



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Sirkadiaanisten rytmien epigenetiikka

DNA-metylaatio ja histonimodifikaatiot nisäkkäillä

Inka Lappalainen

Biologia, fysiologia ja genetiikka

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

11.4.2026

Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä: Inka Lappalainen

Otsikko: Sirkadiaanisten rytmien epigenetiikka – DNA-metylaatio ja histonimodifikaatiot nisäkkäillä

Ohjaaja: Heidi Viitaniemi

Sivumäärä: 25 sivua

Päivämäärä: 11.4.2026

Ympäristössä vuorokauden aikana tapahtuvat muutokset aiheuttavat eliöille jatkuvasti muuttuvan elinympäristön. Eliöt ovatkin kehittäneet mekanismeja, joiden avulla ne voivat ennakoida ympäristön muutoksia sekä ajoittaa elimistön toiminnan sekä käyttöksensä sopivaan aikaan päivästä. Biologisista rytmeistä tutkituimpia ovat sirkadiaaniset rytmit eli vuorokausirytmit, jotka säätelevät fysiologisten prosessien ajoitusta noin 24 tunnin jaksossa. Nisäkkäillä sirkadiaanisista rytmeistä vastaavat elimistön sirkadiaaniset kellot. Sirkadiaaniset kellot ovat itsesäädeltäviä, mutta jaksottaiset ympäristötekijät tahdistavat kelloja ja niiden luomia sirkadiaanisia rytmejä. Sirkadiaanisten kellogeenien koodaamien transkriptiotekijöiden lisäksi myös epigeneettiset modifikaatiot säätelevät sirkadiaanisia kelloja ja sitä kautta sirkadiaanisia rytmejä. Epigeneettiset mekanismit mahdollistavat sirkadiaanisen kellon säätelien geenien säätelyn ja niiden rytmisen ilmentymisen. Tutkielmassa käsitellään epigeneettisistä mekanismeista DNA-metylaatiota ja histonien asetylaatiota sekä metylaatiota, ja niiden vaikutusta nisäkkäiden sirkadiaaniseen kelloon ja sirkadiaanisiin rytmeihin.

Avainsanat: sirkadiaaninen rytmi, DNA-metylaatio, histonimodifikaatio

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	1
2. SIRKADIAANISET RYTMIT	2
3. SIRKADIAANINEN KELLO	3
4. EPIGENEETTISET MEKANISMIT	6
4.1. DNA-metylaatio.....	6
4.2. Histonien asetylaatio ja metylaatio	7
5. SIRKADIAANISTEN RYTMIEN EPIGENEETTINEN SÄÄTELY	8
5.1. DNA-metylaation vaikutukset.....	9
5.2. Histonimodifikaatioiden vaikutukset.....	10
5.2.1. Histonien asetylaatio ja deasetylaatio	11
5.2.2. Histonien metylaatio	13
6. YHTEENVETO	16
LÄHTEET	17

1. JOHDANTO

Ympäristössä vuorokauden ja vuoden aikana tapahtuvat muutokset, kuten valojakson pituus, aiheuttavat eliöille jatkuvasti muuttuvan elinympäristön. Jaksoittaisesti vaihteleva elinympäristö on ohjannut eliöiden biologisten rytmien evoluutiota. Käytännössä kaikki lajit ovatkin kehittäneet solutasolla tapahtuvia vaihteluita sekä mekanismeja, joilla ne sovittavat solutason vaihtelut ympäristön jaksottaisuuteen.

Elinympäristön bioottiset ja abioottiset tekijät voivat vaihdella päivittäisessä tai vuosittaisessa jaksossa. Eliöillä ajoituksesta vastaavat sisäiset mekanismit vaikuttavat eliöiden käyttäytymiseen ja fysiologisiin prosesseihin, ja siten helpottavat eliöitä sopeutumaan ympäristön muutoksiin. Biologisia rytmejä säätelee yleensä sisäinen molekulaarinen oskillaattori eli kello, jota synkronoidaan ympäristön rytmiin reseptorien avulla. Reseptorit reagoivat oleellisiin ympäristöstä tuleviin signaaleihin, kuten valoon ja ravintoon.

Biologisista rytmeistä laajimmin tutkittuja ovat sirkadiaaniset rytmit eli vuorokausirytmit. Missä tahansa solussa tai kudoksessa ilmentyvistä geeneistä noin 5–20 % on havaittu ilmentyvän sirkadiaanisen rytmin mukaisesti (Zhang ym., 2014).

Sirkadiaanisista rytmeistä vastaava kellomekanismi koostuu sirkadiaanisista kellogeeneistä. Niiden oletetaan toimivan osana ajoitusmekanismeja myös muissa biologisissa rytmeissä, kuten sirkannuaalisessa eli vuosittaisessa rytmissä. Sirkadiaaniset kellogeenien koodaamat transkriptiotekijät muodostavat itsesäädellyn noin 24 tuntia kestävä transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilukan, joka säätelee eliöiden sisäisiä päivittäisiä rytmejä. Tällaisia transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilukoita on havaittu niin levillä, sienillä, kasveilla kuin eläimilläkin. (Stevenson, 2018.)

Kellogeenien lisäksi myös epigeneettisillä mekanismeilla on havaittu rytmisiä vaihteluita, mikä viittaa siihen, että ne voivat olla olennainen osa eliöiden biologisista rytmeistä vastaavia kelloja. Epigeneettisiä mekanismeja ovat DNA-metylaatio, histonimodifikaatiot ja ei-koodaava RNA. Näistä eniten tutkittuja ovat DNA-metylaatio ja histonimodifikaatiot. Epigeneettisissä mekanismeissa havaittavat rytmit voivat vaikuttaa merkittävästi molekulaaristen prosessien kuten transkription ajoitukseen. Tutkimuksissa onkin havaittu, että epigeneettiset modifikaatiot ovat osana sirkadiaanisten kellogeenien transkriptioaktiivisuuden säätelyä, mikä vaikuttaa sirkadiaaniseen kelloon ja sirkadiaanisten rytmien ajoitukseen. Täten voidaankin olettaa, että

epigeneettiset mekanismit ovat osa sirkadiaanista kelloa, ja vaikuttavat olennaisesti sirkadiaanisiin rytmeihin.

Tässä tutkielmassa keskityn nisäkkäiden sirkadiaanisiin rytmeihin ja sirkadiaaniseen kelloon. Lisäksi keskityn epigeneettisistä modifikaatioista DNA-metylaatioon sekä histonien asetylaatioon ja metylaatioon. Tutkielmassa käyn läpi, miten DNA-metylaatio sekä histonien asetylaatio ja metylaatio osallistuvat sirkadiaanisen kellon säätelyyn.

2. SIRKADIAANISET RYTMIT

Sirkadiaaniset rytmit eli vuorokausirytmit säätelevät monien fysiologisten prosessien, kuten uni-valverytmin ja hormonituotannon, ajoitusta noin 24 tunnin jaksossa. Vuorokausirytmit auttavat eliöitä ennakoimaan muutoksia ympäristössä sekä sovittamaan käytöksen ja fysiologian sopivaan aikaan päivästä. Sirkadiaaniset rytmit ovat itsesäädelyjä, mutta jaksottaiset ympäristötekijät tahdistavat rytmejä sääteleviä sirkadiaanisia kelloja. Sirkadiaaniset kellot koostuvat transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilmukoista (engl. transcriptional-translational feedback loop), ja ne vastaavat sirkadiaanisten rytmien ylläpidosta. Reagointi ympäristöstä tuleviin signaaleihin mahdollistaakin sirkadiaanisen kellon synkronoinnin ympäristön kanssa. Näistä ympäristötekijöistä merkittävin on päivittäinen valojakso. Myös sisäiset tekijät, kuten energiataso, tahdistavat kelloa.

Nisäkkäillä sirkadiaanisista rytmeistä vastaa hypothalamuksen suprakiasmaattinen tumake (engl. suprachiasmatic nucleus, SCN). Suprakiasmaattista tumaketta kutsutaan elimistön keskuskelloksi. SCN vastaanottaa sirkadiaanisen kellon tahdistamiseen tarvittavia valosignaaleja verkkokalvon valoherkiltä gangliosoluilta (Fernandez ym., 2016). SCN säätelee muualla elimistössä sijaitsevien kudosten omia kelloja hermostollisten, hormonaalisten ja käyttäytymiseen liittyvien viestien avulla (Kim & Lazar, 2020). Näitä perifeerisiä kelloja on lähes kaikissa nisäkkäiden kudoksissa. Ne vastaavat paikallisista fysiologisista prosesseista, jotka säätelevät kudosspesifisiä toimintoja (Takahashi, 2017). Kuitenkaan sitä, miten SCN säätelee perifeerisiä kelloja ei vielä tiedetä tarkalleen.

