

Geneettisten ja epigeneettisten mutaatioiden välinen dynamiikka

Joni Vuorinen

Biologia
LuK-tutkielma
Laajuus: 6 op

24.2.2026
Turku

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

Geneettiset ja epigeneettiset mutaatiot ovat eliön fenotyyppiä määrittäviä muokkauksia. Geneettiset mutaatiot, kuten pistemutaatiot, muokkaavat DNA-sekvenssin emäsjärjestystä ja lisäävät näin geneettistä muuntelua. Geneettisten mutaatioiden syntyyn vaikuttavat sekä sisäiset tekijät, kuten genomien koostumus, että ulkoiset tekijät kuten mutageenit. Geneettinen pistemutaatio voi johtaa erilaisen geenituotteen syntymiseen. Epigeneettiset mutaatiot eivät muokkaa DNA-sekvenssin järjestystä, mutta vaikuttavat geenituotteen määrään. DNA-metylaatio on keskeinen epigeneettinen mekanismi, joka vaikuttaa geenien toimintaan, solujen erilaistumiseen ja fenotyypin plastisuuteen. Epigeneettiset mutaatiot syntyvät tietyn ympäristön olosuhteen indusoimana, jolloin muokkaus kohdistuu solun toimintaan siten, että mutaation omaava solu on varautunut tähän tiettyyn olosuhteeseen.

Geneettiset ja epigeneettiset mutaatiot ovat dynaamisesti vuorovaikutuksessa. Nämä mutaatiot voivat johtaa sopeuman muodostumiseen ja parantaa yksilön kelpoisuutta. Sopeutuminen voi tapahtua sekä geneettisten mutaatioiden että epigeneettisten muutosten kautta. Epigeneettinen muuntelu voi mahdollistaa nopean vasteen ympäristön muutoksiin, jota geneettinen muuntelu voi myöhemmin vakiinnuttaa. Kumpikin mutaatiotyypistä voi vaikuttaa toisen mutaation syntymiseen. Metyloituneet CpG-saarekkeet ovat alttiita mutaatioille, mikä yhdistää epigeneettiset ja geneettiset muutokset toisiinsa. Näin metylaatio voi ohjata mutaatioiden syntyä ja vaikuttaa sopeutumiseen sekä pitkän aikavälin evoluutioon. Metylaatio kohdistuu DNA:n emäksistä useimmiten sytosiiniin, joten sytosiinin lisäävä pistemutaatio vaikuttaa myös metylointiin.

Mutaatiotyypeistä molemmat ovat periytyviä, ja vaikuttavat myös näin lajien kehittymiseen ja evoluutioon. Geneettiset mutaatiot säilyvät usein pitkään genomissa, kun taas epigeneettiset mutaatiot voivat pyyhkiytyä sukupolvien välissä pois riippuen lajista ja ympäristöstä.

Useista tutkimuksista on selvinnyt mutaatiotyypien välillä olevan keskusteluyhteys. Geneettisten ja epigeneettisten mekanismien ymmärtäminen on tärkeää paitsi evoluutiobiologian, myös luonnonsuojelun ja lääketieteen kannalta, sillä sekä mutaatiot että DNA-metylaatio liittyvät sopeutumiseen, sairauksiin ja populaatioiden elinkelpoisuuteen.

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Geneettiset mutaatiot	3
3	Epigeneettiset mutaatiot	5
4	Mutaatiot ja sopeumat	8
4.1	CpG -saarekkeiden mutaatiot.....	10
4.2	Geneettinen muuntelu epigenetiikkaa säätelevänä tekijänä	13
5	Periytyminen	14
6	Metylaation tutkiminen ja tiedon käyttökohteet	16
6.1	Luonnonsuojelun toteutukset.....	17
6.2	Mutaatioiden hyödyntäminen lääketieteessä	19
7	Yhteenveto	21
8	Lähdeluettelo	22

1 Johdanto

Eliöt koostuvat soluista, joissa jokaisessa on identtinen genomi keskenään. Kudokset ja elimet poikkeavat kuitenkin keskenään toiminnallisesti, sillä yksilön eri kudoksilla ja solutyypeillä onkin erilainen epigenomi. Epigeneettiset mutaatiot ovat kattotermi mutaatioista, jotka eivät muuta DNA:n emäsjärjestystä. Epigeneettiset mekanismit, jotka muodostavat epigenomin ovat: DNA:n metylaatio, kromatiinin uudelleenmuokkaus, histonien muokkaus ja ei-koodavat RNA:t. Epigeneettiset mekanismit ovat tärkeitä transkription säätelijöitä, jolla ne vaikuttavat kudosten kehittymiseen ja erilaistumiseen. Epigeneettisistä mekanismeista DNA:n metylaatio on tunnetuin.

Geneettiset mutaatiot ovat mutaatioita, jotka muuttavat DNA:n emäsjärjestystä. Tällaisia mutaatioita tapahtuu kromosomien ja kromosomiston tasolla myös. Kromosomimutaatioissa kromosomin osat ovat muokkauksen kohteena ja kromosomistomutaatioissa kromosomien määrä muuttuu. Geneettiset pistemutaatiot ovat perimässä esiintyviä mutaatioita, jotka perustuvat DNA:n emäsparin muutokseen. Mutaatioiden aiheuttajia kutsutaan mutageeneiksi, ja näistä radikaaleimpia ovat ionisoiva säteily tai jotkut sytotoksiset aineet. Niiden mekanismi perustuu siihen, että kyseiset elementit häiritsevät DNA:n emästen rakennetta aiheuttaen nukleotidin korvauksen toisella tai vaikka poistamisen paikaltaan. DNA:n emäsjärjestys voi muuttua myös genomien kopioinnin aikana DNA-polymeraasin virheellisestä toiminnasta.

Geneettiset mutaatiot säilyvät sukupolvia tarkastellessa pitkään genomissa, minkä takia niiden avulla voidaan päätellä eliöiden sukulaisuutta saman mutaation omistavaan eliöön.

Monipuolinen geenipooli populaatiossa antaa populaatiolle valmiudet useampaan ympäristön tuomaan haasteeseen. Eliön epigenomi muokkaantuu elinkaaren aikana, ja muokkaukset ovat usein hyödyllisiä vallitseviin olosuhteisiin nähden. Sekä geneettiset että epigeneettiset mutaatiot ovat periytyviä. Epigeneettinen mutaatio syntyy ympäristön vaikuttamana ja peritty ominaisuus on usein vanhemman elinaikana hyödyllinen ominaisuus, joka siirtyy jälkeläiselle. Tällöin puhutaan epigeneettisestä leimautumisesta, joka voi purkautua sukupolvien välillä, toisin kuin geneettinen mutaatio.

Epigeneettisistä menetelmistä olen valinnut käsiteltäväksi DNA-metylaation, sillä se on tunnetuin. DNA-metylaation vaikutus on kattavasti tutkittavissa, koska tutkimusmenetelmät soveltuvat nuseille eri lajeille. Geneettisistä mutaatioista pistemutaatiot ovat sekä merkityksellisimpiä että yleisimpiä sopeutumien syntymiseen ja muutoksiin evolutiivisesti

lyhyellä aikavälillä. Tässä tutkielmassa keskityn pistemutaatioihin ja DNA-metylaatioon, johtuen niiden välisestä merkityksellisestä vuorovaikutuksesta. Vaikka pistemutaatiot ovatkin kytköksissä muihin epigeneettisiin mekanismeihin, kuten histonien muokkaamiseen (*Kato ym 2015*), DNA-metylaation ja pistemutaation välillä on selkeä ja merkityksellinen yhteys, jota kannattaa tarkastella. Pistemutaatiot ja DNA-metylaatio tuottavat sopeumia ja vaikuttavat lajiutumiseen. Tuntemalla pistemutaatioiden ja DNA-metylaation välistä dynamiikkaa selventyy myös eliöiden sopeutumismekanismit ja evolutiivinen potentiaali. Näihin liittyviä tietoja voidaan mahdollisesti soveltaa niin lääketieteessä kuin luonnonsuojelussa.

2 Geneettiset mutaatiot

Pistemutaatiot ovat usein neutraaleja tai negatiivisia yksilön kelpoisuuden kannalta, kun taas kelpoisuutta kohentavat mutaatiot ovat harvinaisia. Negatiivisimpia kelpoisuudelle ovat letaalimutaatiot, jotka johtavat kuolemaan ennen syntymää tai sukukypsyyttä. Pistemutaatio voi osua geenin koodaavaan osaan tai sen promoottorin alueelle. Pistemutaatio voi aiheuttaa muutoksia niin geenin koodaaman proteiinin toiminnassa, kun sen rakenteessakin. Proteiinia koodaavan alueen yhden tai kahden emäksen mittainen deletio tai insertio johtaa mRNA:ta luettaessa lukukehysten siirtymiseen. Lukukehys siirtyy, joka johtaa liian varhaiseen polypeptidiketjun lopetukseen ja toimimattoman proteiinin valmistamiseen. Myös emäksen substiuutio eli korvaaminen toisella voi johtaa polypeptidiketjun ennenaikaiseen katkaisemiseen.

