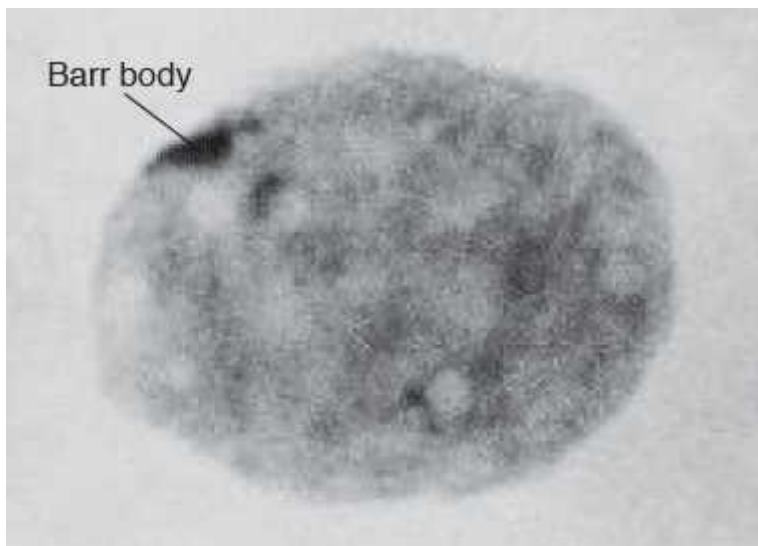
Ovi geni imaju funkcionalne homologe na kromosomu Y. Dakle, postoje dva alela u stanicama muških i ženskih jedinki. Neki geni bježe inaktivaciji bez obzira na nedostatak homologije s kromosomom Y. Bijeg inaktivaciji je vrlo važan u nekih bolestima kao npr Turnerovog sindroma gdje nedostatak drugog kromosoma X uzrokuje tjelesne i mentalne anomalije. Što manji broj gena izbjegne inaktivaciju, fenotip jedinke je više nalik normalnom. (<http://www.turner-syndrom.dk/doc/videnskab/Dosagecompensation5.pdf>)

## 7. BARROVO TJELEŠĆE

---

Murray Llewellyn Barr i njegov student Ewart George Bertram su 1948. godine otkrili strukturu u jezgrama neurona hipoglosusa mozga ženki mačka, nazvanu Barrovo tjelešće. Barrovo tjelešće nastaje procesom lionizacije u ranom embrionalnom razvoju tjelesnih stanica ženske jedinke. Zapravo se radi o inaktivnom i heterokromatiziranom kromosomu X. Barrovo tjelešće se lako uočava interfaznim jezgrama, posebno u svjetlosnog mikroskopa te je smješteno blizu jezgrine ovojnice.

Kod ljudi, a i većine sisavaca i spolno dimorfnih vrsta, broj Barrovih tjelešćaca vidljivih tijekom interfaze je uvijek jedan manje od ukupnog broja kromosoma X. Najčešće Barrova tjelešća pronalazimo u stanicama ženskih jedinki (XX), no moguće, iako rijetko, da i muške jedinke imaju takve strukture. Na primjer, muškarac s kariotipom 47, XXY (Klinefelterov sindrom) ima jedno Barrovo tjelešće, dok za usporedbu žena s kariotipom 47, XXX ima dva Barrova tjelešća. ([http://en.wikipedia.org/wiki/Barr\\_body](http://en.wikipedia.org/wiki/Barr_body))