Cheng ym. (2002) havaitsivat, että sirkadiaanisen kellon säätelämän prokinetisiini 2:n (engl. prokineticin 2, PK2) lähetti-RNA:n tasot vaihtelivat suprakiasmaattisessa tumakkeessa ja sitä ympäröivissä aivoalueissa sirkadiaanisten rytmien mukaisesti. Lisäksi suprakiasmaattisen

tumakkeen tärkeimpien kohteiden tumista löytyi reseptoreja PK2:lle, mikä voisi viitata siihen, että PK2 välittää suprakiasmaattisen tumakkeen säätelemiä sirkadiaanisia rytmejä. Toisaalta joidenkin transkriptiotekijöiden ilmentymisen on havaittu olevan rytmistä esimerkiksi mak-sassa, muttei SCN:n neuroneissa. Koska keskeisimmät sirkadiaaniset proteiinit ovat konservoi-tuneita suprakiasmaattisessa tumakkeessa ja perifeerisissä kudoksissa, eroja ilmentymisessä ei voida selittää vain ydinkellokoneiston perusteella. Sen sijaan ydinkellokoneiston ja muiden transkriptioverkostojen väliset vuorovaikutukset voivat säädellä kudskohtaisia sirkadiaanisia transkriptomeja. Tällöin siis niin sanottu transkriptionaalinen ympäristö (engl. transcriptional environment) voi täydentää ydinkellokoneistoa perifeerisissä kelloissa. (Masri & Sassone-Corsi, 2010.)

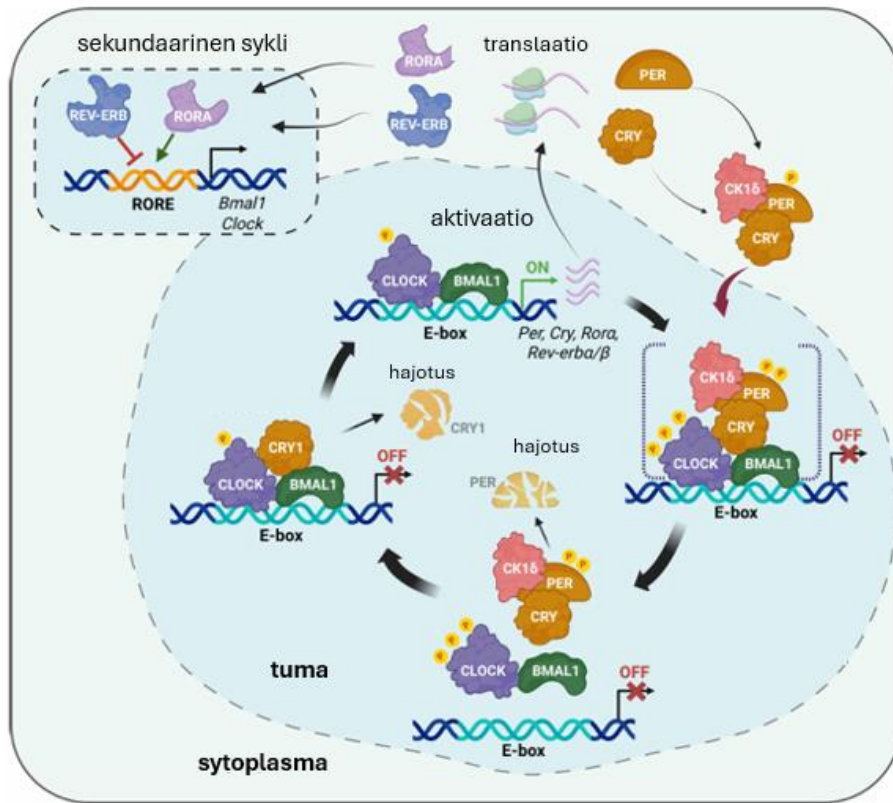
3. SIRKADIAANINEN KELLO

Tärkeimpiä kellogeenejä ovat aktivaattoreita koodaavat *clock* ja *bmal1* sekä repressoreita koo-daavat *period* (*per*) ja *cryptochrome* (*cry*) geeniperheen jäsenet *per1*, *per2*, *cry1* ja *cry2*. *Clock*- ja *bmal1*-geenien koodaamat transkriptiotekijät CLOCK (engl. circadian locomotor output cy-cles kaput, CLOCK) ja BMAL1 (engl. brain and muscle arnt-like 1, BMAL1) vastaavat muiden sirkadiaanisten geenien ilmentymisestä. (Takahashi, 2017.)

Hiirillä (*Mus musculus*) CLOCK ja BMAL1 ovat ”basic helix-loop-helix”-transkriptiotekijöitä, jotka kiinnittyvät kohdegeeniensä E-box-elementtejä sisältäville säätelyalueille (kuva 1) (Ta-kahashi, 2017). CLOCK ja BMAL1 dimerisoituvat eli liittyvät yhteen ja muodostavat CLOCK-BMAL1-kompleksin. Kompleksi aktivoi sirkadiaanisen kellon kontrolloimien geenien tran-skription (Gallego & Virshup, 2007). *Per*- ja *cry*-geeniperheiden proteiinituotteet PER1, PER2, PER3, CRY1 ja CRY2 muodostavat negatiivisen säätelyketjun, jolla ne inhiboivat omaa tran-skriptiotaan (Masri & Sassone-Corsi, 2013).

CLOCK-BMAL1-kompleksi aktivoi myös käänteisorientaatio *c-erbA*-geenin α (engl. reverse orientation *c-erbA* gene α , REV-ERB α) sekä retinoiinihapporeseptoriin liittyvän orporeseptorin (engl. retinoic acid receptor-related orphan receptor, ROR α) transkription. REV-ERB α hiljentää *bmal1*:n transkription sitoutumalla sen promoottorin retinoiinihapporeseptoriin liittyvän orporeseptorin vaste-elementteihin (engl. retinoic acid-related orphan receptor response elements, ROREs) (kuva 1). REV-ERB α :n on havaittu myös jossain määrin hiljentävän *clock*:in tran-skriptiota. (Preitner ym., 2002.) Lisäksi REV-ERB α kilpailee muiden REV-ERB- ja ROR-

perheisiin kuuluvien tumareseptorien kanssa *bmal1*:n vaste-elementteihin sitoutumisesta. Tämä johtaa *bmal1*:n transkription hiljentämiseen, minkä seurauksena myös REV-ERB α :n transkriptio hiljenee. (Guillaumond ym., 2005.)



Kuva 1. Malli sirkadiaanisen kellon säätelymekanismista. Muokattu Liu & Sancar (2025).

CLOCK-BMAL1-kompleksi aktivoi *per*-, *cry*-, *reverb*a- ja *rora*-geenien transkription (kuva 1) (Liu & Sancar, 2025). CLOCK-BMAL1-kompleksi on aktiivinen päivällä, mikä johtaa *per*- ja *cry*-geenien transkriptioon iltapäivällä. PER- ja CRY-proteiinit kertyvät soluun myöhäisiltapäivän ja illan aikana. (Takahashi, 2017.) PER ja CRY muodostavat repressorikompleksin kaseinikinaasin 1 δ (engl. caseinkinase 1 δ , CK1 δ) kanssa, ja kompleksi siirtyy yöllä tumaan. Kompleksi sitoutuu CLOCK-BMAL1-kompleksiin, jolloin CK1 δ fosforyloi CLOCK:in. Fosforylaation seurauksena CLOCK-BMAL1-kompleksi irtoaa E-box-alueelta, ja transkriptio hiljenee. (Liu & Sancar, 2025.) Tämän jälkeen E3-ligaasikompleksit (engl. ubiquitin protein ligase E3A, UBE3A) lisäävät PER-proteiiniin ubikitiinin, joka ohjaa proteiinin proteasomin hajotettavaksi (Takahashi, 2017). Kun PER on hajotettu, CRY1 sitoutuu CLOCK-BMAL1-kompleksiin estäen transkription ilman, että se häiritsee kompleksin sitoutumista DNA:han. Tämän

jälkeen CRY1 hajotetaan. CRY1-tason lasku solussa päättää repressiovaiheen, ja CLOCK-BMAL1-kompleksi voi taas aloittaa transkription seuraavana aamuna. (Liu & Sancar, 2025.) CRY toimii primaarisena repressorina, sillä se pystyy yksinään repressoimaan CLOCK-BMAL1-kompleksin, kun taas PER ei yksinään pysty vaikuttamaan CLOCK-BMAL1-kompleksiin, vaan vaatii CRY:n läsnäolon (Ye ym., 2014). REV-ERB α ja ROR α muodostavat sekundaarisen säätelyketjun, jossa ne kiinnittyvät *clock*- ja *bmal1*-geenien RORE:ihin ja säätelevät geenien ilmentymistä (Liu & Sancar, 2025).