DNA:n sisältämä tieto aminohappojen rakentamisesta välittyy kodoneittain eli kolmen emäksen kombinaatioina. Pistemutaatiota kutsutaan missense -mutaatioksi, kun nukleotidin vaihtuminen toiseen vaikuttaa siihen, että kodoni koodaa mutaation jälkeen eri aminohappoa. Yksittäisen aminohapon muuttuminen tai puuttuminen voi vaikuttaa transkriptioitavan proteiinin toimintaan. Nonsense -mutaatio puolestaan on pistemutaatio, joka muuttaa kodonin viimeisen emäksen lopetuskodoniksi, johtaen lyhyemmän aminohappoketjun valmistukseen. Tällaisen mutaation tuloksena mRNA:n lukukehys siirtyy, josta usein syntyy täysin toimimaton proteiini. Hiljaiset (synonyymiset) mutaatiot ovat mutaatiota, jotka ei muuta syntyvän proteiinin aminohappoketjua. Mutaatiot ovat neutraaleja mutaatioita, kun muutos aminohapposekvenssissä ei muuta syntyvän proteiinin toimivuutta.

Geneettiset mutaatiot voivat olla muita mutaatioita hiljentäviä. Ensimmäinen mutaatio voi hiljentyä toisen mutaation ansiosta samassa geenissä, siten että jälkimmäinen mutaatio peruuttaa ensimmäisen mutaation aiheuttaman muutoksen polypeptidiketjussa. Toinen esimerkki on kun, tRNA:ta koodaavassa geenissä tapahtuu mutaatioita, jotka voivat johtaa mutatoituneiden tRNA:den tuottoon. Mutatoituneet tRNA:t pariutuvat epätyypillisesti kodonien kanssa, ja näin synnyttävät erilaisia polypeptidiketjuja

Somaattisissa soluissa mutaatiot periytyvät ainoastaan solujen jälkeläisille (tytärsoluille). Mitä varhaisemmassa vaiheessa yksilönkehitystä mutaatio ilmenee, sitä useampaan soluun mutaatio päätyy jakautumisien kautta. Suvuttomassa lisääntymisessä somaattinen solu

jakautuu mitoottisesti ja jakautuneesta solusta syntyy uusi yksilö. Suvuttoman lisääntymisen jälkeläiset ovat perimältään identtisiä vanhempansa kanssa, ja suvuton lisääntyminen onkin yleistä eliöillä, joille nopea kannan kasvu on edullista kuten bakteerit.

Ituradan solujen mutaatiot ilmenevät gameetteja tuottavissa soluissa. Nämä mutaatiot periytyvät jälkeläiselle, ja ilmenevät tämän jokaisessa solussa mukaan lukien ituradan solut. Ituradan solut jakautuvat meioottisesti, jonka aikana perintöaines sekoittuu ja syntyy uudenlaisia kromosomeja. Uudenlaisten kromosomien myötä syntyy myös uudenlaisia yksilöitä ja suvullinen lisääntyminen onkin edullista ympäristössä, jossa yksilöiden muuntelevuudesta on hyötyä.

Mutaatioiden syntymisnopeus eli mutaatiotaajuus on riippuvainen sisäisistä ja ulkoisista tekijöistä. Sisäisiä tekijöitä, jotka vaikuttavat mutaation syntynopeuteen ovat mm. laji- ja genomispesifiset seikat. Genomissa tietyt alueet mutatoituvat helpommin kuin toiset, minkä ansiosta yksilön eri geenit mutatoituvat eri nopeudella. Yksilöiden sukulaisuudella on myös merkitystä mutaatiotaajuuteen, siten että sukulaisilla mutaatiotaajuus on samankaltaisempii keskenään. Mutaatiotaajuus on siis samankaltaisempi myös fylogeneettisesti läheisillä eliöillä keskenään. Ulkoiset tekijät, jotka vaikuttavat mutaatiofrekvenssiin ovat ympäristön indusoimat kemikaaliset, fysikaaliset tai biologiset tekijät (mutageenit).

3 Epigeneettiset mutaatiot

DNA:n metylaatio kohdistuu useimmiten sytosiiniin, mutta myös muita DNA:n nukleotideja kuten adeniinia metyloidaan. Metylointi kohdistuu DNA:ssa tyypillisesti CpG -saarekkeisiin, jotka ovat alueita DNA:ssa, jossa sytosiininukleotidin perässä on guaniininukleotidi. DNA-metyylitransferaasi (DNMT) on metylaatiosta vastaava entsyymi, joka metyloi CpG-kontekstissa. Metylaatio kohdistuu sytosiinin viidenteen hiileen, jolloin entsyymi muuttaa sytosiinin 5-metyylisytosiiniksi. Mitoosin jälkeen myös vastin DNA-juosteen CpG-saarekkeet metyloidaan metylaation ylläpito entsyymillä (DNMT1) toimesta, joka tunnistaa hemimetyloidun alueen DNA:sta. DNA:n jakautuessa uuteen juosteeseen liitetään myös metyyliryhmät; CpG-saarekkeiden metylaatio on siis perityvää. Molempien DNA-juosteiden metylaatio on oleellista genomien yhtenäisyydelle ja transponien toiminnalle. DNA on metyloitu sentromeereistä, telomeereistä, inaktivoituista X-kromosomeista ja toistojaksoista.

DNA:n metylointi estää transkriptiofaktorien kiinnittymistä DNA:han, jolloin transkriptio estyy. Metyylitransferaasien metyloitua DNA:ta, proteiinit, joissa on *Methyl-CpG-binding domain* (MBD-domaini) muodostavat sidoksia DNA:han. MBD-domaini on symmetrisesti metyloituu DNA-juosteeseen sitoutuva domaini. MBD:n sisältävät proteiinit sitoutuvat tyypillisesti joko suoraan DNA:han tai metyloituihin sytosiinisaarekkeisiin riippuen osallistuvien proteiinien laadusta. Metyloituneeseen alueeseen sitoutunut domaini täydentää geenin transkription supressiota yhteistyötä tekevien proteiinien avulla, sillä MBD-domainin omaavan proteiinin välityksellä myös histoni deasetalyytit (HDAC) ja kromatiinia muokkaavat tekijät osallistuvat kromatiinin pakkaamiseen. (Nan & Meehan ym 1993). MBD löytyy myös DNA-demetylaasista.

Selkärangattomilla DNA on suurimmilta osin runsaasti metyloitua, poikkeuksena CG-saarekkeet, promoottorit tai muut säätelyalueet (Klughammer ym 2023). Puolestaan selkärangattomilla runsasta DNA-metylaatiota esiintyy tyypillisesti tietyissä geneissä ja suurin osa genomista on metyloimaton, johtaen mosaiikkimaiseen metylointiin (Suzuki & Bird 2008). Selkärangattomista metylaatio on runsainta sammakkoeläimillä (Klughammer ym 2023) Vähemmän metyloituja eläimiä ovat selkärangattomat ja linnut.

Sytosiinien metylaatio on erilaista eliön mukaan. Eläimillä sytosiinien metylaatio kohdistuu lähinnä CpG -saarekkeisiin ja metylaatio huomattavasti yleisempää geenien promoottoreissa, kuin muualla genomissa. Nisäkkäillä metyyli transferaaseja on neljää eri tyyppiä, joista DNMT3a ja DNMT3b vastaavat aiemmin metyloimattomien CpG-saarekkeiden metyloinnista (Wu & Zhang, 2014) ja DNMT1 kopioi replikoinnin aikana metyloidun DNA-juosteen metyyli ryhmät vastinjuosteeseen ja näin ylläpitää metylaatiota (Deaton and Bird 2011). DNMT2:lla ei olla todistettavasti löydetty olevan suurta merkitystä DNA-metylaatio mallien asettajana. Sen sijaan sillä on merkitystä RNA-välitteisessä epigeneettisessä periytymisessä. DNMT2 metyloi tRNA:n stabiloiden tätä vanhemman gametogeneesin, tai sikiön varhaisen kehityksen aikana (Kiani ym. 2013).

Puolestaan kasveilla sytosiinejä metyloidaan useammassa emäsparikombinaatiossa (CG, CHG ja CHH) kuin ainoastaan sytosiinisaarekkeissa (Zhang ym 2006). Kasveilla kaikki DNA:n emäkset metyloidaan DRM2 -entsyymin toimesta (homologinen nisäkkäiden Dnmt3:en kanssa) RNA-ohjatulla DNA:n metylaatiolla (Zhong ym 2014).

