

# Epigenetičko utišavanje kromosoma X

---

Tremski, Mihaela

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:217:149044>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2022-01-29**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**EPIGENETIČKO UTIŠAVANJE KROMOSOMA X**

**EPIGENETICS SILENCING OF X CHROMOSOME**

**SEMINARSKI RAD**

Mihaela Tremški

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: Prof. dr. sc. Vlatka Zoldoš

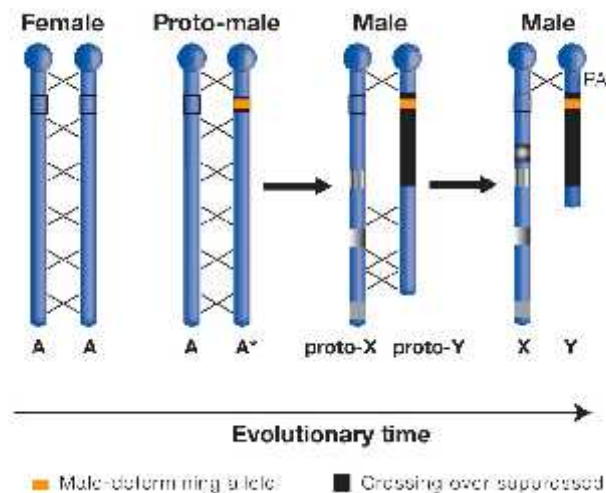
Zagreb, 2012

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	2
<b>2. INICIJACIJA X- INAKTIVACIJE</b> .....	4
2.1. X –inaktivacijski centar ( <i>Xic</i> ) i ostali elementi inaktivacije.....	4
2.2 Regulacija utisnute X inaktivacije.....	6
2.3. Regulacija nasumi ne X inaktivacije – brojenje i odabir kromosoma X.....	6
<b>3. ŠIRENJE I ODRŽAVANJE INAKTIVNOG STANJA</b> .....	9
3.1. Funkcija molekule <i>Xist</i> i stvaranje heterokromatina.....	9
3.2. Struktura heterokromatina utišanog kromosoma X.....	9
3.3. Mehanizam uspostave histonskih modifikacija u inaktivnom kromosomu X.....	10
<b>4. VREMENSKI SLIJED EPIGENETI KIH OBILJEŽJA TIJEKOM INAKTIVACIJE</b> .....	12
<b>5. LITERATURA</b> .....	14
<b>6. SAŽETAK</b> .....	15
<b>7. SUMMARY</b> .....	15

## 1. UVOD

Pojava spolne reprodukcije omogućila je povećanje genetičke varijabilnosti te je otvorila prostor za djelovanje prirodne selekcije i pokrenute mnoge evolucijske promjene. Preduvjet za determinaciju spola bio je razvoj spolnih kromosoma koji možemo podijeliti na nekoliko bitnih koraka u evolucijskom vremenu. U početku dva spola su se razlikovala samo po jednom autosomalnom lokusu za kojeg je pra-mušjak bio heterozigot, a pra-ženka homozigot (**Slika 1.**). S vremenom je došlo do supresije rekombinacije unutar i u blizini lokusa koji određuje muški spol kako bi se spriječila pojava meospola. Regija supresije 'crossing-overa' se s vremenom proširila sve dok kromosom pra-Y nije izgubio većinu aktivnih gena, jedino je ostala aktivna mala pseudoautosomalna regija (PAR) koja omogućuje sparivanje i 'crossing-over' u mejozi. Za razliku od kromosoma Y, kromosom X je građena kao i autosomi, od dijelova DNA dodanih u različitim periodima kroz evoluciju (Allis i sur., 2007).



**Slika 1. Evolucija kromosoma Y**

([www.cshteaching.org/epigenetics.php](http://www.cshteaching.org/epigenetics.php))

Kod sisavaca, ženke imaju dvije kopije kromosoma X, a mužjaci jednu kopiju X i jedan kromosom Y. Kromosom X je velik kromosom, bogat genima, za razliku od kromosoma Y koji samo kodira nekoliko gena nužnih za razvoj muškog spola i fertilitet. S obzirom da postoji razlika u broju kromosoma X kod mužjaka i ženki, to može dovesti do neravnoteže u količini genskog produkta (RNA i proteina) i promjena u stanišnim procesima.

Kako bi se to sprijeilo razvio se mehanizam kompenzacije doze na na in da uravnotežuje količinu genskog produkta kromosoma X među spolovima. Postoje tri načina izjednačavanja genskog produkta između heterogametnog i homogametnog spola, i to :

- 1) utišavanjem gena na jednom od dva kromosoma X kod ženke
- 2) udvostručenjem stope transkripcije gena na jedinom kromosomu X kod mužjaka
- 3) tako da se prepolovi stopa transkripcije na oba kromosoma X kod ženke.

Sisavci koriste prvi mehanizam kompenzacije doze, *Drosophila melanogaster* drugi, te obli *Caenorhabditis elegans* treći i mehanizam (Allis i sur., 2007).

Kod sisavaca postoji jedinstvena strategija X inaktivacije, gdje su dva kromosoma X različito tretirana, tj. jedan kromosom X je transkripcijski utišan, dok drugi ostaje aktivan. Jednom uspostavljeno inaktivno stanje kromosoma X održava se stabilno kroz brojne stanične diobe (Heard, 2004).