Sekundaarisen säätelyketjun lisäksi sirkadiaaniseen kelloon kuuluu vielä kolmas säätelyketju. Säätelyketjun muodostavat PAR-bZip-tekijät (engl. proline and acidic amino acid-rich basic leucine zipper factors, PAR-bZip). Näitä aktivaattoreina toimivia transkriptiotekijöitä ovat albumiinin D-alueelle sitoutuva proteiini (engl. albumin D-site-binding protein, DBP), tyrotrooppinen sikiöaikainen tekijä (engl. thyrotroph embryonic factor, TEF) ja hepaattinen leukemia tekijä (engl. hepatic leukaemia factor, HLF). Aktivaattorit vuorovaikuttavat interleukiini 3:n säätelemän tumarepressorin (engl. nuclear factor, interleukin-3-regulated, NFIL3) kanssa D-boxeja sisältävillä alueilla. (Takahashi, 2017.) NFIL3 hiljentää DBP-riippuvaista transkriptioaktiivisuutta kilpailemalla sitoutumisesta samaan DNA-sekvenssiin (Mitsui ym., 2001). CLOCK-BMAL1-kompleksi säätelee *dbp*:n, *tef*:n ja *hlf*:n aktivaatiota sitoutumalla niiden promoottorien E-box-alueille. Sen sijaan REV-ERB-ROR-silmukka säätelee repressorina toimivaa NFIL3:a. Eri säätelijät mahdollistavat aktivaattoreiden ja repressoreiden ilmentymisen eri aikoina, mikä puolestaan saa aikaan syklisen rytmin kohdegeenien transkriptiossa. (Pacheco-Bernal ym., 2019.) DBP aktivoi muun muassa *per1*:n transkriptiota sitoutumalla sen promoottorialueelle (Yamaguchi ym., 2000).

Albrecht ym. (2001) havaitsivat, että *per1* ja *per2* osallistuvat nisäkkäiden sirkadiaanisen kellon säätelyyn lisäksi sen nollaukseen. *Per1* ja *per2* voidaan indusoida valolla. Valoimpulssi joko aikaistaa tai viivästyttää hiirten aktiivisuutta. Tällöin siis sirkadiaaninen kello edistyy tai viivästyy eli kello nollautuu. He myös havaitsivat, että hiirillä *per1* vastaa valon indusoimasta jakson edistymisestä ja *per2* vastaa jakson viivästyttämisestä (Albrecht ym., 2001). Lisäksi tutkimuksissa on huomattu, että yöaikainen valoimpulssi lisää nopeasti *per1*- ja *per2*-geenien ilmentymistä suprakiasmaattisessa tumakkeessa. Tämä aiheuttaa muutoksen käyttäytymisen vaiheessa. Täten PER1:n ja PER2:n voidaan katsoa toimivan sekä vuorokausirytmien muodostumisessa että rytmin synkronoinnissa valojaksoon. (Naruse ym., 2004.)

4. EPIGENEETTISET MEKANISMIT

Epigeneettisiä modifikaatioita aiheuttavia mekanismeja ovat DNA-metylaatio, histonimodifikaatiot ja ei-koodaava RNA. Epigeneettiset modifikaatiot ovat geenien ilmentymisessä tapahtuvia muutoksia, jotka eivät aiheudu DNA-sekvenssin emäsjärjestyksen muutoksista. Monet epigeneettiset modifikaatiot ovat pysyviä, mutta muutoksia voivat aiheuttaa myös useat tekijät kuten ravinto ja stressi.

Epigeneettiset modifikaatiot säätelevät geenejä joko aktivoiden tai vaimentaen niitä. Tämä on olennaista yksilön kehityksessä, solujen erilaistumisessa sekä sopeutumisessa ympäristön muutoksiin. Epigeneettiset muutokset voivat myös periytyä, mutta periytymisen tarkkaa mekanismia ei vielä tunneta.

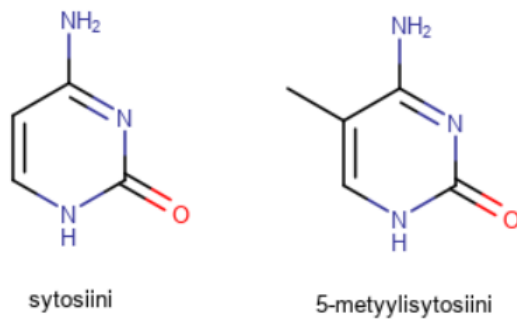
4.1. DNA-metylaatio

DNA-metylaatio on epigeneettinen mekanismi, joka säätelee geenien ilmentymistä. DNA-metylaatio voi estää transkriptiotekijöiden ja RNA-polymeraasin kiinnittymisen DNA-juosteeseen. Tämä johtaa geenien hiljentämiseen. Hiljennettyjä geenejä voidaan aktivoida uudelleen poistamalla lisätty metyyliiryhmä. Tätä kutsutaan demetyloinniksi.

DNA-metylaatiosta vastaavat DNA-metyylitransferaasit (DNMT). DNA-metylaatioon osallistuvia DNA-metyylitransferaaseja on kahta tyyppiä: DNMT1 ja DNMT3. DNMT1 on vastuussa DNA-metylaation säilyttämisestä DNA-replikaation aikana. Lisäksi DNMT1 on vastuussa metylaatioiden kopioimisesta uuteen syntetisoituun DNA-juosteeseen. DNMT3a ja DNMT3b taas ovat vastuussa demetyloitujen sytosiinien metylaatiosta.

DNA-metylaatiossa DNMT:t siirtävät metyyliiryhmän metyylin luovuttajana toimivalta molekyyliltä S-adenosyylimetioniinilta (SAM) sytosiinirenkään 5. asemassa olevalle hiilelle. Kun metyyliiryhmä on lisätty, sytosiinista muodostuu 5-metyylisytosiini (kuva 2). DNMT:t tunnistavat erityisesti CpG-dinukleotidit eli kohdat, joissa sytosiini ja guaniini ovat vastakkain DNA-juosteessa. Alueita, jotka sisältävät tiheästi CpG-dinukleotideja kutsutaan CpG-saarekkeiksi (engl. CpG island). Nisäkkäiden soluissa CpG-saarekkeet sijaitsevat usein geenien promoottoreissa tai lähellä niitä.

DNA-demetylaasit ovat entsyymejä, jotka voivat poistaa metyyliryhmän ja siten muuttaa 5-metyylisytosiinin takaisin sytosiiniksi. Myös ten-eleven-translokaatioentsyymit (engl. ten-eleven-translocationenzyme, TET) vastaavat aktiivisesta DNA-demetylaatiosta (Fishman & Tauber, 2024).



Kuva 2. Sytosiini ja metyloitu 5-metyylisytyosiini.

4.2. Histonien asetylaatio ja metylaatio

Histonien asetylaatio ja metylaatio vaikuttavat siihen, kuinka tiukasti kromatiini on pakattu histonien ympärille. Kromatiinin pakkaustapa vaikuttaa siihen, pääseekö transkriptiokoneisto sitoutumaan kromatiiniin. Tämä vaikuttaa transkription aktiivisuuteen ja siten geenien ilmentymiseen. Histoneilla on positiivisesti varautuneet aminohapoista koostuvat histonihännät (engl. histone tail), jotka vuorovaikuttavat DNA:n negatiivisesti varautuneiden fosfaattien kanssa. Vuorovaikutus pitää DNA:n tiukasti sitoutuneena histoniin. Histoniomodifikaatiot kohdistuvat näihin histonihäntiin.