DNA-metylaatio osallistuu läpi eliökunnan useisiin eri toimintoihin, riippuen eliöstä. Metylaation välittämää liikkuva elementti -tyyppisen DNA:n hiljennystä tavataan usealla eliöllä, jokseenkin erilaisena (Zhou W ym 2020). Prokaryooteilla DNA-metylaatio on osa eliön restriktio/modifikaatio isännänpuolustus -systeemiä. Vieras DNA ei siis assimiloidu prokaryootin genomiin johtuen restriktiosta. Selkärangattomilla eläimillä CpG -saarekkeiden metylaatiotaso on alhainen, joka johtaa rajoitettuun vieraan DNA:n assimiloitumiseen. Selkärangattomilla puolestaan suuri osa CpG -saarekkeista on metyloitujia, jolloin vieras DNA assimiloi tehokkaasti genomiin. Kasveilla toistojaksot ja liikkuvat elementit ovat korkeasti/runsaasti metyloitujia, joka korreloi liikkuvien elementtien ja niiden naapurigeenien hiljentämisen kanssa (Zhang ym 2006; Zhang & Zhu, 2011).

Eläimillä DNA-metylaatio linkittyy ikääntymiseen (Guynes, K ym 2024). Nisäkkäille tyypillinen geneettinen leimautuminen (Franklin ym 1996) ja X-kromosomin inaktivaatio (Sharp ym 2011) ovat myös metylaation kautta säädeltyjä tapahtumia.

DNA-metylaatio voi olla vasteena joustava, ulkoisen ja sisäisen ympäristön pieniinkin muutoksiin reagoiva, tai pysyvä mahdollistaen erot solujen, kudosten, yksilöiden ja populaatioiden välillä ns. ”vakaiden merkkien”(stable marks) ansiosta (Lanata ym 2018). Vaikka kyseessä onkin epimutaatio, fenotyyppi säilyy näiden vakaiden merkkien ansiosta,

jotka ovat joko vanhemmilta periytyviä tai ympäristön indusoimia. Sekä vakaalla että joustavalle DNA-metylaatiolla on seurauksensa fenotyypissä.

Jotkut metylaatiomerkeistä voidaan poistaa ja lisätä sekä sisäsyntyisistä että ympäristötekijöiden takia. Nämä metylaation muutokset tietyissä CpG -saarekkeissa voivat useiden tutkimusten mukaan tapahtua jopa minuuteissa ärsykkeen laukaistua (*Barres ym 2012; Herb ym 2018; Wiechmann ym 2019*). DNA-metylaatiovälitteinen geenien ilmenemisen säätely mahdollistaa nopean vasteen ja sen jälkeisen palautumisen normaaliin aineenvaihduntaan. Näin rivakan säätelyn takia, eliöt kykenevät vastaamaan äkillisiin ympäristön muutoksiin. DNA-metylaatio onkin yksi fenotyypin plastisuuden tukipilareista (*West-Eberhard 2003*). Osa DNA-metylaatiosta muuntelee ennustettavien luonnonsyklaristen vuorokausi- tai vuodenvaihtumisen mukaan (*Stevenson ym 2011*). Siperianhamsterin lisääntymisen fysiologia vaihtelee valojakson mukaisesti; talvisin lyhyistä valojaksoista seuraa sukupuolirauhasten taantuminen/vähäinen aktiivisuus ja kesän pitkistä valojaksoista seuraa sukupuolirauhasten aktivaatio.

4 Mutaatiot ja sopeumat

Populaation kohdatessa elinympäristön aiheuttamia haasteita, täytyy vähintään osalla populaatiosta olla sopeuma kyseistä haastetta vastaan populaation selviämiseksi. Sopeuma on ympäristön luomaan haasteeseen ja mahdollisuuksiin kohdistuva mukautumisprosessi tai sen tulos. Sopeumana voidaan pitää esimerkiksi siipiä linnuilla, mitkä ovat pitkän kehitysprosessin tulosta, ja on todennäköisesti vaatinut myös epigeneettisiä, mutta varsinkin geneettisiä muutoksia muodostuakseen sopeumaksi.

Pistemutaatiot ovat keskeinen geneettistä muuntelua edistävä tekijä populaatiossa. Mutaation tuloksena syntynyt uusi DNA-sekvenssi voi tuottaa uudenlaisen proteiinin tai vaikuttaa geeninluentaan, johtaen uuteen fenotyyppiin. Jos tämän uuden fenotyypin ominaisuudet ovat yhteensopivia vallitsevan ympäristön kanssa, kasvaa tämän fenotyypin omaavan yksilön kelpoisuus. Uuden fenotyypin tuottavat mutaatiot siirtyvät todennäköisemmin usealle jälkeläiselle, ajan kanssa lisäten kyseisen kohottaen alleelifrekvenssiä populaatiossa. Hyödylliset mutaatiot akkumuloituvat ja tulevat yleisemmiksi, joka on merkittävä prosessi sopeumien synnyssä. Näin sopeumat ovat myös merkittävässä roolissa evoluution prosesseissa.

Kaikki sopeumat eivät välttämättä vaadi geneettisiä mutaatioita ja voivat tapahtua lyhyessä ajassa, josta on todisteena Lighten ym (2016) täplärauskua (*Leucoraja ocellata*) koskeva tutkimus. Täplärauskun populaatio on sopeutunut kohonneeseen lämpötilaan nopeasti Saint Lawrence'n lahdessa. Kyseisen populaation rauskut ovat sopeutuneet 7000 vuoden aikana kohonneeseen lämpötilaan pienentämällä ruumiinkokoaan 45 %. Erityisen mielenkiintoiseksi on osoittautunut rauskun genomi, joka on pysynyt melkein täysin muuttumattomana. Sen sijaan rauskun geenien ekspressoinnissa on löydetty 3653 muutosta verrattuna Kanadan Scotian Shelf:issä sijaitsevaan normaalikokoiseen populaatioon. Toisin sanoen rausku on sopeutunut muokkaamalla fenotyyppiään epigeneettisin mekanismein.

Teoreettisen mallin mukaan (*Klironomos ym 2013; Kronholm & Collins 2016*) epigeneettinen variaatio muodostaa sopeuman kahdessa vaiheessa. Epigeneettiset mutaatiot syntyvät geneettistä mutaatiota nopeammin, jolloin populaatio sopeutuu ensin epigeneettisen muuntelun ansiosta. Tätä seuraa hidas epigeneettisen muuntelun korvaus geneettisellä mutaatiolla. Sopeumien muodostumista selvitettiin levillä (*Chlamydomonas reinhardtii*)

Kronholmin tutkimuksessa (2017). Levien epigeneettistä säätelyä muokattiin geneettisesti ja kemiallisesti käsittelemällä, jotta epigeneettisten mekanismien osuus sopeumien synnyssä selviäisi. Leviä käsiteltiin DNA-metylaatiota vähentävällä ja histonin deasetylaatiota inhiboivalla kemikaalilla, minkä lisäksi leviä kasvatettiin erilaisissa ympäristöolosuhteissa sopeumien synnyttämiseksi. Kokeen tuloksena havaittiin muutoksia levien genomissa; genomiin oli syntynyt useita mutaatioita. Muutoksia havaittiin silti enemmän DNA:n alueiden metyloinnissa, joita kutsutaan DMR:ksi (differently methylated region), kuin syntyneissä mutaatioissa. Tämä tulos on osittain yhdenmukainen Kronholmin ja Collinsin (2016) esittämän teoreettisen mallin kanssa, jonka mukaan geneettistä mutaatiota edeltää DNA-metylaatio. Teoria tukee myös kokeessa havaittua ilmiötä, jossa epigeneettisten mutaatioiden estyminen vaikutti sopeumien syntyvauhtiin hidastaen sitä. Kaikki sopeumien suhteen metylaatiota ja mutaatioita vertaavat raportit eivät ole tämän asian kanssa yhdenmukaisia, sillä *Arabidopsis thaliana* -kasvia (Becker ym 2011) koskevassa tutkimuksessa todettiin metyloitujen alueiden muutosten tapahtuvan yhtä nopeasti kuin mutaatioiden. *Arabidopsis* -kasvien DMR:ien stabilisuus on kuitenkin vahvasti geneettisesti kontrolloitua, kasvien ollessa luonnonpopulaatioita. Tästä poiketen Kronholmin (vuosi) tutkimuksen *C. reinhardtii* -levien muutokset DMR:ssä ovat suhteessa geneettiseen muunteluun ympäristöspesifisiä, kun taas Beckerin ym (2011) *Arabidopsis* -kasvien ympäristö on ollut vakio. Ympäristön lisäksi sopeumien syntymiseen metylaation kautta vaikuttaa mahdollisesti myös lajien (levä, kasvi) poikkeavuudet.