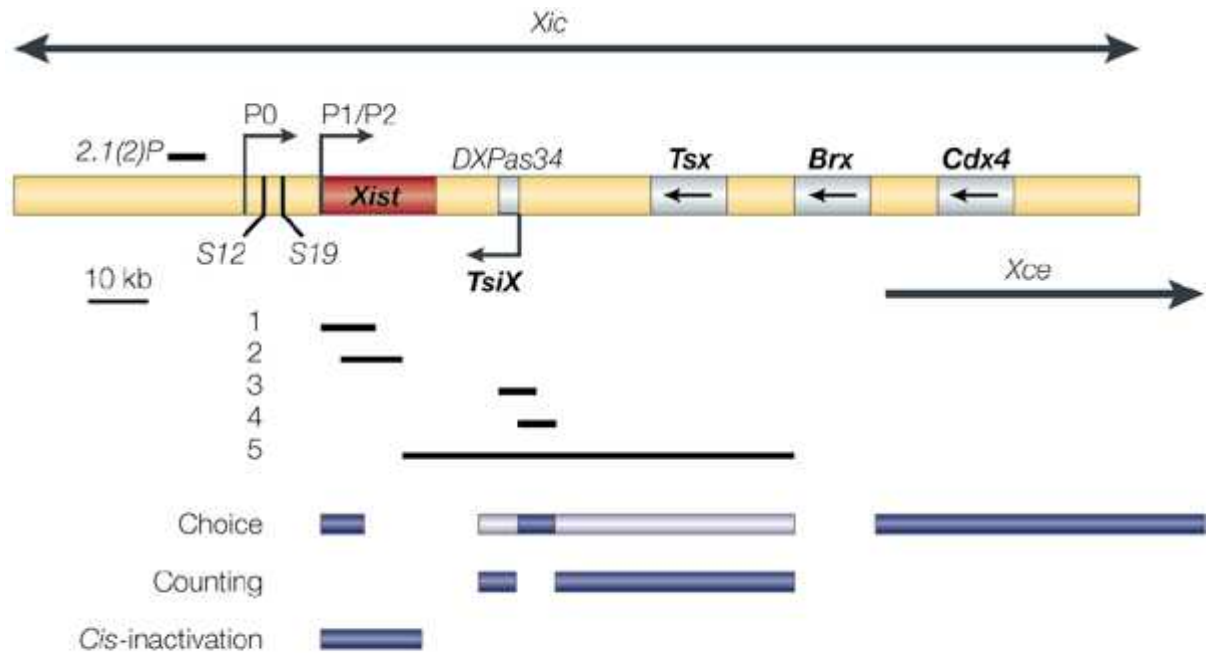
Inaktivan kromosom X u jezgri stanica ženskih jedinki različitih vrsta sisavaca prvi su primijetili Barr i Bertram 1949. godine, te ga opisali kao spolno kromatinsko tjelešce. Mary Lyon, 1961. postavila je hipotezu da je u svakoj stanici ženke jedan od dva kromosoma X inaktiviran rano u razvoju. Inaktivan kromosom nazvan je Barrovo tjelešce. U slučaju da imamo više kromosoma X oni se inaktiviraju prema pravilu „n-1“, gdje n označava broj kromosoma X u jedinci. (Allis i sur., 2007).

## 2. INICIJACIJA X- INAKTIVACIJE

Proces inaktivacije kromosoma X odvija se tijekom ranog embrionalnog razvoja i pod kontrolom je X-inaktivacijskog centra (Xic). Taj proces je vrlo precizno reguliran, tako da muške stanice (XY) izbjegnu utišavanje jedinog kromosoma X, a ženske stanice (XX) izbjegnu utišavanje ili održavanje aktivnim oba kromosoma X. Postoje dva načina regulacije utišavanja – nasumična inaktivacija i inaktivacija mehanizmom genomskog utiska. Kod inaktivacije mehanizmom genomskog utiska utišava se oboje kromosom X (Xp), dok kod nasumičnog načina svaka stanica ima jednaku vjerojatnost utišati Xp ili Xm kromosom X (Xm). Kod inicijacije inaktivacije kromosoma X prema nasumičnom modelu uključeno je brojanje kromosoma X u jezgri u odnosu na stanice u ploidnosti, tako da samo jedan kromosom X po diploidnoj stanici ostane aktivan (Allis, 2007). To pretpostavlja postojanje blokirajućeg faktora koji se sintetizira u ograničenim količinama, dovoljnim za vezanje na samo jedno Xic mjesto po diploidnoj stanici. Inicijacija inaktivacije uključuje i proces odabira koji se od dva kromosoma X bit će inaktiviran u ženskoj diploidnoj stanici. Primjer za to je inaktivacija samo kromosoma Xp u izvanembrionskom tkivu i nasumična inaktivacija u embrionskom tkivu koja je rezultat razlika na lokusu X-kromosomskog kontrolnog elementa (Xce) (Avner i Heard, 2001). U daljnjem tekstu bit će detaljnije predstavljen svaki od procesa inicijacije utišavanja kromosoma X.