**Slika 3.** Barrovo tjelešće (*nepoznat izvor*)

## 8. CALICO I „TORTOISE-SHELL“ MA KE

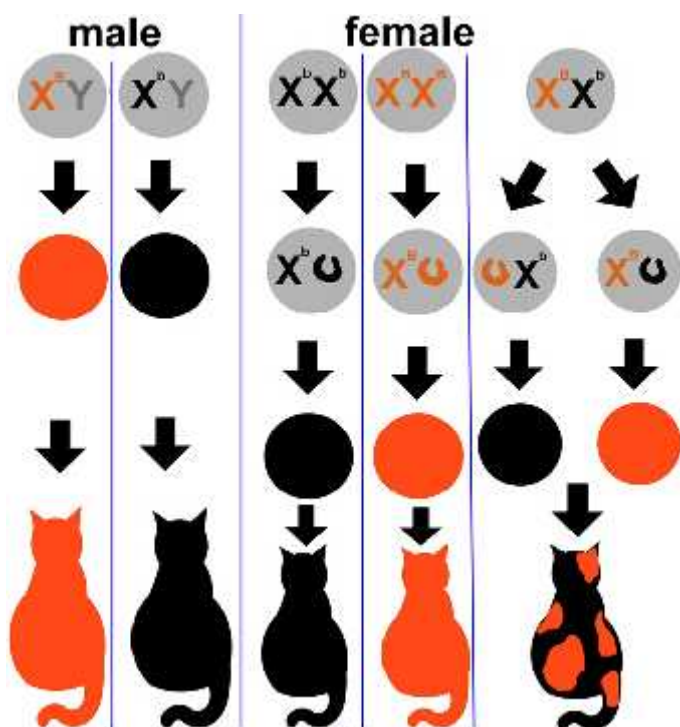
---

Jedan od najpoznatijih, najuo ljivijih i najzanimljivijih primjer inaktivacije jednog kromosoma X je fenomen *tortoise-shell* (ma ka boje kornja evine) i calico ma ke. Rije je o boji krzna kod domaćih maćaka. Ma ka boje kornja evina ima šareno naranasto-crno krzno, dok se calico ma ka još naziva i „kornja evina s bijelim“ jer dominira bijelo krzno s naranastim i crnim šarama.

Kod maćaka, jedan od nekoliko gena koji kontroliraju boju krzna se nalazi na kromosomu X. Postoje dvije varijante tog alela, jedna kodira za naranasto krzno ( $X^B$ ), a druga za crno ( $X^b$ ). Gen za naranasto krzno je dominantan nad onim za crno. Kod mužjaka koji su hemizigoti s dva moguća genotipa  $X^bY$  i  $X^BY$ , fenotip odgovara ekspresiji jedinog alela - maćak će biti ili crne ili naranaste boje. Ženka ma ke može biti heterozigot za to svojstvo ( $X^BX^b$ ). Normalno, to bi značilo da će ženka ma ke koja je heterozigot imati naranasto krzno, no to nije slučaj. Ma ka ovakvog genotipa ima šareno krzno, dijelove s naranastim i dijelove s crnim krznom. Ma ka takvih šara se naziva „ma ka boje kornja evine“.

Već je rečeno da u ranom embrionalnom razvoju svake ženke sisavca dolazi do inaktivacije jednog kromosoma X i nastanka Barrovog tjelešca. Kod maćaka se taj proces zbiva dok je oplođena stanica još u formi blastule i svotkivo koje nastaje od stanice u kojoj je npr. inaktiviran kromosom X s dominantnim genom koji određuje naranastu boju dlake i ekspimirati crno krzno. Što se inaktivacija jednog kromosoma X dogodi ranije u razvoju već u području krzna biti iste boje jer će nastati većim brojem staničnih dioba. Ova pojava se još naziva i mozajna ekspresija. (<http://www.bio.miami.edu/dana/dox/calico.html>)

Iako ne često, i mužjak može imati jednak raspored boja krzna, no samo u slučaju da nosi dva kromosoma X (kromosomska abnormalnost) uz postojeći kromosom X. Tada, kao i kod ženke dolazi do heterozigotnosti i inaktivacije jednog od dva prisutna kromosoma X.



Slika 4. Povezanost fenotipa (krzno

boje kornja evine) i inaktivacije kromosoma X u ženki mačka (slika preuzeta s <http://www.bio.miami.edu/dana/dox/calico.html>)



Slika 5. Mačka boje kornja evine

(slika preuzeta s [http://listography.com/CaitlinRose721/pets/future\\_farm](http://listography.com/CaitlinRose721/pets/future_farm))

Kod calico ma ke za bijelu boju krzna je odgovoran autosomalni gen, dok su naranasto-crne dlake određene ekspresijom dominantnog, odnosno recesivnog X-vezanog alela.