Hiiwasientä (*Saccharomyces cerevisiae*) koskevassa tutkimuksessa (Stajic ym 2019), tutkijat havaitsivat geenin epigeneettisen hiljentämisen säätelevän evolutiivisten sopeumien syntymistä ja -tapaa. Hiivojen SIR -proteiineilla on merkittävä osa geenin hiljentämisessä, johon ne osallistuvat deasetyloimalla kromatiinirihmaa. Tutkijat lisäsivät *URA3* reportterigeenin hiivan genomiin subtelomeeriselle alueelle, tarkoituksena havainnoida miten lisätyn geenin sijainti vaikuttaa geenin hiljentämiseen. *URA3* -geeni on urasiilin synteessin kannalta olennainen geeni, ja tässä kokeessa sen hiljentäminen auttaa hiivapopulaatiota, sillä populaatiot kasvatettiin lääkeliuoksessa, joka tekee urasiilistä hiivoille toksisen. Lisätyn geenin etäisyys telomeeristä havaittiin vaikuttavan vahvasti geenin hiljentämiseen. Telomeeristä 2 kB päähän lisätty geeni johti kaikkein voimakkaimpaan hiljentämiseen. Tästä sijainnista kumpaankin suuntaan geenin lisäys johti siis vähäisempään hiljentämiseen. Geenin hiljentämisellä havaittiin olevan vaikutusta sopeumien muodostumiseen, mutta tehokkaimman

sopeumien muodostumisen puolesta, hiljentämisen tulisi olla vahvuudeltaan juuri oikeaa. Keskinertaisella hiljentämisellä edistettiin sopeumien muodostumista kahdella tavalla. Hiljentäminen kasvatti populaation kokoa, jolloin haluttu mutaatio (*ura-*) saadaan nopeammin populaation geenipooliin. Lisäksi hiljennyskoneisto oli yhteydessä useaan uuteen mutatioon, joilla oli puolestaan vaikutus *URA3* -geenin päälle/poiskytkentään. Tutkimuksen yhteenvedona tuumitaan, että subtelomeerisellä alueella on evolutiivisesti kannattavaa säilyttää tiettyjä geenejä, johtuen alueen epigeneettisestä säätelystä. Alueen epigeneettinen kontrolointi mahdollistaa nopean sopeutumisen uudelleen stressiärsykkeeseen. Tämän kokeen havainnot toimivat hyvin esimerkkinä siitä, että sopeuman toteutuminen on usean mekanismin ansiota. Tässä kokeessa hiljentäminen vaikuttaa sekä populaation kasvuun hyödyllisen geenin ylesitymisellä että hiljentämiskoneisto on yhteydessä useaan uuteen hyödylliseen mutatioon. (*Stajic ym 2019*).

Kille ym (2012) selvittivät kastematoja koskevassa tutkimuksessa mikä mekanismi tarjoaa madoille sopeuman arsenikkiresistenttiyteen. Kokeessa analysoitiin matojen mitokondriot (sytokromioksidaasi II), tumien variaatio (AFLP eli fragmenttien polymorfia pituuden mukaan) ja DNA-metylaatio. Kokeen madot olivat kahdesta eri sukulinjasta, joista toisella havaittiin muutoksia DNA-metylaatioissa. Toisen sukulinjan yksilöillä havaittiin ainoastaan geneettisten komponenttien muutoksia AFLP-analysissä, mutta ei muutosta DNA-metylaatioissa. (*Kille ym 2012*). Voimme päätellä tästä että, populaation/yksilön alkuperällä on paljon tekemistä sopeuman muodostumisen kanssa. Langdon ym (2009) selvittivät tutkimuksessaan kaivoksen saastuneessa maassa eläneiden matojen jälkeläisten säilyttävän toleranssin saasteisiin vielä kahden sukupolven päähän, vaikka elivätkin puhtaassa maaperässä. Toleranssin säilyminen sukupolvien yli (saasteen poissaolosta huolimatta) saattaa ensisijaisesti vaikuttaa johtuvan geneettisestä mutaatiosta, mutta todellisuudessa lisätutkimukset olisivat tarpeellisia. (*Langdon ym 2009*). Sopeuma vaikuttaisi usean tutkimuksen pohjalta syntyvän vaihdellen epimutaatioista ja mutaatioista, riippuen ympäristöstä, eliöstä ja eliön geneettisestä taustasta.

4.1 CpG -saarekkeiden mutaatiot

CpG -saarekkeet mutatoituvat spontaanisti hydrolyyttisellä deaminaatiolla. Siinä missä sytosiinin deaminaatio tuottaa urasiilin, metyloidun sytosiinin deaminaatio tuottaa tymiinin (*Nabel ym 2012*). DNA:lle vieras urasiili poistetaan urasiili-DNA glykosylaasilla ja korvataan sytosiinillä, jolloin CpG -saareke pysyy ennallaan.

Entsyymit tyymiini-DNA glykosylaasi ja methyl-binding domain protein 4 (MBD4) voivat tunnistaa vieraan tyymiinin, mutta niiden interaktio deaminaatio tuotteiden kanssa ja niitä säätelevät tekijät ovat vielä tuntemattomat (*MacRae ym 2015; Gao ym 2016*). Jos tyymiiniä ei korvata ennen replikoitumista, CpG mutatioituu joko TpG:ksi tai CpA:ksi, riippuen metylaation orientaatiosta (*Bellacosa ym 2015*). Tiettyjen tutkimusten mukaan muut tekijät, kuten ympäröivän sekvenssin variaatio voivat vaikuttaa deaminaation kautta syntyvien mutaatioiden tahtiin (*Pfeifer 2006; Tomkova ym 2018*). TpG ja CpA muutokset ovat selkärankaisten keskuudessa yleisimpiä mutaatioita (*Branciamore ym 2010*).

Toisin kuin muut *de novo* -mutaatiot, metyloitujen sytosiinien mutaatiot ovat riippuvaisia solujakautumisista ja replikoitumisesta, ja näin kumuloituvat ajan kanssa (*Hwang ym 2004; Kim ym 2006; Moorjani ym 2016*). TpG:ksi tai CpA:ksi mutatoituneita CpG:tä kerääntyy ihmisen vanhetessa (*Alexandrov ym 2013*). Mitä kauemmin metylaatio on säilynyt ajan lävitse, sitä todennäköisemmin kohtaan syntyy metylaatorippuvainen mutaatio (*Qu ym 2018*). Joten ympäristön ohjatessa metylointia ja ympäristöolosuhteiden säilyessä vakaana ajan läpi, syntyy ”vakaita metylaatiomerkkejä” jotka todennäköisemmin mutatoituvat. Tämä johtaa fenotyypin vähäisempään säätelyyn metylaation kautta. Jos ympäristön muutokset johtaa vain CpG -saarekkeen harvaan metylaatioon, kohta mutatoituu epätodennäköisemmin.

Metylaation aiheuttamat CpG -mutaatiot osallistuvat adaptiiviseen evoluutioon, metyloituneiden sytosiinien mutatoituessa nopeammin, kun muut geneettiset aiheet (genetic motif) (*Walser ym 2010*). DNA-metylaatio muuntaa evoluution suuntaa ja nopeutta, sillä se muuttaa geneettistä säätelyä nopeammin kuin stokaistiset mutaatiot. Lyhyellä evolutiivisella aikavälillä DNA-metylaation aiheuttamat mutaatiot voivat olla geneettiseen assimilaatioon johtava mekanismi (*Danchin ym 2019*). Geneettisellä assimilaatiolla tarkoitetaan prosessia, jossa ympäristön indusoima ominaisuus muuttuu geneettisesti koodatuksi. Mitä pidempää spesifi CpG -saareke pysyy metyloituneena, sitä todennäköisemmin se mutatoituu (*Qu ym 2018*). CpG -saarekkeen mutatoituttua, metylaation aiheuttama fenotyyppi ylläpidetäänkin mutaation vaikutuksesta. Muutos on sopeuma, jos metylaatio tapahtuu aikana, joka signaloii ympäristön olosuhteiden olevan pysyviä usean sukupolven ajan (*Flores ym 2013*).

Geneettisen assimilaation lisäksi CpG -saarekkeisiin liittyvä kohonnut mutaatiofrekvenssi tuo genomiin ja evoluutioon muutoksia. Selkärankaisilla CpG -saarekkeita löytyy viisi kertaa odotettua vähemmän, johtuen DNA-metylaation vaikutuksesta niihin (*Mugal ym 2015*).

Genomin liikkuvissa elementeissä CpG -pitoisuus on korkea, jonka takia niissä tapahtuu enemmän myös deaminaatioita ja mutaatioita (*Zhou ym 2002*). Metylaation tuoma CpG -mutaatio voi luoda uusia transkriptiotekijöiden sitoutumiskohtia geenien promoottoreihin (*He ym 2015*).

Perun Andeilla elävällä linnulla hemoglobiinin affiniteetti on korkeampi happeen. Tämä poikkeava hemoglobiini johtuu mutaatiosta CpG:stä CpA:ksi. Näitä mutaatioita kohdataan tasaisesti vähemmän laskeuduttua vuorilta lähemmäs merenpintaa (*Galen ym 2015*). CpG -mutaatioilla on merkittävä rooli divergenssissä ja lajiutumisen (*Ying ym 2011*). Ihmisen ja simpanssin poikkeavuus koko genomin tasolla on alle 1%. Puolestaan CpG -mutaatioiden poikkeavuus on 15%:in luokkaa (*Bell ym 2012*). CpG -mutaatioilla on merkittävä rooli evoluution ja erilaistumisen tasolla, sillä koko genomin ja CpG -saarekkeiden voimakas kontrasti korostaa saarekkeiden merkitystä evoluutiolle (*Mikkelsen ym 2005*). Verrattaessa erilaisten mutaatiotyyppien yleisyyttä, myös domestikoituneen kanan lähimmällä sukulaisella punaviidakkokanalla (*Gallus gallus*) on CpG -mutaatioita muita mutaatioita huomattavasti enemmän (*Pértille ym 2019*). Tämä viittaisi siihen, että jo lyhyellä aikavälillä CpG -mutaatioiden merkitys evoluution prosesseihin, kuten lajiutuminen ja erilaistuminen on merkittävä.