Histonien asetylaatioissa histoniasetyylitransferaasi (HAT) lisää asetyyliryhmän histonin lysiinitähteen N-terminaaliseen päähän. Lisätty asetyyliryhmä vähentää histonin positiivista varausta, mikä heikentää histonin vuorovaikutusta negatiivisesti varautuneen DNA-juosteen kanssa. Tämä aiheuttaa avoimemman kromatiinirakenteen. Avoimemman kromatiinirakenteen avulla transkriptiokoneisto pääsee sitoutumaan DNA:han ja transkriptioaktiivisuus kasvaa. Tämä johtaa lisääntyneeseen geenien ilmentymiseen.

Histonien deasetylaatiassa histonideasetylaasi (engl. histone deacetylase, HDAC) poistaa lisätyn asetyyliiryhmän histonin lysiinitähteestä. Tämän seurauksena histonin positiivinen varaus kasvaa, mikä vahvistaa histonin vuorovaikutusta DNA-juosteen kanssa. Tällöin transkriptioaktiivisuus ja geenien ilmentyminen vähenee. DNA-metylaatio vetää puoleensa histonideasetylaaseja, mikä vähentää transkription aktiivisuutta.

Histonien metylaatiassa histonimetyylitransferaasit lisäävät metyyliiryhmän histonien lysiiniin tai arginiiniin. Lisätty metyyliiryhmä voi joko lisätä tai vaimentaa geenien ilmentymistä. Metylaation vaikutus riippuu alueesta, joka on metyloitu, sekä lisättyjen metyyliiryhmien määrästä. Esimerkiksi histoni 3:n lysiini 4:n metylaatio (H3K4me) on yleisesti liitetty lisääntyneeseen geenien ilmentymiseen. Sen sijaan histoni 3:n lysiini 9:n metylaatio (H3K9me) on taas liitetty vähentyneeseen geenien ilmentymiseen.

Histonien demetylaatiota säätelevät histonidemetylaasit (engl. histone demethylase). Histonidemetylaasi poistaa lisätyn metyyliiryhmän histonin lysiinitähteestä. Demetylaatio voi joko aktivoita tai estää transkriptiota riippuen siitä, miten lisätty metyyliiryhmä vaikutti transkriptioaktiivisuuteen.

5. SIRKADIAANISTEN RYTMIIEN EPIGENEETTINEN SÄÄTELY

Sirkadiaanisen kellon ydingeenien proteiinituotteiden lisäksi myös epigeneettiset mekanismit säätelevät transkription aktiivisuutta sirkadiaanisen syklin aikana. Tämä mahdollistaa geenien säätelyn sekä rytmisen ilmentymisen, joka on perustana sirkadiaanisen kellon toiminnalle ja edelleen sirkadiaanisten rytmien ylläpidolle. Lisäksi epigeneettiset mekanismit mahdollistavat rytmien sopeuttamisen ympäristön päivittäiseen vaihteluun.

Sirkadiaaninen kello ja sen ohjaamat sirkadiaaniset rytmit ovat siis epigeneettisesti säädeltyjä. Sirkadiaaninen kello tarvitsee kromatiinia muokkaavien tekijöiden avustusta säädelläkseen sirkadiaanisten geenien ilmentymistä. Toisaalta taas sirkadiaaninen kello myös itse säätelee moinen kromatiinia muokkaavien tekijöiden aktiivisuutta.

5.1. DNA-metylaation vaikutukset

DNA-metylaation on havaittu osallistuvan sirkadiaanisten rytmien sovittamiseen ympäristön muuttuneeseen valojaksoon. Azzi ym. (2014) havaitsivat, että päivän pituuden muuttaminen aiheuttaa muutoksia transkriptiossa sekä kellogeenien promoottorien DNA-metylaatioissa hiiren suprakiasmaattisessa tumakkeessa. Lisäksi he huomasivat, että altistuksessa alkuperäiseen valojaksoon niin käyttäytyminen, transkriptio kuin DNA-metylaatiokin palautuivat alkuperäiseen rytmiin. Tutkijat myös huomasivat, että metyyli transferaasi-inhibiittorin antaminen suprakiasmaattiseen tumakkeeseen heikentää jakson vaihteluja, mikä tukee havaintoja DNA-metylaation merkityksestä sopeutumisessa valojakson muutokseen.

Suprakiasmaattisen tumakkeen neuronien sirkadiaanisten kellojen on havaittu vaihtavan rytmiään aluespesifisesti, kun ne altistetaan muuttuneelle valojaksolle (Azzi ym., 2017). Azzi ym. (2017) havaitsivat muutoksia eri geenien DNA-metylaatioissa SCN:n dorsaalisisilla alueilla verrattuna sen ventraalisiin alueisiin. Lisäksi he huomasivat, että DNA-metylaation inhibointi 22 tai 26 tuntia kestävään sirkadiaanisen jaksoon altistetuilla hiirillä johti niiden sirkadiaanisen jakson siirtymiseen lähelle normaalia 24 tunnin jaksoa. Havainto vahvistaa sen, että alueellinen DNA-metylaatio suprakiasmaattisessa tumakkeessa on tärkeää sopeutumisessa muuttuneeseen vuorokausirytmiiin. Koska SCN säätelee perifeerisiä kelloja, siinä tapahtuvat muutokset muuttavat myös perifeeristen kellojen sirkadiaanisen jakson pituutta. Tutkijat kuitenkin havaitsivat, että muutokset eivät johdu sirkadiaanisissa kelloissa tapahtuvista muutoksista, vaan muutoksista SCN:n neuronien välisissä vuorovaikutuksissa. Heidän mukaansa vuorovaikutusten uudelleenjärjestely voisi olla riippuvainen GABAergisestä signaaloinnista. Toisaalta taas muutokset valojaksossa eivät aiheuta merkittäviä tai pitkäaikaisia jälki vaikutuksia, mikä viittaa siihen, että verkoston uudelleenjärjestelyä ylläpitävät muut vielä tuntemattomat mekanismit. (Azzi ym., 2017.)

Lisäksi lyhyelle valojaksolle altistetuilla venäjänkääpiöhamsteriuoksilla (*Phodopus sungorus*) on havaittu sirkadiaanisia muutoksia DNA-metyylitransferaasien ilmentymisessä. Lyhyt valojakso vähentää *dnmt3a*:n ilmentymistä (Stevenson, 2017). Vastaavasti hiiren maksassa on huomattu *dnmt3b*:n mRNA-tason huippu aamulla sekä iltapäivällä lähes samassa rytmisessä *bmal1*:n syklin huippujen kanssa. Hiirten genomissa on myös huomattu 5-metyylisytoosiinin määrän vähentyvän myöhään iltapäivällä. Havainnot viittaavat siihen, että kellogeenit säätelevät *dnmt3a*:n ilmentymistä ja sitä kautta myös DNA-metylaation muutoksia. (Maekawa ym., 2012.)

Näiden havaintojen lisäksi DNA-metylaation on havaittu vaikuttavan *bmal1*-geenin ilmentymiseen. *Bmal1*-geenin promoottorin RORE:t sijaitsevat hypometyloiduilla eli normaalia vähemmän metyloiduilla CpG-saarekkeilla. Hypometylaatio saa aikaan avoimen kromatiinirakenteen, mikä lisää transkriptioaktiivisuutta. Kun promoottorin CpG-saarekkeet ovat hypermetyloitua eli normaalia enemmän metyloitua, transkriptioaktiivisuus vähenee eikä *bmal1* ilmene sirkadiaanisessa rytmissä. Tällöin myöskään BMAL1-CLOCK-kompleksin säätelemät geenit eivät ilmene. (Satou ym., 2013.)

DNA-metylaatio siis osallistuu sirkadiaanisten rytmien säätelyyn säätelemällä geenien ilmentymistä ja vaikuttamalla SCN:n verkostoon. Tämä auttaa eliöitä sopeutumaan ympäristön muutoksiin, kuten muuttuneeseen valojaksoon. Häiriöt DNA-metylaatiossa voivat johtaa häiriöihin sirkadiaanisissa rytmeissä. Sirkadiaanisten rytmien häiriöt onkin yhdistetty moniin sairauksiin.