**Slika 6.** Calico ma ka (slika preuzeta s <http://www.our-happy-cat.com/calico-cat-a-cat-poem.html>)



## 9. DOKAZI INAKTIVACIJE KROMOSOMA X

---

U prilog inaktivaciji kromosoma X idu brojna biokemijska istraživanja osoba koje su heterozigoti za neko spolno-vezano svojstvo. Kod svih heterozigotnih prenositeljica bolesti neka fenotipska svojstva su različita od onih u zdrave osobe.

Neke od takvih bolesti su:

Hemofilija A i B

Duchennova mišićna distrofija

Daltonizam

X-vezana ihtioza

G6PD

Kao dobar primjer uzima se hemofilija. Majka, koja je nositeljica alela za hemofiliju je heterozigot za to svojstvo (genotip  $X^H X^h$ ) i zdrava je, ali zato kolikina antihemofilijskog faktora u takve osobe varira. Najčešće je prisutna polovikolikina u odnosu na zdravu osobu, homozigotne žene i hemizigotnog muškarca. Razlog tome je mozaicizam stanica kod žene koji je posljedica nasumične inaktivacije jednog od dva kromosoma X.

Nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD) je također jedna od spolno-vezanih recesivnih nasljednih bolesti koju karakterizira niska stopa glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Taj metabolički enzim je uključen u put pentoza fosfata i igra važnu ulogu u metabolizmu crvenih krvnih stanica. Bolest se još naziva i favizam. Heterozigotna žena pokazuje intermedijarni odgovor na neki stimulans odnosno lijek. Također, ako usporedimo osobe normalnog kariotipa s osobama kariotipa XXX i XXY, možemo uočiti da je kolikina enzima ista što znači da je samo jedan X aktivan.

## 10. ZAKLJUČAK

---

Od 28. veljače 1953. kada su James Watson i Francis Crick otkrili „tajnu života“, danas nam dobro poznatu dvostruku uzvojniju molekule DNA, prošlo je 59 godina, a znanost o nasljeđivanju se razvija brzinom koju nitko nije očekivao.

Epigenetika, kako joj i samo ime govori (gr. epi- nad, iznad, na) je znanost koja izlazi iz postavljenih okvira i ima drugačiji pogled na proces nasljeđivanja. Odnosi se na funkcionalno važne modifikacije genoma koje ne uključuju promjene u slijedu nukleotida. Primjeri takvih promjena su metilacija DNA i modifikacija histona te su navedeni u ovom kratkom pregledu kroz fascinantan svijet kontrole ekspresije spolnog kromosoma X. Brojni znanstveni članci su napisani na navedenu temu, brojna istraživanja provedena, a još uvijek neki od mehanizama nisu sasvim razjašnjeni. Također, epigenetika nas uči da geni nisu jedini vladari života nego da je međudjelovanje okoliša i nasljedne jedinice jednako važno.

Dvojeku, kao samo jednoj od vrsta unutar carstva *Animalia*, no jedinom koji se iznova pita zašto, ostaje ta glavna pokretna sila, znatiželja, koja ga gura i dalje kroz tajnovite puteve znanosti i otkrića.

-

## 11. LITERATURA

---

1. <http://hmg.oxfordjournals.org/content/16/R1/R88.full>
2. <http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev.genom.6.080604.162350>
3. <http://www.blatny.com/Epigenetika2007/2007-11-06/papers/Avner%202001.pdf>
4. <http://www.bio.miami.edu/dana/dox/calico.html>
5. <http://www.nature.com/nature/journal/v426/n6968/full/nature02222.html#B2>
6. <http://www.nature.com/scitable/topicpage/x-chromosome-x-inactivation-323>
7. <http://www.turner-syndrom.dk/doc/videnskab/Dosagecompensation5.pdf>
8. <http://en.wikipedia.org/wiki>
9. Lanza Robert i suradnici (2009.) – Essentials of Stem Cell Biology (Second edition)
10. <http://www.bio.miami.edu/dana/dox/calico.html>

## 12. SAŽETAK

---

Kromosomi X su spolni kromosomi koji nose velik broj gena koji nisu povezani sa spolnom determinacijom i reprodukcijom već kontroliraju različite metaboličke puteve. Kod ženki sisavaca dolazi do mehanizma kompenzacije doze zbog postojanja dva kromosoma X. Kada taj mehanizam ne bi postojao, dvostruka količina gena bi predstavljala problem za jedinku. Kompenzacija doze podrazumijeva proces inaktivacije jednog od dva kromosoma X. Inaktivacija se događa oko 16. dana embrionalnog razvoja kada jedan od dva kromosoma X postaje heterokromatiziran i time onemogućava svoju transkripciju.