Alhaisen tai keskinkertaisen metylaation omaavilla alueilla, erityisesti geenien välisissä alueissa tai introneissa on korkeampi CpG -mutaatioiden taso (*Xia ym 2012*). Näin ollen geneeissa, joilla tärkeä toiminta tai tiukka geenin säätely on tärkeää, CpG -saarekkeet ovat todennäköisemmin puskuroituja deaminaatiolta. Puolestaan geneeissa, jossa plastisuus ja säätelyn joustavuus on hyödyllistä, mutaatioita ilmenee useammin.

CpG -mutaatiot poistavat DNA-metylaation ”kasvualustan”, johtaen pysyvään DNA-metylaatioon perustuvaan geenisäätelyn vähenemiseen. CpG -mutaatiot voivat olla myös alleelispesifisten metylaatioiden perustana ja siitä seuraten alleelispesifisen ekspression (*Shoemaker ym 2010; Zhou ym 2015*) tai muiden geenisäätelyn tekijöiden kuten transkriptiotekijöiden sitoutumiskohtien (*Wang ym 2019*).

CpG -saarekkeiden määrä kuvastaa epigeneettistä potentiaalia tai piilevää kapasiteettiä siitä kuinka paljon DNA-metylaatiota voi tapahtua (*Kilvitis ym 2017*). Eliöt, joilla on korkea epigeneettinen potentiaali, ovat fenotyypiltään plastisempia kuin alhaisen epigeneettisen

potentiaalin omaavat. Fenotyypin plastisuus voi olla hyödyllinen vieraslajeille tai populaatiolle, joka leviää tasaisesti ja kohtaa koko ajan uusia ympäristön haasteita (*Hanson ym 2020*). CpG-saarekkeiden säilyttäminen genomissa voi toimia valinnan kannalta plastisuuden ylläpito mekanismina.

4.2 Geneettinen muuntelu epigenetiikkaa säätelevänä tekijänä

Geneettinen variaatio mahdollisesti peittää epigeneettisen variaation vaikutusta tutkimuksissa (*Chapelle & Silvestre 2022*). Geneettisen muuntelun tarkkaa vaikutusta epigeneettiseen muunteluun voi olla vaikea paikantaa, mutta genomien koostumuksia vertailemalla voidaan saada ainakin joitain eroja selville.

Eliön genomi toimii alustana DNA-metylaatiolle, ja genomien koostumuksella on myös näin merkityksensä metylaatioiden jäämiseen genomiin. Yhden maailman onnistuneimman vieraslajin, varpusen (*Passer domesticus*) levittäytyvien ja paikallisten populaatioiden välisistä epigeneettisestä säätelystä löydettiin eroja (*Schrey ym 2012*). Paikallisilla populaatioilla on vähemmän CpG -saarekkeita verrattuna kaukana vieraileviin populaatioihin. Alkuperäisestä ympäristöstä kauas muuttaneet linnut hyötyvät fenotyypin plastisuudesta, jolloin kasvaneesta epigeneettisestä potentiaalista on silloin hyötyä.

DNA- metylaatiota koskevan tutkimuksen mukaan suurin osa sukupolven ylittävistä samanlaisuudesta DNA-metylaatiota koskien, johtuu geneettisistä vaikutuksista (*McRae ym 2014*). Lisäksi McRae (2014) havaitsivat noin 20% yksilöiden eroista DNA-metylaatioissa selittyvän DNA-sekvenssin variaatiolla, jotka eivät sijaitse CpG-saarekkeissa. Tarkemmin sanottuna, sukulaisten samantasoinen DNA-metylaatio johtuu eniten geneettisestä periytyvyydestä, kun tarkastellaan genomien keskiarvoista metylaatiota.

Laboratorio olosuhteissa elävillä sisäsiittoisilla kalojen lajikeilla on todettu korkeampaa metylaation eroavaisuutta genotyyppien kuin ympäristöjen välillä (*Berbel-Filho ym 2019*). Tutkimuksessa selvisi myös, että metylaatiopoikkeavuudet ympäristöjen välillä, jotka ovat molemmille lajikkeille tavallisia pääosin johtuu epialleeleista, jotka ovat stokastisen ilmiön avittamia. Tämä tulos kertoo ympäristön ja genotyypin välillä olevan dynaamista vuorovaikutusta.

5 Periytyminen

Periytyminen on geneettistä, kun jälkeläinen perii genomin osia, kuten geenejä vanhemmiltaan. Yleensä jälkeläinen perii geeneistensä suunnilleen puolet äidiltään ja puolet isältään. Soluelinten kuten mitokondrioiden tai kloroplastien genomi peritään usein vain toiselta vanhemmalta, tarkemmin sanoen maternaalisesti (*Greiner ym 2015*). Geenien ominaisuuksien ilmenemiseen vaikuttaa mm. geenin dominanttius/resessiivisyys, pleiotropisuus tai sukupuoleen sitoutuneisuus.

Fallet M ja Blanc M (2023) laativat sukupolvien välisestä epigeneettisestä periytymistä havainnoivan mallin. Mallissa sukupolvien ylittävä vaikutus voidaan havaita fenotyypin muutoksesta tai mekanistisista ominaisuuksista, kuten myrkyn sietokyvystä. Tutkimuksen kannalta on oleellista, että muutosten epigeneettistä taustaa pyritään selvittämään. Ominaisuuksien epigeneettinen tausta voi perustua niin metylaatioon, kuin muihin epigeneettisiin muokkausmenetelmiin. Sukupolvien vaihteessa havaitut muutokset kirjataan ylös, jolloin voidaan tehdä vahvistava tutkimus. *Fallet & Blancin* tutkimuksen tarkoitus on varmistaa epigeneettisten mekanismien yhteys tutkittavan fenotyypin syntyyn. Yhteyden varmistus onnistuu muokkaamalla epigeneettistä koneistoa halutulla tavalla, jonka jälkeen voidaan tarkastella ovatko muutokset yksilön fenotyypissä vastaavia, kun sukupolvien välistä vaikutusta tutkiessa. Ominaisuuden palautuvuus saadaan selville tehtäessä risteytys yksilön kanssa, jolla ei ole kyseistä ominaisuutta. Jos ominaisuus katoaa jälkipolvesta, voidaan ominaisuuden todeta olevan katoava. Jos ominaisuus jää jälkipolveen useaksi sukupolveksi, voidaan päätellä ominaisuuden olevan pysyvä.

Epigeneettinen uudelleenohjelmointi (epigenetic reprogramming) tapahtuu eläimillä sukupolvien välissä. Tällä tarkoitetaan vanhemman elinaikana muokkaantuneen epigeneettisen leiman pyyhkimistä. Tämä tapahtuma ilmenee sekä sukusolulinjassa, että tsygootissa. Uudelleenohjelmointi on lajispesifistä, minkä takia tutkijoilla ei ole kokonaisvaltaista kuvaa siitä, vaikka tutkimuksia uudelleenohjelmoinnista on tehty jo muutamalla lajilla (*Chapelle, Silvestri ym 2022*).

Kasveilla (*Zhang ym 2008*) ja selkärangattomilla eläimillä (*Yu ym 2019*) epigeneettinen periytyminen sukupolvesta toiseen on todistettavissa. Kuitenkin nisäkkäillä

sukupolvenylittävä epigeneettinen periytyminen on väittelyn kohteena. Nisäkkäillä DNA-metylaation on todennettu pyyhkiytyvän primordiaalisen itusolun vaiheessa, sukupolvien välissä (*Kawasaki ym 2014*). Vanhemmalta perityn metylaation sijasta, jälkeläisen DNA metyloidaan lajityypillisesti. Nämä tiedot ovat silti ristiriitaisia tulosten kanssa, joiden mukaan DNA-metylaation pyyhkiytymisestä huolimatta jälkeläinen voi periä metylaation tiettyyn CpG-saarekkeeseen. Hiiriä koskevassa tutkimuksessa havaittiin, että promoottorialueeseen liitoksissa olevien CpG -saarekkeiden metylaatio periytyy vanhemmalta jälkeläiselle (*Takahashi ym 2023*). Primordiaalisessa vaiheessa demetyloitu CpG-saareke voikin olla myöhemmin metyloitu. Tarkempien mekanismien ollessa vielä tuntemattomia, tutkijat kuitenkin ehdottavat että, DNA-metylaation sijasta jälkeläiset perivät muistin CpG:n DNA-metylaatiosta.