Esimerkiksi monet tuumorisuppressorit ja onkogeneit ovat sirkadiaanisen kellon säätelemiä. Lisäksi useiden pahanlaatuisten kasvaimien ydinkellogeeneissä on havaittu poikkeavia kuvioita DNA-metylaatiossa. Tämän takia DNA-metylaation, sirkadiaanisen kellon ja syövän välisiä yhteyksiä on tutkittu paljon. Sitä ei kuitenkaan vielä tiedetä, ovatko muutokset DNA-metylaatiossa syövän syy vai seuraus. Lisäksi nisäkkäiden kellogeenien DNA-metylaation molekulaa-rista mekanismeista sekä sitä, miksi DNA-metylaatiot niiden lokuksissa muuttuvat syöpäsoluissa ei juurikaan tiedetä. DNA-metylaation tutkimista haittaa se, että kaikki DNMT:t ovat välttämättömiä nisäkkäiden elinkelpoisuudelle, joten niiden puuttumisen vaikutuksia on vaikea tutkia. (Joska ym., 2014.)

5.2. Histonimodifikaatioiden vaikutukset

DNA-metylaation lisäksi myös histonimodifikaatiot on yhdistetty sykliseen transkriptioon. Sirkadiaanisen syklin aikana tapahtuukin merkittävä määrä histonimodifikaatioita. Osa modifikaatioista vastaavista entsyymeistä on tunnistettu, mutta kaikkia niiden toimintaan liittyviä yksityiskohtia ei vielä tiedetä täysin. (Joska ym., 2014.)

Monet histoneita muokkaavat tekijät vuorovaikuttavat sekä toistensa että sirkadiaanisen kellon tekijöiden kanssa. Histoneita muokkaavat tekijät täydentävät transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilukoita, ja varmistavat kellogeenien ilmentymisen oikeaan aikaan ja sopivalla taa-juudella. Tällä tavalla tekijät pystyvät säätelemään sirkadiaanisia rytmejä ja vaikuttamaan niiden ajoitukseen.

5.2.1. Histoniin asetylaatio ja deasetylaatio

Histoniin rytminen asetylaatio on tärkeää, jotta sirkadiaanisen kellon geenit ilmentyvät oikeaan aikaan. Histoniin asetylaation onkin havaittu vaihtelevan rytmisesti kellogeenien promoottoreissa ja tehostajissa. Erityisesti histoniin 3 lysiiin 27 asetylaatio (H3K27ac) ja histoniin 3 lysiiin 9 asetylaatio (H3K9ac) on havaittu rytmisiksi sekä korreloivan positiivisesti kellogeenien ilmentymisen kanssa. Histoniin asetylaatiosta vastaavat suurimmalta osin histoniinasetyyliitransferaasit p300 ja CREB-sitoutumisproteiini (engl. CREB-binding protein, CBP). (Papazyan ym., 2016.)

Transkriptiosyklin aluksi CLOCK ja BMAL1 vuorovaikuttavat p300:n ja CBP:n kanssa aktivoidakseen kellogeenien transkription. Asetylaatio muuttaa kromatiinin avoimempaan muotoon transkriptiokoneiston saavutettavaksi, ja lisää siten transkriptioaktiivisuutta. (Takahashi, 2017.) CLOCK on myös itse histoniinasetyyliitransferaasi, jonka asetyyliitransferaasiaktiivisuus on tärkeää sirkadiaanisen rytmin ylläpidolle sekä kellogeenien aktivaatiolle. CLOCK:in on havaittu asetylaavan histoniin 3 lysiiin 14 (H3K14ac) sekä hieman vähemmässä määrin sen lysiiin 9 (H3K9ac). Lisäksi *per1*-geenin promoottorissa on havaittu H3K9:n ja H3K14:n asetylaation lisääntyvän sirkadiaanisen syklin transkription aktiivisena ajankohtana. BMAL1 myös lisää CLOCK:in aktiivisuutta asetyyliitransferaasina. (Doi ym., 2006.)

Hiirten *per1* ja *per2*-geenien rytmistä ilmentymistä sekä valon aiheuttamaa induointia säädelään histoniin asetylaatiolla sekä deasetylaatiolla. Naruse ym. (2004) havaitsivat, että hiiren fibroblastisoluissa ja maksassa *per1*- ja *per2*-geenien lähetti-RNA:n ilmentymistä edeltää histoniin 3 ja 4 rytminen asetylaatio geenien promoottorialueilla. Fibroblasteissa histoniin asetylaatio *per1*:n promoottorialueella vaihteli samassa rytmissä PER1:n ilmentymisen kanssa. Lisäksi histoniin 4 asetylaation huippu havaittiin hieman ennen *per1*:n ilmentymisen huippua, mikä viittaa siihen, että histoniin asetylaatio promoottorialueella aktivoi *per1*:n transkription. Maksassa *per1*- ja *per2*-geneilla on havaittu vastaavasti histoniin 3 ja 4 asetylaation huippu neljä ja kahdeksan tuntia aikaisemmin ennen geenien ilmentymisen huippua. (Naruse ym., 2004.)

Lisäksi Naruse ym. (2004) huomasivat, että histoniin deasetylaatiota inhiboivan trichostatiini A:n (engl. trichostatin A, TSA) antaminen suprakiasmaattiseen tumakkeeseen indusoi *per1*:n ja *per2*:n lähetti-RNA:n ilmentymistä tumakkeen neuroneissa. Curtis ym. (2004) havaitsivat vastaavasti histoniin 4 rytmisen asetylaation ihmisen HeLa-soluissa, kuten Naruse ym. (2004) hiiren maksassa. Havainnot viittaavat siis siihen, että histoniin asetylaatio ja deasetylaatio

osallistuvat *per1*- ja *per2*-geenien ilmentymisen säätelyyn sekä SCN:n neuroneissa, että perifeerisissä kelloissa.

Histonideasetylaasit eivät pysty sitoutumaan DNA:han suoraan. Sen sijaan efektorikompleksit rekrytoivat HDAC:t kromatiiniin ja vuorovaikuttavat transkriptiotekijöiden sekä muiden epigeeneettisten tekijöiden kanssa. (Papazyan ym., 2016.) Sirkadiaanisen syklin repressiivisen vaiheen aikana PER ja CRY vuorovaikuttavat nukleosomeja muokkaavan deasetylaasin (engl. nucleosome remodeling deacetylase, NuRD) ja kytkimestä riippumattoman ydinrepressorikompleksi 3A:n (engl. switch-independent 3A corepressor complex, SIN3A) kanssa. Nämä rekrytoivat HDAC1:n ja HDAC2:n deasetyloimaan histoneja, ja siten estävät transkriptiota. (Kim & Lazar, 2020.) Jumonji C- ja ARID-alueet sisältävä histonien lysiinidemetylaasi 1a (engl. Jumonji C and ARID domains containing histone lysine demethylase 1a, JARID1a) muodostaa kompleksin CLOCK-BMAL1:n kanssa ja kiinnittyy *per*:n promoottoriin. JARID1a inhiboi HDAC1:tä, mikä lisää H3K9:n asetylaatiota ja sitä kautta lisää myös *per*:in transkriptiota. (Di Tacchio ym., 2011.)

HDAC3:n on huomattu sitoutuvan genomiin 24 tunnin rytmisissä hiiren maksassa. HDAC3 sitoutuu samassa rytmisissä REV-ERB α :n ilmentymisen kanssa. REV-ERB α rekrytoi tumareseptorikorepressorin 1 (engl. nuclear receptor corepressor 1, NCoR1), joka puolestaan rekrytoi HDAC3:n sitoutumaan kromatiiniin. HDAC3 ohjaa histonien asetylaation sirkadiaanista rytmää deasetyloimalla histoneja, ja sitä kautta säätelee sirkadiaanisten geenien ilmentymistä. (Feng ym., 2011.) Sirkadiaanisten geenien lisäksi HDAC3 säätelee myös glukoosiaineenvaihduntaa. Mikäli NCoR1:n ja HDAC3:n välinen vuorovaikutus häiriintyy, se aiheuttaa kellogeenien poikkeavan säätelyn. Tämä johtaa epänormaaliin sirkadiaaniseen rytmiin käyttäytymisessä sekä lisääntyneeseen energiankulutukseen. (Alenghat ym., 2008.)