### 2.1. X –inaktivacijski centar (Xic) i ostali elementi inaktivacije

**X –inaktivacijski centar ili Xic** je regija kromosoma duga oko 1 Mb, a koja sadrži nekoliko elemenata koji imaju određenu ulogu tijekom inaktivacije, te sadrži najmanje 4 gena (**Slika 2.**). Određeni su u istraživanjima na strukturno abnormalnim kromosomima X kao 'glavna kontrolna regija' koja je esencijalna za pojavu X inaktivacije. Xic je odgovoran za inicijaciju inaktivacije kromosoma X 'in cis', što znači da je kromosom X koji nosi Xic bit će inaktiviran, dok onaj kojem nedostaje Xic regija ne može biti inaktiviran. Također, Xic je uključen u brojanje kromosoma X u jezgri, gdje samo jedan kromosom X, naspram dva seta autosoma, zadržava aktivnost, a svi ostali X kromosomi sa Xic regijom su inaktivirani.



Nature Reviews | Genetics

**Slika 2. X- inaktivacijski centar (Xic)**

([www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig\\_tab/nrg0101\\_059a\\_ft.html](http://www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig_tab/nrg0101_059a_ft.html))

**Gen koji kodira za molekulu Xist (X inactive specific transcript Xist gene)** eksprimira se s inaktivnog kromosoma X. On kodira za zrelu, poliadeniliranu RNA, duga ku 17-kb, koja je zadržana u jezgri i koja predstavlja primarni signal za širenje inaktivnog stanja duž kromosoma X. *Xist* nije direktno uklju en u proces brojanja kromosoma X u jezgri.

**Kontrolni element Xce (X chromosome controlling element, Xce)** lokus utje e na izbor koji e kromosom X biti inaktiviran ili ostati aktivan. U ženkama koje su heterozigoti za različite *Xce* alele, onaj kromosom X koji nosi ja i *Xce* alel e eš e ostati aktivan od onog koji nosi slabiji alel. Takva iskrivljena inaktivacija doga a se u 70 % slu ajeva u korist kromosoma X s ja im *Xce* alelom. Geneti kim mapiranjem pomo u mikrosatelita utvr eno je da se *Xce* lokus nalazi distalno i 3' od *Xist* gena.

**TsiX** je element prepisan s 'antisense' lanca u odnosu na *Xist*. *TsiX* je ekspimiran u nediferenciranim embrionskim matini m stanicama i ranom embriju, te se pretpostavlja da regulira ekspresiju gena *Xist* u početku X inaktivacije. Promotor gena *Xist* usko je povezan s DXPas34 regijom, a sam *TsiX* gen proteže se na 40 kb što je cijela dužina *Xist* gena.

Lokus **DXPas34** je CpG regija duga ka 3 kb koja sadži minisatelitno ponavljanje otprilike 15 kb nizvodno od 3' kraja *Xist*. *DXPas34* lokus je hipermetiliran na aktivnom

kromosomu X i stupanj hipermetilacije korelira s alelizmom na *Xce* lokusu, iako je *Xce* smješten izvan *DXPas34* regije (Avner i Heard, 2001).

## 2.2 Regulacija utisnute X inaktivacije

X inaktivacija mehanizmom genomskog utiska je prvo primijećena kod tobožnjara (Methateria), a kasnije je primijećena i u izvanembrionskom tkivu mišjih embrija. Inaktivan kromosom X je uvijek oboje podrijetla. To se događa zbog represivnog utiska na alelu  $X_m$  mišjih embrija, što sprječava ekspresiju *Xist* gena i održava majin kromosom X aktivan. Represivni *Xist* utisak utvrđen je već tijekom sazrijevanja oocita. Nije poznata molekularna osnova utiska oboje kromosoma, ali postoji nekoliko teorija kako dolazi do inaktivacije baš oboje kromosoma X. Prema prvoj teoriji dolazi do prenošenja utišanog stanja bivalenta XY, koje je uspostavljeno u pahitenu spermatogeneze. Ta teorija je kasnije opovrgnuta novim eksperimentima jer je mejotska inaktivacija spolnih kromosoma različita i odvija se *Xist* neovisnim mehanizmom. Ekspresijskim analizama utvrđeno je da se utišavanje  $X_p$  odvija *de novo*, kao odgovor na zigotnu ekspresiju *Xist* gena s  $X_p$ . Ako nije prisutan *Tsix*, 'antisense' regulator *Xist* ekspresije, ishod je letalan već u ranoj fazi embrija (Allis, 2007).

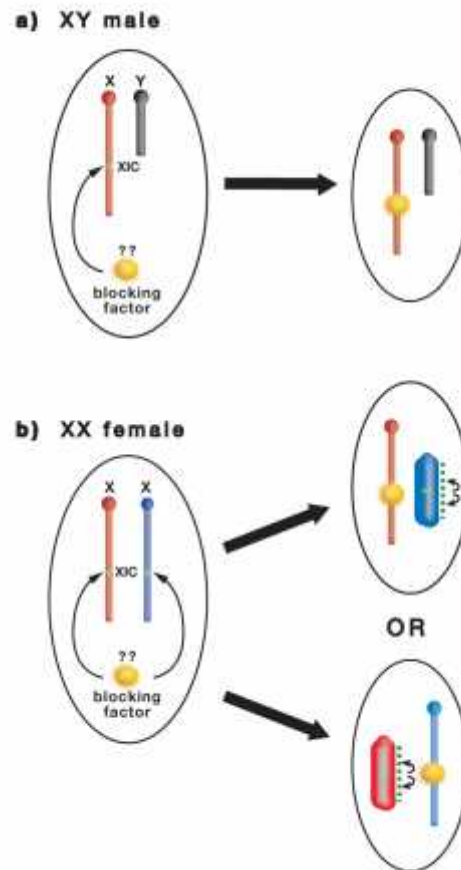
## 2.3. Regulacija nasumične X inaktivacije – brojenje i odabir kromosoma X