Tutkimuksessa havaittiin myös, että hiirien genomissa runsaasti metyloidut (high-methylated) CpG-saarekkeet eivät olleet täysin demetyloityjä, genomien laajuisen metylaation poiston aikana. Niukasti metyloidut (low-methylated) CpG-saarekkeet puolestaan olivat solulinjassa täysin metyloimattomia. Tämä metylaatioperiaate muistuttaa retrotransposonien hiljentämistä, jonka vuoksi voidaan epäillä CpG-saarekkeen ja retrotransposonin metylaatio jakavan samankaltaisen metylaatiomekanismin primordiaalisessa itusolussa. Toisin kuin retrotransposoneissa, tarkennetun CpG-saarekkeen metylaatio ei ollut palautunut spermatogeneesin aikana. Tämä voi selittyä sillä, että CpG-saarekkeet eivät ole vuorovaikutuksessa ei-koodaavaan RNA PIWI-signalointiin, kun taas retrotransposoneissa signalointi on välttämätöntä metylaatiokoneiston aktivoimiseksi hiljentämistä varten (*Takahashi ym 2023*).

6 Metylaation tutkiminen ja tiedon käyttökohteet

Artikkelissaan *Chapelleym (2022)* pohtivat eliöiden, joilla on vähäinen geneettinen muuntelu, olevan hyödyllisiä DNA metylaation variaation tutkimisessa. Tällaisia lajeja voisivat olla klonaalisesti lisääntyvät lajit (esimerkiksi *Kryptolebias marmoratus*), sillä jatkuva itsesiitos tuottaa isogeenisiä sukulinjoja (*Tatarenkov ym 2012*). Geneettinen muuntelu on alhainen myös lajeilla, jotka pullonkaulailmiön jälkeen leviävät runsaasti (esim varpunen) (*Schrey ym 2012; Liebl ym 2013*).

Chapelle ym (2022) suosittelevat tulevaisuudessa tämän aiheen tutkimuksen vertailevan luonnonpopulaatioita, joissa ilmenee kasvavaa itsesiitosta ja tutkia miten epigeneettinen muuntelu vaihtelee eri geneettisesti monimuotoisten populaatioiden välillä.

Populaatiogenetiikkaa voidaan hyödyntää populaatioepigenetiikassa, kunhan huomioidaan epigeneettinen ei-mendelistinen periytymien ja epigeneettinen ympäristöherkkyys.

Suurimpia haasteita populaatioiden epigenetiikassa on ymmärtää luonnollisen epigeneettisen muuntelun rooli (*Chapelle, Silvestre ym 2022*). Epigeneettisen variaation tärkeyttä evoluutiossa ja ympäristöön sopeutumisessa on tutkittu enemmän kasveilla kuin eläimillä (*Richards 2011; Vogt 2021*). Eläimistä kerätty epigeneettinen data on peräisin suurilta osin laboratorioskokeista, joissa tutkimuksen kohteena ovat epigeneettiset mekanismit ja ympäristön stressitekijät (*Kumar ym 2017; Nguyen ym 2018*). Lisäksi on epäselvää kuinka suuri osa epigeneettisestä variaatiosta on seurausta geneettisestä variaatiosta. Epigeneettisen ja geneettisen variaation korrelointi on osoittautunut yhtä lailla merkitseväksi ja epämerkitseväksi luonnonpopulaatioissa tehdyillä tutkimuksilla. Geneettinen variaatio saattaa sumentaa epigeneettisen variaation roolia. Selvittääksemme epigeneettisten mekanismien vaikutus evoluution prosesseihin, on meidän erotettava geneettisen variaation vaikutus niihin. Tämä on mahdollista kokeella, jossa geneettisen variaation vaikutukset ovat kontrolloituja tai tarpeeksi vähäisiä (*Chapelle, Silvestre ym 2022*).

Eliön DNA-metylaatio on tulosta vallitsevasta ympäristöstä ja ympäristöstä, jossa eliön esivanhemmat elivät (*Mirbahai & Chipman, 2014*). Eliön epigenomi voi muokkaantua abioottisten tai bioottisten stressitekijöiden ansiosta, jonka seurauksena stressitekijästä jää

pysyvä epigeneettinen ”jalanjälki” (*Mirbahai, & Chipman 2014*). Näin ollen epigeneettiset muokkaukset, kuten DNA-metylointi, voivat toimia bioindikaattorina muuttuvalle ympäristölle (*Carvan ym 2017*). DNA-metylaatiolla voidaan tulkita ympäristön muutosta ja sen vakavuutta. Esimerkiksi yksittäistä geeniä, joka on aktiivinen ainoastaan eliön altistuttua tietyille myrkyille, voidaan hyödyntää myrkyä leviämisen kartoituksessa. Tietoa geenin aktiivisuudesta voidaan käyttää hyväksi myös, kun tarkastellaan, että onko yksilö ollut tekemisissä toisen lajin, taudin tai lajitoverin kanssa (*Rey, ym 2020; Crotti ym 2021*). DNA-metylaation poikkeamista voidaan saada tärkeää tietoa globaaleista uhista, kuten ilmastonmuutoksesta. Joillain matelijoilla ja kaloilla sukupuolen määräävä geeni metyloituu/on metyloimaton ympäristön vaikutuksesta (*Hunt ym 2013; Ge ym 2018*). Sukupuolen määräytyminen DNA metylaation kautta voi johtaa ilmastonmuutoksen myötä epigeneettiseen ansaan, jolloin populaatioiden sukupuolitasapainot järkkyvät.

6.1 Luonnonsuojelun toteutukset

Tutkimuksessa (*Hunt ym, 2013; Ge ym, 2018*) kartoitettiin luonnonsuojelun kannalta merkittävät DNA-metylaation sovellus kohteet, jotka ovat biomarkkerien muodostuminen, villipopulaatioiden ekologinen rakentuminen, populaation vahvistus startegioiden parantaminen ja elinalueiden toiminnallinen yhtenevyys. Eliön abioottinen ja bioottinen stressi voi muokata eliön DNA-metylaatio profiilia (*Feil & Fraga, 2012*). Nämä herkat muutokset toimivat molekulaarisina biomarkkereina eliön kokemasta stressistä ja ympäristön indusoimat DNA-metylaatio profiilit ovat periytyviä usean sukupolven ajan (*Mirbahai & Chipman, 2014*). Pitkään kestävät epigeneettiset biomarkkerit voivat kertoa ekologisista olosuhteista, jossa aiemmat sukupolvet ovat eläneet. Epigenomista saadun tiedon hyödyntäminen on silti haastavaa koska, se edellyttää tietyn DNA-metylaatio profiilin yhdistämistä tiettyihin ympäristön luomiin olosuhteisiin. Epimutaatioista hankitun tiedon tulkitsemisessa on haasteita, sillä epimutaatioiden synty- tai periytymistavat ovat tuntemattomia. Kyky erottaa sekä sattumanvarainen epimutaatio ympäristön aiheuttamasta, että periytyvä epimutaatio periytymättömästä, mahdollistaisi tutkijoiden luonnehtia vastetta, jolla eliö reagoi ympäristön ärsykkeeseen.

Mikä tahansa muutos lajin DNA-metylaatioissa, voi paljastaa jotain lajin evolutiivisesta tulevaisuudesta (*Chapelle & Silvestre 2022*). Lajien epigenomista saaduilla tiedolla luonnonsuojelu voi olla kohdistetumpaa ja tehokkaampaa. DNA-metylaatiosta saaduilla tiedoilla voidaan luonnehtia tarkasti eliön fysiologista, biologista ja ekologista statusta, jolloin voidaan parantaa luonnonsuojeluun liittyviä siirtoja ja tunnistaa maiseman toiminnallinen yhteys (*Rey ym 2019*).

Luonnonsuojelun kannalta populaatiota vahvistetaan kolmella eri tavalla, riippuen suojeltavan populaation tilasta (*Corlett, 2016*). Geneettinen pelastus kohdistuu populaatioihin, jotka ovat pieniä ja sisäsiittoisia. Niiden elvyttäminen vakaaksi ja ympäristöön sopeutuvaksi populaatioksi, vaatii runsasta lisäystä geneettiseen variaatioon. Tarkemmin sanoen populaatio pelastetaan geneettisesti, kun pelastamista tarvitsevaan populaatioon siirretään yksilöitä, jotka poikkeavat geneettisesti populaation yksilöistä (*Harrisson ym, 2016*).

Toiseksi populaatiota, jonka ennustetaan kärsivän ympäristön muutoksesta, voidaan tukea geneettisesti avustetulla geenivirralla. Populaatioon siirretyillä yksilöillä on esisopeutuneita alleleja (preadapted alleles), jotka hyödyttävät juuri ennustetun ympäristönmuutoksen kanssa (*Aitken & Whitlock, 2013*). Kolmas populaation vahvistustapa on varastointi (stocking), joka on ajankohtainen, kun populaatiota karsitaan/vähennetään säännöllisesti (*Griffith ym 1989*). Vaikka varastointi on hyödyllisintä populaatioissa, jonka kannanvaihtelut tunnemme, voisi varastointia myös hyödyntää sekä viljelyissä että kasvatetuissa populaatioissa.