Kratki segment kromosoma X koji sudjeluje u inaktivaciji kromosoma X je *X inactivation center* (XIC). To je mjesto inicijacije s kojeg se inaktivacija širi po ostalim dijelovima kromosoma X. XIC sadrži četiri gena, *Xist*, *Tsix*, *Jpx* i *Ftx*, od koji je najvažniji *Xist*. Gen *Xist* se eksprimira s inaktivnog kromosoma X i producira veliku ne-kodirajuću RNA koja je odgovorna za utišavanje kromosoma X s kojeg se prepisala. *Xist* RNA oblaže kromosom i na taj način sprječava ekspresiju njegovih gena.

S utišavanjem je također povezana i hipoacetilacija histona. Inaktivni kromosom ima nisku razinu acetiliranih histona H2A, H3 i H4. Povećanje u ekspresiji gena *Xist* i početak inaktivacije kromosoma X se događaju dva dana prije deacetilacije histona. Metilacija DNA također je uključena u epigenetiku utišavanje kromosoma X, a događa se tijekom sinteze DNA te je ograničena na CpG dinukleotide. Analiza CpG otoka promotora gena *Xist* pokazuje da je utišani alel na aktivnom kromosomu hipermetiliran, dok je ekspimirani alel na aktivnom kromosomu hipometiliran.

Oko 15% ukupnog broja gena na kromosomu X ipak ostaje transkripcijski aktivno i sadrži epigenetičke oznake aktivnog kromatina. Inaktivni, heterokromatinizirani kromosom X citološki je vidljiv kao Barrovo tjelešce te ga nalazimo blizu jezgrine ovojnice interfaznih jezgara. Fenotipski dokaz inaktivacije kromosoma X je boja dlake kod calico mačaka i mačaka krzna boje kornjačevine – ženska mačaka heterozigot ima šareno krzno. Ta pojava se naziva i mozaična ekspresija i ovisi o diferencijalnoj ekspresiji alela na kromosomu X.

### **13. SUMMARY**

---

X chromosomes are sex chromosomes that carry a large number of genes which control different metabolic pathways. In female mammals, there is a mechanism of dosage compensation due to the existence of two X chromosomes. Double amount of genes would represent a problem for an individual. The dosage compensation involves an inactivation process of one of the two X chromosome. The inactivation occurs around 16th day of embryonic development when inactive X chromosome is silenced by packaging into transcriptionally inactive heterochromatin.

*X inactivation center (XIC)* is a short segment of X chromosome that is involved in inactivation. It represents the initiation site from which inactivation spreads to the rest of the chromosome. XIC contains four genes, Xist, Tsix, and Jpx FTX, from which the most important is Xist.

Xist gene is expressed from inactive X chromosome and produces a large non-coding RNA that is responsible for silencing of X chromosome. Xist RNA coats the chromosome and thus prevents the expression of its genes. Hypoacetylation of histones is also connected with silencing of X chromosome. Inactive chromosome has a low level of acetylated histones H2A, H3 and H4. Increase in Xist gene expression and beginning of X chromosome inactivation happens two days before histone deacetylation.

DNA methylation is also involved in epigenetic silencing of X chromosome, it occurs during DNA synthesis and it's limited to the CpG dinucleotides. Analysis of CpG island of Xist gene promoter shows that the silenced allele on active chromosome is hypermethylated, while the expressed allele on active chromosome is hypomethylated.

About 15% of the total number of genes on X chromosome remains transcriptionally active and contains epigenetic marks of active chromatin. Inactive, heterochromatinized X chromosome occur as heteropicnotic body called Barr's body near nuclear envelope of interphase nuclei. Fenotypic evidence for X-chromosome inactivation is coat colours of various mammals, including calico cat – only a female cat has coat that consist of mosaic patches of both orange and black colour. This phenomenon is called the mosaic expression and depends on the differential expression of alleles on X chromosome.