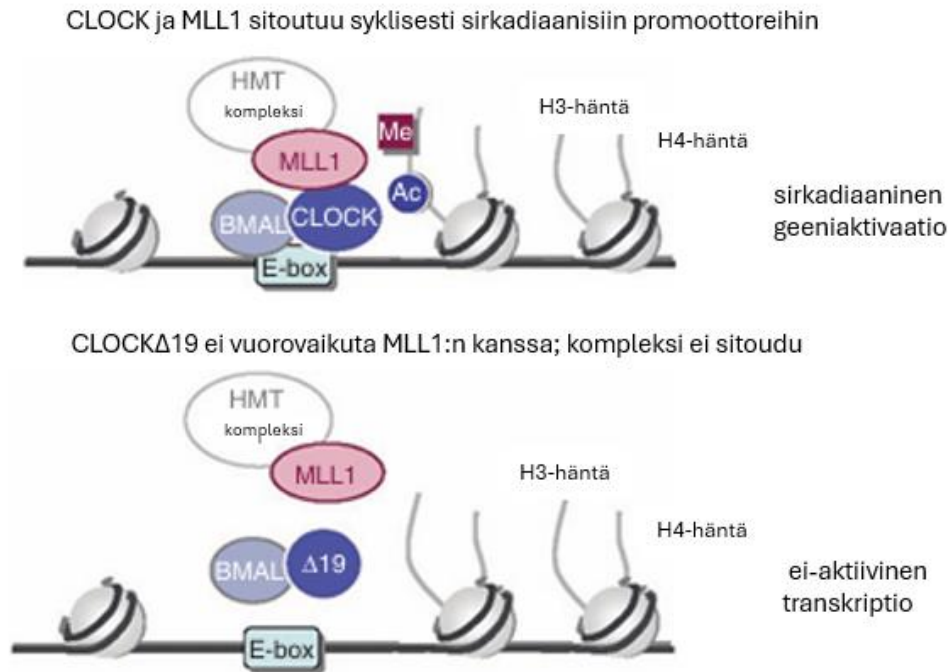
NAD⁺-riippuvainen histonideasetylaasi sirtuiini 1 (engl. sirtuin 1, SIRT1) on tumaproteiini, joka säätelee aineenvaihduntaa ja fysiologisia prosesseja. SIRT1 vuorovaikuttaa CLOCK:in kanssa ja se rekrytoidaan osaksi CLOCK-BMAL1-kompleksia sirkadiaanisten geenien promoottoreihin. CLOCK asetyloi H3K9:n ja H3K14:sta, joita SIRT1 taas deasetyloi. Tällä tavalla SIRT1 säätelee histonien rytmisen asetylaatiota sekä osallistuu sirkadiaaniseen kromatiinin muokkaukseen. (Nakahata ym., 2008.)

5.2.2. Histonien metylaatio

Sirkadiaanisen syklin repressiivisessä vaiheessa PER-proteiinit rekrytoivat heterokromatiiniproteiini 1γ :n (engl. heterochromatin protein 1γ , HPI γ) ja kirjavuuden supressori 3-9 homologin (engl. suppressor of variegation 3-9 homologue, Suv39h). HPI γ ja Suv39h muodostavat kompleksin HP1 γ -Suv39h, joka on histonimetyylitransferaasi. HP1 γ -Suv39h sitoutuu *per1*- ja *per2*-geenien promoottoreihin, ja di- ja trimetyloi *per1*:n promoottorin H3K9:n. Tämän seurauksena *per1*:n transkriptio hiljenee. H3K9:n metylaatio tapahtuu noin neljä tuntia sen deasetylaation jälkeen, mikä tukee paikallista repressiivisen kromatiinitilan ylläpitoa. (Duong & Weitz, 2014.) Kellogeenit pysyvät yöllä hiljennettyinä vielä CRY:n ja PER:n hajottamisen jälkeen. Voisikin siis ajatella, että H3K9:n metylaatio sekä HP1 γ -Suv39h toimivat kellogeenien ilmentymisen hiljentäjinä, kunnes BMAL1-CLOCK-kompleksi aloittaa sirkadiaanisen syklin alusta seuraavana aamuna. Mekanismi viittaisi siihen, että sirkadiaanista H3K9:n demetylaatiota tarvitaan CLOCK-BMAL1-kompleksin sitoutumista ennen tai sen jälkeen, mutta tällaista mekanisme ei vielä tunneta. (Papazyan ym., 2016.)

Jopa viidennes sirkadiaanisten geenien ilmentymisestä hiiren maksassa on yhdistetty H3K4:n trimetylaation vaihteluun (Valekunja ym., 2013). Sekoitettun taustan leukemia 1 (engl. mixed lineage leukemia 1, MLL1) on histonimetyylitransferaasi, joka trimetyloi erityisesti H3K4:n (H3K4me3). Trimetylaatio saa aikaan avoimemman kromatiinirakenteen, mikä lisää sirkadiaanisten geenien ilmentymistä. MLL1 säätelee transkriptioaktiivisuutta ja lisää välillisesti CLOCK-BMAL1-kompleksin transkriptioaktiivisuutta. H3K4me3 tapahtuu sirkadiaanisessa rytmisissä kellon säätelien geenien kuten *dbp*:n promoottoreissa. MLL1:tä tarvitaan aktiiviseen transkriptioon ja se on siten välttämätön sirkadiaanisten geenien ilmentymiselle. Lisäksi MLL1:tä tarvitaan sekä sykliseen H3K4:n trimetylaatioon että H3:n asetylaatioon. (Katada & Sassone-Corsi, 2010.)

MLL1:n on havaittu vuorovaikuttavan CLOCK:n ja BMAL1:n kanssa tietyissä sirkadiaanisen syklin vaiheissa. Tämän on havaittu tapahtuvan rinnakkain H3:n syklisen asetylaation ja metylaation kanssa. Havainnot voisivat viitata siihen, että MLL1 lisää CLOCK-BMAL1-kompleksin sitoutumista kromatiiniin. Lisäksi MLL1:n puuttuessa CLOCK:in ja BMAL1:n sitoutuminen kromatiiniin heikkenee ja sitoutumisen rytmisyys häiriintyy. Tämä viittaisi siihen, että MLL1 vaikuttaa suoraan CLOCK-BMAL1-kompleksin sitoutumiseen kromatiiniin sekä sirkadiaaniseen toimintaan. (Katada & Sassone-Corsi, 2010.)



Kuva 3. MLL1:n vuorovaikutus normaalin CLOCK-proteiinin sekä mutantin CLOCK- Δ 19-proteiinin kanssa. Muokattu Katada & Sassone-Corsi (2010).

Toisaalta MLL1 tarvitsee toimivan CLOCK-proteiinin, sillä se ei vuorovaikuta mutantin proteiinin CLOCK- Δ 19:n kanssa (kuva 3). CLOCK- Δ 19:n sitoutuminen DNA:han, dimerisaatio BMAL1:n kanssa sekä toiminta histoniasetyylitransferaasina ovat normaaleja. MLL1:n merkitystä sirkadiaanisten rytmien säätelyssä korostaa se, että sirkadiaanisten geenien transkriptioaktiivisuus on huomattavasti heikentynyt, kun MLL1 ei pysty sitoutumaan CLOCK-proteiiniin. (Katada & Sassone-Corsi, 2010.)

Sekoitetun taustan leukemia 3 (engl. mixed lineage leukemia 3, MLL3) on histonimetyylitransferaasi, joka trimetyloi H3K4:n. Valekunja ym. (2013) havaitsivat *rev-erba*, *per1*, *per2*, *cry1*, *cry2* ja *bmal1*-geenien lokuksissa vaihtelua H3K4:n trimetylaatioissa sirkadiaanisen rytmin mukaisesti. Lisäksi he huomasivat, että MLL3:n aktiivisuuden vähentäminen häiritsee kellogeenien transkriptioaktiivisuutta. Toisaalta taas Baxter ym. (2022) eivät havainneet eroa H3K4me3:n villityypin hiirten sekä hiirten, joilta puuttui MLL3, maksojen välillä. Heidän mukaansa MLL3:a ei tarvita sirkadiaanisen syklin ylläpitoon. Sen sijaan he huomasivat, että MLL3 voi vaikuttaa tulehdusvasteeseen. (Baxter ym., 2022.)