Vastaanottavaan populaatioon siirrettävien yksilöiden samanlainen geneettinen tausta estää ei-toivottujen geenien kertymisen. Geenien kertymisellä (gene swamping) tarkoitetaan tässä tapauksessa toisesta populaatiosta saapuvan geenivirran mukana tulleita alleleja, jotka hidastavat lisääntymistä tai muuten alentaa populaation kelpoisuutta.

Suorittaessa esimerkiksi geneettistä pelastusta, arvellaan sen olevan tehokkainta, kun populaatioon siirrettävät yksilöt ovat geneettisesti hieman poikkeavia vastaanottavan populaation yksilöistä (*Harrisson ym 2016*). Yksilöitä siirrettäessä populaatiosta toiseen, merkitsee geneettisen variaation lisäksi populaatioiden yhteinen epigeneettinen tausta ja populaatioiden ympäristöjen ekologinen samanlaisuus. Toisin kuin geneettisten mutaatioiden kohdalla, siirrettävien yksilöiden epigeneettisten mutaatioiden olisi parasta olla samanlaisia, kuin vastaanottavan populaation yksilöiden epimutaatiot. Näin siirretyt yksilöt kykenevät tehokkaammin sopeutumaan uuteen populaatioon ja sen ympäristöön.

Vaikka epigeneettisen variaation lisääminen vaikuttaisi antavan populaatiolle paremman valmiuden erilaisiin ympäristön haasteisiin, on epigeneettisestä poikkeavuudesta havaittu olevan myös haittaa, joissain populaation vahvistus tapauksissa. Hopealohta (*Oncorhynchus kisutch*) koskevassa tutkimuksessa selvisi varastoinnin johtavan välillä yksilöiden alentuneeseen kelpoisuuteen (*Le Luyer ym 2017*). Tässä tapauksessa sen havaittiin johtuvan siirrettävien lohien ja vastaanottavan populaation lohien epigeneettisistä eroista. Tutkijat havaitsivat hypermetyloituvia alueita siirrettävien lohien DNA:sta, jotka liittyvät elämisen kannalta merkittäviin toimintoihin kuten stressin sieto tai liikkumiskyky.

6.2 Mutaatioiden hyödyntäminen lääketieteessä

Useat stokastisesti syntyvät mutaatiot eivät ole hyödyllisiä vaan ne voidaan yhdistää tiettyihin taudinkuviin. Geneettisten mutaatioiden tutkiminen onkin mullistanut sairauksien diagnosoinnin, hoidon ja ehkäisyn mahdollistaen entistä yksilöllisemmän lääketieteen. Sairauksien hoitaminen on tehokkaampaa johtuen lääkkeen/hoidon täsmällisyydestä. Kun sairauteen assosioituvat mutaatiot genomissa on tunnistettu, voidaan ehkäistä taudin leviämistä.

Kuten stokastisten mutaatioiden tapauksessa, myöskään DNA-metylaation kautta syntyneet mutaatiot eivät ole kaikki sopeumia. Human Gene Mutation Databasen (HGMD) mukaan CpG-mutaatiot aiheuttavat 18,2% enemmän perinnöllisiä sairauksia kuin muut mutaatiotyypit. Tämä on kymmenen kertaa odotettua arvoa suurempi mutaatiomäärä. Somaattisissa soluissa löytyy useita DNA metylaation aiheuttamia mutaatioita, jotka voidaan yhdistää eri syöpätyyppeihin.

DNA-metylaatio säätelee tarkasti solujen toimintaa, joten virheellinen metylaatio voi johtaa sairauksiin. Suppressorigeenien p14 ja p16 metylaatio assosioidaan ihmisille tyypillisempien syöpien kanssa (*Merlo ym 1995*). Kuitenkin DNA:n metylaation hajoaminen tietyissä alueissa genomissa on myös yksi syöpään johtavista syistä (*Klughammer J ym 2023*). Eläinkuntaa tarkastellessa havaitaan, että linnuilla, joilla on alhainen kasvainten määrä myös DNA:n metylaation hajoaminen on vähäisempää (*Ratcliffe 1933*). Tästä ei välttämättä voi aina kausaalisuutta päätellä, mutta tutkimalla DNA-metylaation suhdetta sairauksiin voidaan

edistää lääketiedettä, kuten syövän hoitamista kohdennetulla DNA-metylaatiolla (Lee ym 2024).

Afrikan eri ihmispopulaatioita koskevassa tutkimuksessa elinalueen muutoksen havaittiin vaikuttavan DNA-metylaatioon geneeissä, jotka liittyvät sairauksiin (Fagny ym 2015). Äskettäin elinaluetta muuttaneilla populaatioilla, muuttuneet DNA-metylaatiot vaikuttavat pääasiassa immuuni- ja solutoimintoihin. Immuuni- ja solun metaboliatoimintojen epigeneettinen muokkaaminen ympäristön vaihtuessa vaikuttaa järkevältä ratkaisulta, sillä uusi elinympäristö saattaa tuoda mukanaan uusia tauteja, loisia tai vaihtoehtoisia ravinnonlähteitä. Fagny ym (2015) tutkimuksessa urbaanin elinalueen ja metsässä maata viljelevien ihmisten autoimmuunisairauksiin liittyvissä geneeissä löytyi merkittäviä metylointieroja. Tämä havainto voitaisiin tulkita siten, että kaupungistumisella on vaikutusta immuuniteettiin liittyviin sairauksiin, kuten allergioihin tai tulehdukselliseen suolistosairauteen (inflammatory bowel disease). Tutkimuksen populaatioista osa on käynyt läpi hiljattain ympäristön muutoksen. Elinalueen muutos voi olennaisesti muuttaa geneettisesti homogeenisen populaation metylaatiota, joka vihjaa suurimman osan DNA-metylaation poikkeamista olevan selitettämättömissä geneettisillä eroavaisuuksilla. (Fagny ym 2015).

Puolestaan historialliseen elämäntyyliin liittyvät muutokset DNA metylaatiossa vaikuttivat kehitysprosesseihin. Lisäksi metylaation muuntelu, joka korreloi nimenomaan historiallisen elämäntyylin kanssa, osoitti vahvaa liitosta lähellä oleviin geeni variantteihin, jotka ovat enenevässä määrin rikastuneet luonnonvalinnan signaaleilla. (Fagny ym 2015). Metylaation muutokset voidaan linkittää solun toimintoihin, mutta on vaikea selvittää johtuvatko muutokset näistä toiminnoista vai ovatko ne toimintojen tuloksia.

7 Yhteenveto

Pistemutaatiot ovat geneettisen muuntelun lähteitä ja ne tuottavat perinnöllistä muuntelua. Pistemutaatiot ovatkin keskeinen mekanismi, joka mahdollistaa luonnonvalinnan ja evoluution kaikissa eliökunnan haaroissa. Eliökunnan ollessa monimuotoinen, pistemutaatioiden vaikutukset muuntelevat erilaisina eri eliöissä.

DNA-metylaatio muuntelee eliökunnan lävitse, johtuen ulkoisista asioista (kuten ympäristön olosuhteista) tai sisäisistä asioista (lajikohtaisista genomien erilaisista koostumuksista). DNA-metylaation vaikutukset vaihtelevat myös eliökunnan läpi, sillä eri eliöillä on sille eri käyttötarkoituksia (ikäntyminen, kromosomin inaktivaatio, transposonien inaktivaatio)

Geneettisten ja epigeneettisten mutaatioiden välistä vuorovaikutusta pyritään selvittämään. Tutkimukset osoittavat mutaatioiden välisen dynamiikan olevan moniulotteinen, sillä tutkimuksissa tulokset vaihtelevat riippuen tutkittavasta eliöstä ja vallitsevasta ympäristöstä. Vielä ympäristöäkin enemmän, eliön DNA sekvenssi säätelee metylaatiota. Metylaatio puolestaan näyttäisi vaikuttavan monella tavalla mutaatioihin ja sopeumien syntyyn.

Ensinnäkin metyloituneet CpG -saarekkeet ovat pistemutaatioiden hot spotteja. Tällöin CpG -saarekkeiden kohonneella mutaatiofrekvenssillä, voi olla vaikutusta sopeuman syntyyn. Lisäksi liikkuviin elementteihin kohdistuva metylaatio voi johtaa hiljentämisen jälkeen emäsparien deleetioon tai insertioon. Geneettisten mutaatioiden ilmetessä useammin metyloiduissa CpG -saarekkeissa sinne saattaa kertyä ei-toivottavia mutaatioita, kuten sairauksia aiheuttavia mutaatioita. Eri tutkimuksien pohjalta vaikuttaisi siltä, että epigeneettiset ja geneettiset mutaatiot säätelevät toisiaan ristiin, joko välillisesti tai suoraan. Pistemutaatioiden ja DNA-metylaation tutkimus avartaa ymmärrystä geenien toiminnasta, periytymisestä ja genomien käyttäytymisestä. Tällaista tietoa voidaan käyttää luonnonsuojelun ja lääketieteen edistämisessä.

8 Lähdeluettelo

Abigail V. Lee, Kevin A. Nestler, Katherine B. Chiappinelli, (2024) Therapeutic targeting of DNA methylation alterations in cancer, *Pharmacology & Therapeutics*, Jun;258:108640. doi: 10.1016/j.pharmthera.2024.108640.