Viši sisavci ili placentalne životinje (Eutheria) koriste utisnuti model inaktivacije u izvanembrionskom tkivu, a nasumičnu inaktivaciju u embrionskom tkivu. Kod nasumične inaktivacije stanice se drže pravila 'n-1' prema kojem će biti aktivan samo jedan kromosom X po diploidnom setu kromosoma, bez obzira da li je to  $X_m$  ili  $X_p$ . Izbor kromosoma X koji će biti inaktiviran je također nasumičan, ali je pod kontrolom određenih faktora (Allis, 2007).

U ranom embrionalnom razvoju sisavaca dolazi do različitog tretiranja dva kromosoma X za što je odgovorna *Xic* regija s koje se prepisuje nekodirajući *Xic* transkript, a koji djeluje kao okidač za utišavanje 'in cis'. Citogenetičkim istraživanjima deletiranih i rearanžiranih kromosoma X utvrđeno je da je *Xic* regija esencijalna za inaktivaciju kromosoma X. Uvid u mehanizam kroz koji djeluje *Xist* dobiven je istraživanjima na ranih mišjim embrijima i embrionskim matičnim stanicama (ES). Prema rezultatima istraživanja na ES stanicama potrebne su najmanje dvije *Xics* regije da bi došlo do inaktivacije. Ovaj lokus je u središtu procesa koji određuje broj kromosoma X (Slika 3.). Najpoznatiji Rastanov model



pretpostavlja postojanje autosomalnog faktora koji se sintetizira u ograničenim količinama i blokira jedan *Xic* po diploidnoj stanici (Heard i Disteche, 2006).

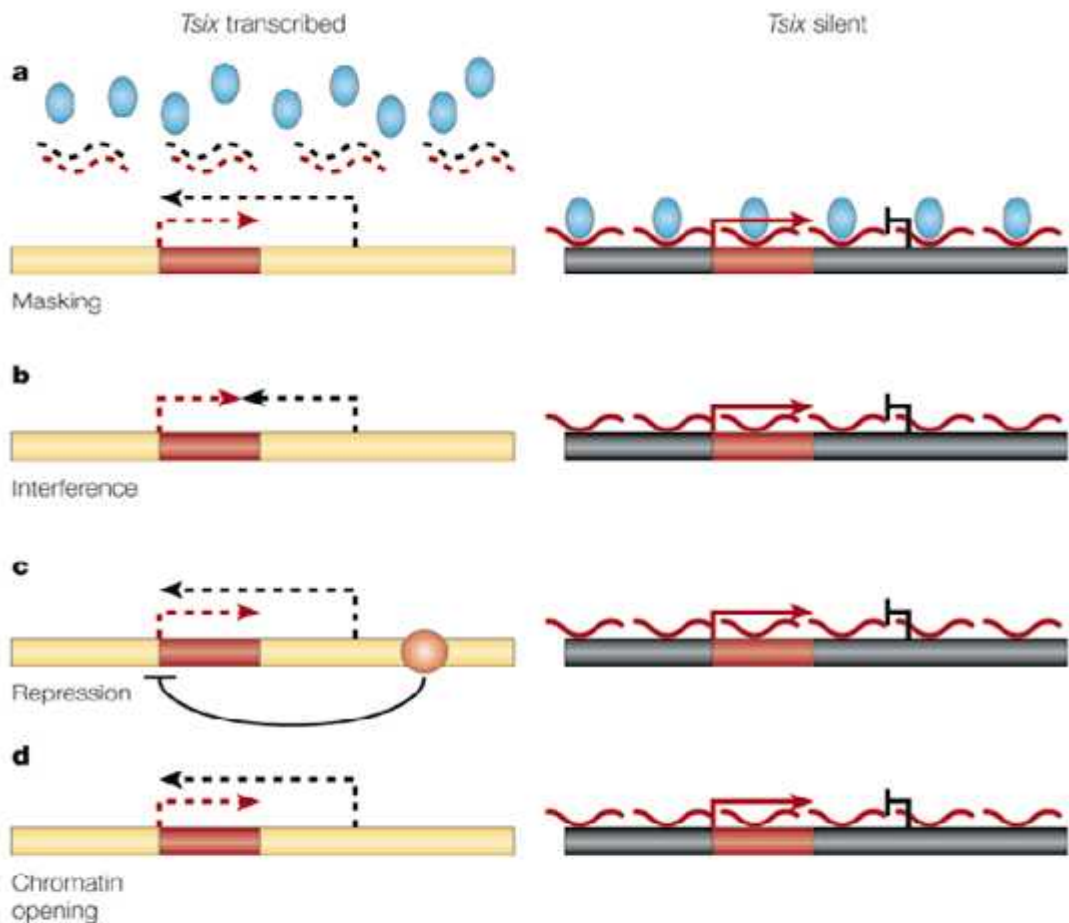


**Slika 3. Model nasumičnog utišavanja kromosoma X kod mužjaka (XY) i ženke (XX) sisavaca.**

([www.cshteaching.org/epigenetics.php](http://www.cshteaching.org/epigenetics.php))