Zesten homologin tehostaja 2 (engl. enhancer of zeste homolog 2, EZH2) on histonimetyylitransferaasi, joka metyloi histoni 3:n lysyiini 27:n (H3K27), mikä aiheuttaa transkription hiljentämisen. EZH2 sitoutuu *per1*:n ja *per2*:n promoottoreihin ja di- ja trimetyloi niiden H3K27:t. Tämä aiheuttaa näiden geenien transkription hiljentämisen. EZH2 myös lisää CRY-proteiinien ohjaamaa transkription hiljentämistä, ja voidaankin olettaa, että H3K27:n metylaatio toimisi kromatiinimarkkerina CRY-proteiineille transkription vaimentamiseksi. EZH2:n ilmentymisen häiritsemisen RNA-interferenssillä on havaittu aiheuttavan muutoksen sirkadiaanisissa rytmeissä, mikä viittaa EZH2:n merkitykseen rytmien stabiilisuudessa sekä ylläpidossa. (Etchegaray ym., 2006.) Kuitenkaan H3K27:n metylaatiota ja EZH2:n merkitystä transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilukassa ei vielä täysin tunneta, ja mekanismi näyttää riippuvan solutyypistä (González-Suárez & Aguilar-Arnal, 2024).

Fosforyloitu lysyiini-spesifinen demetylaasi 1 (engl. lysine-specific demethylase 1, LSD1) muodostaa kompleksin CLOCK-BMAL1:n kanssa ja lisää transkriptioaktiivisuutta. LSD1 demetyloi H3K9:n ja H3K4:n. Proteiinkinasi $C\alpha$ (engl. protein kinase $C\alpha$, PKC α) fosforyloi LSD1:n sirkadiaanisen rytmin mukaisesti valoärsytyksen seurauksena. (Nam ym., 2014.) Nam ym. (2014) havaitsivat, että hiirillä LSD1:n hiljentäminen hiljentää ydinkellogeenien rytmistä ilmentymistä sekä muuttaa liikkumisaktiivisuuden sirkadiaanista rytmiä. Lisäksi he havaitsivat LSD1:n hiljentämisen häiritsevän myös sirkadiaanisen kellon nollausta. Kuitenkaan H3K9:n ja H3K4:n dimetylaatiotasojen ei havaittu merkittävästi eroavan toisistaan villityypin hiirten ja LSD1-mutanttien hiirten maksoissa (Nam ym., 2014). Sen sijaan he havaitsivat, että H3K9:n asetylaatio oli heikentynyt LSD1-mutanttien hiirten maksassa.

LSD1:n on myös havaittu vuorovaikuttavan histoneja muokkaavien tekijöiden SIRT1, HDAC3 ja SUV39h2 kanssa. Kuitenkin tarvitaan lisää tutkimusta mekanismista, jolla LSD1 vaikuttaa sirkadiaanisten geenien ilmentymisen säätelyyn ja histonien asetylaatioon. (González-Suárez & Aguilar-Arnal, 2024.)

6. YHTEENVETO

Sirkadiaanisen kellon ja sen luomien sirkadiaanisten rytmien säätelyyn osallistuu monia eri kromatiinia muokkaavia tekijöitä, joiden kaikkien toimintamekanismia tai tarkkaa vaikutusta sirkadiaanisiin rytmeihin ei vielä tunneta.

Sirkadiaanisen kellon transkriptio-translaatio-takaisinkytkentäsilukoiden transkriptiotekijät vuorovaikuttavat kromatiinia muokkaavien tekijöiden kanssa, ja siten yhdistävät sekä transkriptiotekijät että epigeneettiset tekijät sirkadiaanisten rytmien säätelyyn. Sirkadiaanisen syklin aktiivisessa vaiheessa CLOCK-BMAL1-kompleksi vuorovaikuttaa niin histoniasetyylitransferaasien p300 ja CBP, histonideasetylaasin SIRT1, histonimetyylitransferaasin MLL1 kuin demetylaasienkin JARID1a ja LSD1 kanssa, ja vaikuttaa siten sirkadiaanisten geenien transkriptioaktiivisuuteen. Syklin repressiivisessä vaiheessa PER ja CRY taas vuorovaikuttavat efektorikompleksien kanssa, jotka rekrytoivat histonideasetylaaseja HDAC1 ja HDAC2 sitoutumaan kromatiiniin ja hiljentämään transkriptiota. Lisäksi PER ja CRY vuorovaikuttavat histonimetyylitransferaasin HPI γ -Suv39h kanssa. Myös sekundaariseen sykliin osallistuva REV-ERB α rekrytoi HDAC3:n sitoutumaan kromatiiniin ja säätelemään transkriptioaktiivisuutta. Näiden lisäksi myös DNA-metylaation on havaittu vaikuttavan sirkadiaanisten rytmien säätelyyn.

Sirkadiaanisen kellon ja sen luomien sirkadiaanisten rytmien säätely on siis monimutkainen kokonaisuus. Koska sirkadiaaninen kello vaikuttaa laajasti elimistön toimintaan sekä eliöiden käytökseen, on sen tunteminen olennaista elimistön ja eliöiden toiminnan ymmärtämiseksi. Lisäksi sirkadiaanisten rytmien häiriöt on yhdistetty moniin sairauksiin, minkä takia sirkadiaanisen kellon toiminnan ymmärtäminen on myös tärkeää hoitokeinojen kehittämisen kannalta.

Koska myös epigeneettiset mekanismit osallistuvat sirkadiaanisen kellon säätelyyn, on niidenkin vaikutukset sirkadiaanisen kellon toimintaan otettava huomioon. Tutkielmassa käsiteltyjen kromatiinia muokkaavien tekijöiden lisäksi tunnetaan muitakin tekijöitä, mutta niiden tarkkaa vaikutusmekanismia ei vielä tiedetä. Tarvitaankin siis vielä lisää tutkimusta siitä, mitkä epigeneettiset tekijät vaikuttavat sirkadiaanisen kellon säätelyyn ja miten epigeneettisten tekijöiden säätelyllä voidaan vaikuttaa sirkadiaanisen kellon toimintaan ja sirkadiaanisiin rytmeihin.

LÄHTEET

- Albrecht, U., Zheng, B., Larkin, D., Sun, Z. S., & Lee, C. C. (2001). *mPer1* and *mPer2* Are Essential for Normal Resetting of the Circadian Clock. *Journal of Biological Rhythms*, *16*(2), 100–104. <https://doi.org/10.1177/074873001129001791>
- Alenghat, T., Meyers, K., Mullican, S. E., Leitner, K., Adeniji-Adele, A., Avila, J., Bućan, M., Ahima, R. S., Kaestner, K. H., & Lazar, M. A. (2008). Nuclear receptor corepressor and histone deacetylase 3 govern circadian metabolic physiology. *Nature*, *456*(7224), 997–1000. <https://doi.org/10.1038/nature07541>
- Azzi, A., Dallmann, R., Casserly, A., Rehrauer, H., Patrignani, A., Maier, B., Kramer, A., & Brown, S. A. (2014). Circadian behavior is light-reprogrammed by plastic DNA methylation. *Nature Neuroscience*, *17*(3), 377–382. <https://doi.org/10.1038/nn.3651>
- Azzi, A., Evans, J. A., Leise, T., Myung, J., Takumi, T., Davidson, A. J., & Brown, S. A. (2017). Network Dynamics Mediate Circadian Clock Plasticity. *Neuron*, *93*(2), 441–450. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.022>
- Baxter, M., Poolman, T., Cunningham, P., Hunter, L., Voronkov, M., Kitchen, G. B., Goosey, L., Begley, N., Kay, D., Hespe, A., Maidstone, R., Loudon, A. S. I., & Ray, D. W. (2022). Circadian clock function does not require the histone methyltransferase MLL3. *The FASEB Journal*, *36*(7), e22356. <https://doi.org/10.1096/fj.202200368R>
- Cheng, M. Y., Bullock, C. M., Li, C., Lee, A. G., Bermak, J. C., Belluzzi, J., Weaver, D. R., Leslie, F. M., & Zhou, Q.-Y. (2002). Prokineticin 2 transmits the behavioural circadian rhythm of the suprachiasmatic nucleus. *Nature*, *417*(6887), 405–410. <https://doi.org/10.1038/417405a>
- Curtis, A. M., Seo, S., Westgate, E. J., Rudic, R. D., Smyth, E. M., Chakravarti, D., FitzGerald, G. A., & McNamara, P. (2004). Histone Acetyltransferase-dependent Chromatin