U određenim situacijama nasumična inaktivacija može biti iskrivljena. To se događa kod pristranog odabira X kromosoma koji će se inaktivirati ('primarna' nasumična inaktivacija) ili kao rezultat selekcije prema stanicama koje održavaju određeni X aktivnim (sekundarna nasumična inaktivacija). Kod primarne nasumične inaktivacije izbor je pod utjecajem varijacija 'cis' sekvence ili mutacije koja utječe na vjerojatnost odabira kromosoma X koji će biti aktivan, tj. inaktivan. Prema Rastanovom modelu te varijabilnosti mogu rezultirati promjenom vjerojatnosti vezanja blokiranja gena faktora. Drugi element koji može utjecati na izbor u mišu je *Tsix* antisens regulator, koji se prepisuje s lokusa *Xist* prije inicijacije nasumične inaktivacije. Kromosom koji nosi deleciju promotora *Tsix* je inaktiviran,

tako er ni mutacija u poja iva kim elementima (*Xite* elementi) ne aktivira *Xist* mjesto u ES stanicama geneti ke konstitucije XY. To zna i da unato deleciji, vezna mjesta za blokiraju i faktor ostaju netaknuta. Transkripcija regulatora *Tsix* popra ena je niskom razinom transkripcije i gena *Xist*, što zna i da se pojavljuje dovolan ani RNA hibrid koji posreduje u procesu odabira kromosoma X (Allis, 2007). Hibridizacija transkripta *Xist* s 'antisense' *Tsix* transkriptom sprje ava vezanje faktora koji ima funkciju ili u stabilizaciju *Xist* RNA ili dopušta njezino vezanje za 'cis' sekvencu u kromatinu (Slika 4. a). Transkripcijsko me udjelovanje izme u *Xist* i *Tsix* može sprje iti efikasnu transkripciju gena *Xist* i sprje iti nakupljanje transkripta *Xist* (Slika 4. b). 'Antisense' transkripcija može biti uklju ena u represiju visoke razine transkripta *Xist* (Slika 4., c) ili 'otvaranje kromatina', ime se sprje ava vezanje razvojno reguliranih faktora na regiju *Xic* (Slika 4. d) (Avner i Heard, 2001).



Nature Reviews | Genetics

**Slika 4. Uloga *Xist* 'antisense' transkripcije**

([www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig\\_tab/nrg0101\\_059a\\_ft.html](http://www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig_tab/nrg0101_059a_ft.html))

### 3. ŠIRENJE I ODRŽAVANJE INAKTIVNOG STANJA

Neaktivan kromosom X od aktivnog možemo razlikovati jer je potpuno obložen s RNA molekulom *Xist*, ima promijenjenu kromatinsku strukturu (epigeneti ke modifikacije specifi ne za heterokromatinsko stanje) te asinkrono vrijeme replikacije (Heard i Disteche, 2006). Svaki od na ina modifikacije bit e pobliže objašnjen u daljnjem tekstu.

#### 3.1. Funkcija molekule *Xist* i stvaranje heterokromatina

Gen *Xist* i njegov RNA produkt djeluju kao prekida koji pokre e X inaktivaciju 'in *cis*' i širenje utišavanja duž kromosoma. Istraživanja su potvrdila da:

- 1) *Xist* je jedinstven jer se ekspirira samo s inaktivnog kromosoma X
- 2) razina *Xist* RNA se naglo pove ava u preimplantacijskom stadiju embrija, tj. prije X inaktivacije
- 3) ekspresija *Xist* produkta prethodi i apsolutni je uvjet za X inaktivaciju
- 4) RNA molekula *Xist* kolokalizira s inaktivnim kromosomom X u interfaznoj jezgri
- 5) *Xist* sadrži transgene, koji umetnuti u autosome mogu potaknuti svojstva neaktivnog kromatina.

Ovi rezultati pokazuju da je RNA molekula *Xist* nužna za formiranje heterokromatina i transkripcijsko utišavanje. Vezanje *Xist* RNA za neaktivan X je selektivno, te je pokazano da dolazi do lokalizacije u podru ju bogatom G prugama. Nije još potpuno poznato na koji na in *Xist* RNA mijenja strukturu kromatina. Znamo da su za utišavanje odgovorne razli ite regije *Xist* RNA. Ipak, utišavanje možemo pripisati i o uvanoj ponavljaju oj sekvenci na 5' kraju molekule (Allis, 2007).

#### 3.2. Struktura heterokromatina utišanog kromosoma X

Gusto pakiran oblik kromatina, heterokromatin, nalazimo u podru ju oko centromera, te ga nazivamo konstitutivni heterokromatin. Inaktivan kromosom X nalazi se u jezgri o igledno kondenziran tijekom interfaze (Barrovo tjelešce), te kažemo da se on sastoji od fakultativnog heterokromatina. Konstitutivni heterokromatin bogat je ponavljaju im satelitnim sekvencama, te je uvijek prisutan na istim mjestima u kromosomu, a fakultativni

kromatin karakterizira promjenjivost strukture iz perimisivnog u represivno stanje. Smatra se da se sastoji od ponavljaju ih elemenata koji imaju neku ulogu tijekom inaktivacije. Indirektnom imunofluorescentnom mikroskopijom određeno je da je fakultativni heterokromatin osiromašen acetiliranim histonom H4, te podsjeća na konstitutivni heterokromatin. Kasnije je potvrđeno da su oba tipa heterokromatina osiromašeni acetiliranim oblicima svih 4 tipa histona, te di- i tri- metiliranim oblicima H3 i K4 histona (H3K4me2 i H3K4me3) (Allis, 2007).

Analizom raspodjele histonskih modifikacija duž utišanog kromosoma X dobiveni su zanimljivi rezultati o strukturi heterokromatina. Pronađeno je da su određene regije inaktivnog X bogate histonskim modifikacijama H3K9me3 i H3K27me3, ali i Xist RNA molekulama te specifičnom histonskom varijantom za kromosoma X, makroH2A. Takodje pokazuju povećanu razinu heterokromatinskog proteina HPI i histonske modifikacije H4K20me3. Histonske modifikacije konstitutivnog i fakultativnog heterokromatina, s obzirom na eukromatin pretežno su iste. Jedina razlika je prisutnost histonskih modifikacija H3K27me i ubikvitiniranog H2A, koje se smatraju specifičnim epigenetičkim oznakama za inaktivni X kromosom (Allis, 2007).

Razina CpG metilacije u inaktivnom kromosomu X nije značajno veća od ostatka genoma. Posebne CpG bogate regije povezane s utišanim genima su hipermetilirane, prema tome metilacija ima značajnu ulogu u održavanju inaktivnog stanja kromosoma X (Allis, 2007.). Analizom mutanata za DNA metiltransferazu 1 (Dnmt1) pokazano je da je metilacija potrebna za stabilno održavanje utišanog stanja gena u embrionskoj liniji stanica. Dok u izvanembrionskom tkivu dolazi čak do djelomične reaktivacije X vezanih gena, u visceralnom endodermu dolazi do opsežne demetilacije *in vivo*. Policomb grupa proteina ima mnogo značajniju ulogu u održavanju inaktivnog X kromosoma u izvanembrionskom tkivu (Heard i Disteche, 2006).

### **3.3. Mehanizam uspostave histonskih modifikacija u inaktivnom kromosomu X**

Enzimi odgovorni za deacetilaciju ključnih histona (histonske deacetilaze, HDAC) ili demetilaciju (demetilaze) H3K4, još uvijek nisu otkriveni. Inhibitor histonskih deacetilaza, trihostatin A (TSA), sprječava ili odgađaju acetilaciju, ali ne zna se koju klasu deacetilaza inhibira. Nije poznat niti mehanizam kojim se uklanja metilna skupina s Lys5 histona H3.

Zato se ne može sa sigurnošću reći da li je H3K5 metilacija i deacetilacija histona izgubljena s utišanog X kromosoma zamjenom histona ili pasivno tijekom DNA replikacije (Allis, 2007).