- Remodeling and the Vascular Clock. *Journal of Biological Chemistry*, 279(8), 7091–7097. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311973200>
- DiTacchio, L., Le, H. D., Vollmers, C., Hatori, M., Witcher, M., Secombe, J., & Panda, S. (2011). Histone Lysine Demethylase JARID1a Activates CLOCK-BMAL1 and Influences the Circadian Clock. *Science*, 333(6051), 1881–1885. <https://doi.org/10.1126/science.1206022>
- Doi, M., Hirayama, J., & Sassone-Corsi, P. (2006). Circadian Regulator CLOCK Is a Histone Acetyltransferase. *Cell*, 125(3), 497–508. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.033>
- Duong, H. A., & Weitz, C. J. (2014). Temporal orchestration of repressive chromatin modifiers by circadian clock Period complexes. *Nature Structural & Molecular Biology*, 21(2), 126–132. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2746>
- Etchegaray, J.-P., Yang, X., DeBruyne, J. P., Peters, A. H. F. M., Weaver, D. R., Jenuwein, T., & Reppert, S. M. (2006). The Polycomb Group Protein EZH2 Is Required for Mammalian Circadian Clock Function. *Journal of Biological Chemistry*, 281(30), 21209–21215. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603722200>
- Feng, D., Liu, T., Sun, Z., Bugge, A., Mullican, S. E., Alenghat, T., Liu, X. S., & Lazar, M. A. (2011). A Circadian Rhythm Orchestrated by Histone Deacetylase 3 Controls Hepatic Lipid Metabolism. *Science*, 331(6022), 1315–1319. <https://doi.org/10.1126/science.1198125>
- Fernandez, D. C., Chang, Y.-T., Hattar, S., & Chen, S.-K. (2016). Architecture of retinal projections to the central circadian pacemaker. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(21), 6047–6052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523629113>
- Fishman, B., & Tauber, E. (2024). Epigenetics and seasonal timing in animals: A concise review. *Journal of Comparative Physiology A*, 210(4), 565–574. <https://doi.org/10.1007/s00359-023-01673-3>

- Gallego, M., & Virshup, D. M. (2007). Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(2), 139–148.
<https://doi.org/10.1038/nrm2106>
- González-Suárez, M., & Aguilar-Arnal, L. (2024). Histone methylation: At the crossroad between circadian rhythms in transcription and metabolism. *Frontiers in Genetics*, 15, 1343030. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1343030>
- Guillaumond, F., Dardente, H., Giguère, V., & Cermakian, N. (2005). Differential Control of Bmal1 Circadian Transcription by REV-ERB and ROR Nuclear Receptors. *Journal of Biological Rhythms*, 20(5), 391–403. <https://doi.org/10.1177/0748730405277232>
- Joska, T., Zaman, R., & Belden, W. (2014). Regulated DNA Methylation and the Circadian Clock: Implications in Cancer. *Biology*, 3(3), 560–577. <https://doi.org/10.3390/biology3030560>
- Katada, S., & Sassone-Corsi, P. (2010). The histone methyltransferase MLL1 permits the oscillation of circadian gene expression. *Nature Structural & Molecular Biology*, 17(12), 1414–1421. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1961>
- Kim, Y. H., & Lazar, M. A. (2020). Transcriptional Control of Circadian Rhythms and Metabolism: A Matter of Time and Space. *Endocrine Reviews*, 41(5), 707–732.
<https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa014>
- Liu, Y., & Sancar, A. (2025). Biochemical mechanism of the mammalian circadian clock. *FEBS Letters*, 1873-3468.70150. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.70150>
- Maekawa, F., Shimba, S., Takumi, S., Sano, T., Suzuki, T., Bao, J., Ohwada, M., Ehara, T., Ogawa, Y., & Nohara, K. (2012). Diurnal expression of Dnmt3b mRNA in mouse liver is regulated by feeding and hepatic clockwork. *Epigenetics*, 7(9), 1046–1056.
<https://doi.org/10.4161/epi.21539>

- Masri, S., & Sassone-Corsi, P. (2010). Plasticity and specificity of the circadian epigenome. *Nature Neuroscience*, *13*(11), 1324–1329. <https://doi.org/10.1038/nn.2668>
- Masri, S., & Sassone-Corsi, P. (2013). The circadian clock: A framework linking metabolism, epigenetics and neuronal function. *Nature Reviews Neuroscience*, *14*(1), 69–75. <https://doi.org/10.1038/nrn3393>
- Mitsui, S., Yamaguchi, S., Matsuo, T., Ishida, Y., & Okamura, H. (2001). Antagonistic role of E4BP4 and PAR proteins in the circadian oscillatory mechanism. *Genes & Development*, *15*(8), 995–1006. <https://doi.org/10.1101/gad.873501>
- Nakahata, Y., Kaluzova, M., Grimaldi, B., Sahar, S., Hirayama, J., Chen, D., Guarente, L. P., & Sassone-Corsi, P. (2008). The NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT1 Modulates CLOCK-Mediated Chromatin Remodeling and Circadian Control. *Cell*, *134*(2), 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.002>
- Nam, H. J., Boo, K., Kim, D., Han, D.-H., Choe, H. K., Kim, C. R., Sun, W., Kim, H., Kim, K., Lee, H., Metzger, E., Schuele, R., Yoo, S.-H., Takahashi, J. S., Cho, S., Son, G. H., & Baek, S. H. (2014). Phosphorylation of LSD1 by PKC α Is Crucial for Circadian Rhythmicity and Phase Resetting. *Molecular Cell*, *53*(5), 791–805. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.01.028>
- Naruse, Y., Oh-hashii, K., Iijima, N., Naruse, M., Yoshioka, H., & Tanaka, M. (2004). Circadian and Light-Induced Transcription of Clock Gene *Per1* Depends on Histone Acetylation and Deacetylation. *Molecular and Cellular Biology*, *24*(14), 6278–6287. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.14.6278-6287.2004>
- Pacheco-Bernal, I., Becerril-Pérez, F., & Aguilar-Arnal, L. (2019). Circadian rhythms in the three-dimensional genome: Implications of chromatin interactions for cyclic transcription. *Clinical Epigenetics*, *11*(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0677-2>

- Papazyan, R., Zhang, Y., & Lazar, M. A. (2016). Genetic and epigenomic mechanisms of mammalian circadian transcription. *Nature Structural & Molecular Biology*, *23*(12), 1045–1052. <https://doi.org/10.1038/nsmb.3324>
- Preitner, N., Damiola, F., Luis-Lopez-Molina, Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The Orphan Nuclear Receptor REV-ERB α Controls Circadian Transcription within the Positive Limb of the Mammalian Circadian Oscillator. *Cell*, *110*(2), 251–260. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00825-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00825-5)
- Satou, R., Sugihara, N., Ishizuka, Y., Matsukubo, T., & Onishi, Y. (2013). DNA methylation of the BMAL1 promoter. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *440*(3), 449–453. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.09.124>
- Stevenson, T. J. (2017). Circannual and circadian rhythms of hypothalamic DNA methyltransferase and histone deacetylase expression in male Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *General and Comparative Endocrinology*, *243*, 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.11.011>
- Stevenson, T. J. (2018). Epigenetic Regulation of Biological Rhythms: An Evolutionary Ancient Molecular Timer. *Trends in Genetics*, *34*(2), 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.11.003>
- Takahashi, J. S. (2017). Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nature Reviews Genetics*, *18*(3), 164–179. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.150>
- Valekunja, U. K., Edgar, R. S., Oklejewicz, M., Van Der Horst, G. T. J., O'Neill, J. S., Tammanini, F., Turner, D. J., & Reddy, A. B. (2013). Histone methyltransferase MLL3 contributes to genome-scale circadian transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(4), 1554–1559. <https://doi.org/10.1073/pnas.1214168110>

- Yamaguchi, S., Mitsui, S., Yan, L., Yagita, K., Miyake, S., & Okamura, H. (2000). Role of DBP in the Circadian Oscillatory Mechanism. *Molecular and Cellular Biology*, 20(13), 4773–4781. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.13.4773-4781.2000>
- Ye, R., Selby, C. P., Chiou, Y.-Y., Ozkan-Dagliyan, I., Gaddameedhi, S., & Sancar, A. (2014). Dual modes of CLOCK:BMAL1 inhibition mediated by Cryptochrome and Period proteins in the mammalian circadian clock. *Genes & Development*, 28(18), 1989–1998. <https://doi.org/10.1101/gad.249417.114>
- Zhang, R., Lahens, N. F., Ballance, H. I., Hughes, M. E., & Hogenesch, J. B. (2014). A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(45), 16219–16224. <https://doi.org/10.1073/pnas.1408886111>