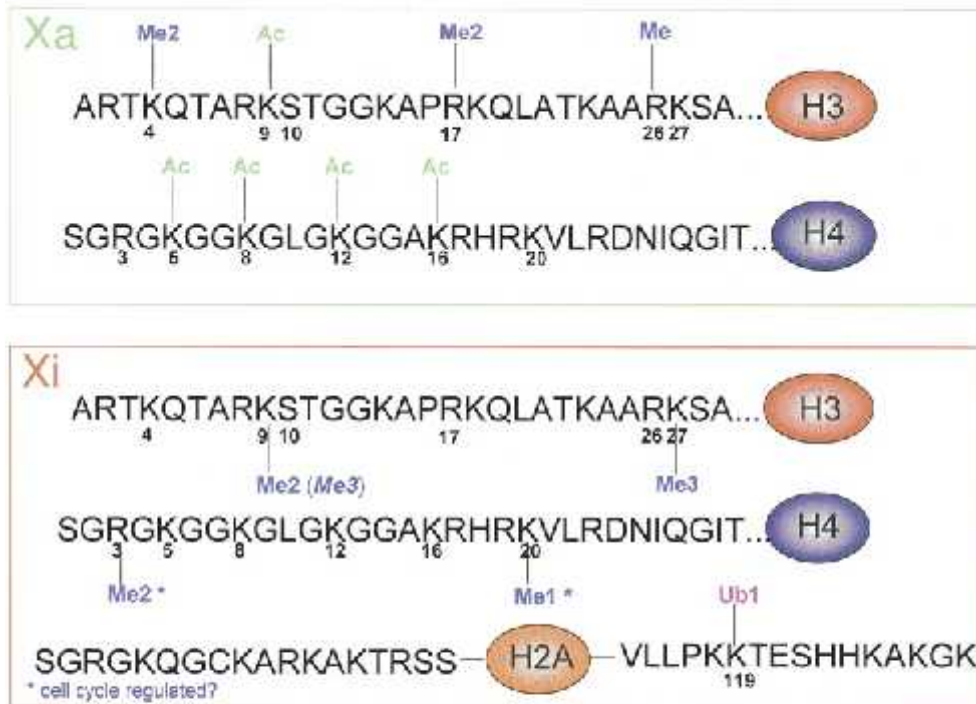
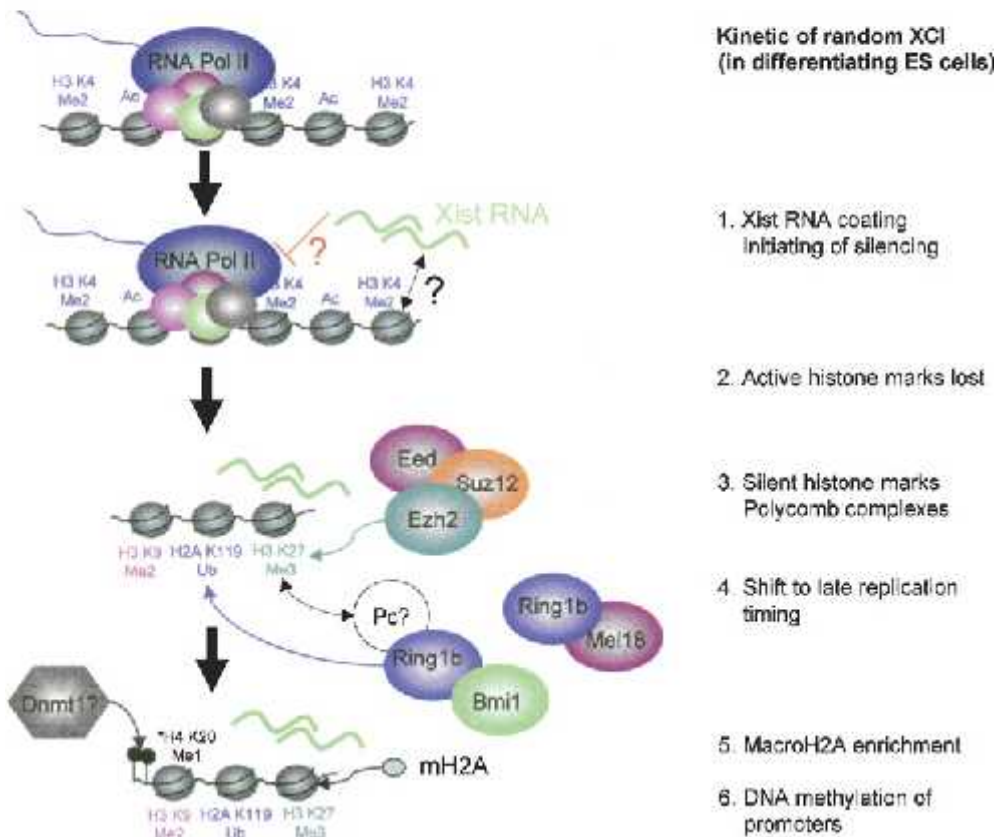
Trenutno, mnogo se više zna o enzimima odgovornima za histonske modifikacije. 'Policomb' grupa proteina Ezh2 pojavljuju se kao histonske metiltransferaze odgovorne za trimetilaciju H3K27 na X kromosomu. Ezh2 je član PRC2 kompleksa, koji također uključuje Eed i Suz12 proteine, potrebne za stabilnost kompleksa i histon metiltransferaznu (HMT) aktivnost proteina Ezh2. Ova tri proteina aktivni su na inaktivnom X kromosomu rano tijekom inaktivacije, za vrijeme pojave H3K27me3, te u ES stanicama i u ranom embriju. *Xist* transkript može potaknuti vezanje PRC2 kompleksa za X kromosom i potaknuti metilaciju DNA. Ostale dvije promjene u strukturi kromatina su promjena histona H2A s njegovom specifičnom varijantom makroH2A i metilacija promotora X vezanih gena (Heard i Disteche, 2006).

Obje histonske varijante pojavljuju se kasnije tijekom inaktivacije kromosoma X. Bez obzira na kasnu pojavu makroH2A na kromosomu X, ona je ovisna o oblaganju kromosoma X *Xist* molekulom. MacroH2A obogaćuje inaktivan kromosom X, te djeluje represivno samo u određenom vremenu stanih ciklusa (S i G1 faza). To znači da sudjeluje u osiguravanju utišavanja i/ili prijenosu epigenetičke informacije za vrijeme dok dolazi do gubljenja većine histonskih modifikacija. DNA metilacija, kao što je već spomenuto, ima važnu ulogu u održavanju inaktivnog stanja X kromosoma. U stanicama koje proizlaze iz primitivnog endoderma nije detektirana ili je detektirana vrlo mala razina PRC2 i histonske modifikacije H3K27me3, za razliku od stanica trofoderma i embrionalnog ektoderma. Uloga proteina Eed, člana PRC2 kompleksa koji stabilizira HMT-ovu aktivnost Ezh2, je diferencijacijski ovisna u održavanju inaktivnog stanja u trofoblastu. Prema tome, inaktivan X kromosom može nositi različite kombinacije epigenetičkih oznaka u različitim staničnim linijama i stadijima diferencijacije (Heard i Disteche, 2006).

#### 4. VREMENSKI SLIJED EPIGENETI KIH OBILJEŽJA TIJEKOM INAKTIVACIJE

Odre ene modifikacije histona povezana su s aktivnim ili s inaktivnim kromosomom X ( **Slika 5. A**). U inaktivnom kromosomu X, aminokiselinski ostatci na repovima H4 histona nisu acetilirani, smanjena je dimetilacija Lys u histonu H3 te je kromatin oboga en histonskom varijantom makroH2A ( Heard i Dishtche, 2006.)

Odre ene epigeneti ke oznaka pojavljuju se sekvencijalno unutar kromatina inaktivnog X kromosoma tijekom diferencijacije embrionskih mati nih stanica kod ženke sisavaca (**Slika 5. B**). Prvi epigeneti ki doga aj je oblaganje kromosoma X s RNA molekulom *Xist* s kojeg se prepisala, te ovaj doga aj inducira utišavanje zasad nepoznatim molekularnim mehanizmom. Drugi doga aj je pasivno ili aktivno gubljenje, histonskih modifikacija povezanih s transkripcijskom aktivnoš u, kao što su acetilacija ili demetilacija H3K4. Tre e, sastavlja se PRC2 kompleks te se pojavljuje H3K27me3 modifikacija u inaktivnom kromosomu X. Nakon ovih epigeneti kih promjena dolazi do prebacivanja na asinkrono vrijeme replikacije koje podrazumijeva kasniju replikaciju inaktivnog kromosoma X. Ta promjena važna je u održavanju inaktivnog stanja tijekom svakog stani nog ciklusa jer osigurava vremensku odvojenost segregacije aktivnog i inaktivnog kromosoma X. Pove ava se udio specifi ne histonske varijante makroH2A i metiliraju se promotori X-vezanih gena (Heard i Disteche, 2006).

**A****B**

**Slika 5. Epigeneti ke promjene tijekom inaktivacije kromosoma X**

(genesdev.cshlp.org/content/20/14/1848/F3.expansion.html)

## 5. LITERATURA

Allis, C.D., Jenuwein, T., Rainberg, D. (2007) Epigenetics. Cold Spring Harbor, New York. str. 321-340

Avner, P., Heard, E., (2001) X-chromosome inactivation: Counting, choice and initiation. *Nature reviews* **2**, 59-67

Heard, E., Disteché C. M. (2006) Dosage compensation in mammals: fine-tuning the expression of the X chromosome. *Genes & Development* **20**, 1848-1867

Heard, E. (2004) Recent advances in X-chromosome inactivation. *Current Opinion in Cell Biology* **16**, 247-255

[genesdev.cshlp.org/content/20/14/1848/F3.expansion.html](http://genesdev.cshlp.org/content/20/14/1848/F3.expansion.html)

[www.cshteaching.org/epigenetics.php](http://www.cshteaching.org/epigenetics.php)

[www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig\\_tab/nrg0101\\_059a\\_ft.html](http://www.nature.com/nrg/journal/v2/n1/fig_tab/nrg0101_059a_ft.html)



## 6. SAŽETAK

Kromosomske razlike među spolovima dovode do neravnoteže genskih produkata između mužjaka (XY) i ženke (XX) sisavaca. Za uspostavu ravnoteže genskog produkta X kromosoma, tj. kompenzaciju doze kod sisavaca, neophodan je mehanizam epigenetičkog utišavanja ekspresije gena na X kromosomu. Postoje dva načina regulacije utišavanja – nasumična inaktivacija i inaktivacija mehanizmom genomskog utiska.

Proces epigenetičkog utišavanja događa se kroz inicijaciju, širenje i održavanje inaktivnog stanja X kromosoma. Tijekom inicijacije dolazi do ekspresije gena s *Xic* regije, čiji produkt je duga nekodirajuća RNA molekula *Xist*, određivanja broja i odabir X kromosoma koji će biti utišan. U utišavanju kromosoma X sudjeluje nekoliko slojeva epigenetičkih događaja koji se događaju sekvencijalno: oblaganje kromosoma molekulom *Xist*, uspostavljanje karakterističnih histonskih modifikacija za utišano kromatinsko stanje, zamjena histona H2A sa specifičnom varijantom makroH2A te metilacija DNA. U ovom radu ukratko je predstavljen proces utišavanja X kromosoma djelovanjem različitih epigenetičkih promjena. Brojni mehanizmi i danas su nepoznati, te su potrebna daljnja istraživanja u tom smjeru.

## 7. SUMMARY

Chromosomal differences between the sexes lead to an imbalance of gene products between males (XY) and females (XX). Dosage compensation mechanisms evolved in mammals in order to establish a balance of gene products of X chromosome in the two sexes. There are two models of X inactivation – random and imprinted X inactivation.

The process of epigenetic silencing occurs through the initiation, expansion and maintenance of the inactive X chromosome state. During the initiation process three steps are important: counting, choice of X chromosome to be inactivated and expression of *Xic* gene in X-chromosome to be inactivated. *Xist* RNA molecule covers the whole X-chromosome. Then, several layers of epigenetic modifications, specific for inactivated X-chromosome, occur subsequently: establishment of histone modifications associated with repressive chromatin state, incorporation of histone variant macroH2A, and finally DNA methylation, an epigenetic event that maintains heterochromatic state.

In this short review I present epigenetic processes associated with X chromosome silencing process. Many mechanisms are yet to be elucidated, and further research is needed in this direction.