Aitken, S. N., & Whitlock, M. C. (2013). Assisted gene flow to facilitate local adaptation to climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44(1), 367–388. <https://doi.org/10.1146/annurev-ev-ecolsys-110512-135747>

Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C., Aparicio S.A.J.R., Behjati S., Biankin A.V., Bignell G.R., Bolli N., Borg A., Børresen-Dale A.L., et al. (2013) Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*.;500:415–421. doi: 10.1038/nature12477.

Barrès R., Yan J., Egan B., Treebak J.T., Rasmussen M., Fritz T., Caidahl K., Krook A., O’Gorman D.J., Zierath J.R. (2012) Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metab.*;15:405–411. doi: 10.1016/j.cmet.2012.01.001.

Becker C., Hagemann J., Müller J., Koenig D., Stegle O., Borgwardt K., Weigel D. (2011) Spontaneous epigenetic variation in the *Arabidopsis thaliana* methylome. *Nature*. 2011 Sep 20;480(7376):245-9. doi: 10.1038/nature10555.

Bell C.G., Wilson G.A., Butcher L.M., Roos C., Walter L., Beck S. (2012) Human-specific CpG “beacons” identify loci associated with human-specific traits and disease. *Epigenetics*.;7:1188–1199. doi: 10.4161/epi.22127.

Bellacosa A., Drohat A.C. (2015) Role of base excision repair in maintaining the genetic and epigenetic integrity of CpG sites. *DNA Repair*. 2015;32:33–42. doi: 10.1016/j.dnarep..04.011.

Berbel-Filho, W.M., Rodríguez-Barreto D., Berry, N., Garcia De Leaniz, C., Consuegra, S. (2019) Contrasting DNA Methylation Responses of Inbred Fish Lines to Different Rearing Environments. *Epigenetics*. Oct;14(10):939-948. doi:

Griffith B., Scott J.M., Carpenter J.W., Reed C. (1989), Translocation as a Species Conservation Tool: Status and Strategy. *Science* 245, 477-480 (1989). DOI: 10.1126/science.245.4917.477

Branciamore S., Chen Z.-X., Riggs A.D., Rodin S.N. (2010) CpG island clusters and pro-epigenetic selection for CpGs in protein-coding exons of HOX and other transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*;107:15485–15490. doi: 10.1073/pnas.1010506107.

Carvan M.J. 3rd, Kalluvila T.A., Klingler R.H., Larson J.K., Pickens M., Mora-Zamorano F.X., Connaughton V.P., Sadler-Riggelman I., Beck D., Skinner M.K. (2017) Mercury-induced epigenetic transgenerational inheritance of abnormal neurobehavior correlated with sperm epimutations in zebrafish. *PLoS One*. May 2;12(5):e0176155. doi: 10.1371/

Chapelle V, Silvestre F. (2022) Population Epigenetics: The Extent of DNA Methylation Variation in Wild Animal Populations. *Epigenomes*. 28;6(4):31. doi: 10.3390/epigenomes6040031.

Corlett, R. T. (2016). Restoration, reintroduction, and rewilding in a changing world. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(6), 453–462. <https://doi.org/10.1016/j.tree..02.017>

Crotti, M., Yohannes, E., Winfield, I.J., Lyle, A.A., Adams, C.E., Elmer, K.R. Rapid (2021) Adaptation through Genomic and Epigenomic Responses Following Translocations in an Endangered Salmonid. *Evol Appl*. Jul 6;14(10):2470-2489. doi: 10.1111/eva.13267.

Danchin E., Pocheville A., Rey O., Pujol B., Blanchet S. (2019) Epigenetically facilitated mutational assimilation: Epigenetics as a hub within the inclusive evolutionary synthesis. *Biol. Rev.*;94:259–282. doi: 10.1111/brv.12453.

Deaton A.M., Bird A. (2011) CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev*. May 15;25(10):1010-22. doi: 10.1101/gad.2037511.

Fagny M., Patin E., MacIsaac J.L., Rotival M., Flutre T., Jones M.J., Siddle K.J., Quach H., Harmant C., McEwen L.M., Froment A., Heyer E., Gessain A., Betsem E., Mouguiama-Daouda P., Hombert J.M., Perry G.H., Barreiro L.B., Kobor M.S., Quintana-Murci L. (2015) The epigenomic landscape of African rainforest hunter-gatherers and farmers. *Nat Commun*. 30;6:10047. doi: 10.1038/ncomms10047.

Fallet M., Blanc M., Di Criscio M., Antczak P., Engwall M., Guerrero Bosagna C., Rüegg J., Keiter S.H. (2023) Present and future challenges for the investigation of transgenerational epigenetic inheritance. *Environ Int*. Feb;172:107776. doi: 10.1016/j.envint.2023.107776.

- Feil R., Fraga M.F. (2012) Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat Rev Genet.* Jan 4;13(2):97-109. doi: 10.1038/nrg3142.
- Flores K.B., Wolschin F., Amdam G.V. (2013) The role of methylation of DNA in environmental adaptation. *Integr. Comp. Biol.*;53:359–372. doi: 10.1093/icb/ict019
- Galen S.C., Natarajan C., Moriyama H., Weber R.E., Fago A., Benham P.M., Chavez A.N., Cheviron Z.A., Storz J.F., Witt C.C. (2015) Contribution of a mutational hot spot to hemoglobin adaptation in high-Altitude Andean house wrens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015;112:13958–13963. doi: 10.1073/pnas.1507300112.
- Gao Z., Wyman M.J., Sella G., Przeworski M. (2016) Interpreting the Dependence of Mutation Rates on Age and Time. *PLoS Biol.*;14:e1002355. doi: 10.1371/journal.pbio.1002355.
- Ge, C., Ye, J., Weber, C., Sun, W., Zhang, H., Zhou, Y., ... Capel, B. (2018). The histone demethylase KDM6B regulates temperature-dependent sex determination in a turtle species. *Science*, 360(6389), 645–648. <https://doi.org/10.1126/science.aap8328>
- Greiner S., Sobanski J, Bock R. (2015) Why are most organelle genomes transmitted maternally? *Bioessays.* Jan;37(1):80-94. doi: 10.1002/bies.201400110
- Hanson H.E., Koussayer B., Kilvitis H.J., Schrey A.W., Maddox J.D., Martin L.B. (2020) Epigenetic Potential in Native and Introduced Populations of House Sparrows (*Passer domesticus*) *Integr. Comp. Biol.*;60:1458–1468. doi: 10.1093/icb/icaa060.
- Harrisson, K. A., Pavlova, A., Gonçalves da Silva, A., Rose, R., Bull, J. K., Lancaster, M. L., ... Sunnucks, P. (2016). Scope for genetic rescue of an endangered subspecies through re-establishing natural gene flow with another subspecies. *Molecular Ecology*, 25(6), 1242–1258. doi: 10.1111/mec.13547.
- He X., Tillo D., Vierstra J., Syed K.S., Deng C., Ray G.J., Stamatoyannopoulos J., FitzGerald P.C., Vinson C. (2015) Methylated Cytosines Mutate to Transcription Factor Binding Sites that Drive Tetrapod Evolution. *Genome Biol. Evol.*;7:3155–3169. doi: 10.1093/gbe/evv205.
- Herb B.R., Shook M.S., Fields C.J., Robinson G.E. (2018) Defense against territorial intrusion is associated with DNA methylation changes in the honey bee brain. *BMC Genom.*;19:216. doi: 10.1186/s12864-018-4594-0.

Human Gene Mutation Databases – HGMD <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
(vierailupäivä 20.2.2026)

Hu, J.; Wuitchik, S.J.S.; Barry, T.N.; Jamniczky, H.A.; Rogers, S.M.; Barrett, R.D.H. (2021) Heritability of DNA Methylation in Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Genetics*. Mar 3;217(1):1-15. doi: 10.1093/genetics/iyab001.

Hunt, B. G., Glastad, K. M., Yi, S. V., & Goodisman, M. A. D. (2013). The function of intragenic DNA methylation: Insights from insect epigenomes. *Integrative and Comparative Biology*, 53(2), 319–328. <https://doi.org/10.1093/icb/ict003>

Hwang D.G., Green P. (2004) Bayesian Markov chain Monte Carlo sequence analysis reveals varying neutral substitution patterns in mammalian evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*;101:13994–14001. doi: 10.1073/pnas.0404142101.

Kato S., Ishii T., Kouzmenko A. (2015) Point mutations in an epigenetic factor lead to multiple types of bone tumors: role of H3.3 histone variant in bone development and disease. *Bonekey Rep*. Jul 1;4:715. doi: 10.1038/bonekey..84.

Kawasaki, Y., Lee, J., Matsuzawa, A. *et al.* (2014) Active DNA demethylation is required for complete imprint erasure in primordial germ cells. *Sci Rep* 4, 3658. Jan 13;4:3658. doi: 10.1038/srep03658.

Kiani J., Grandjean V., Liebers R., Tuorto F., Ghanbarian H., Lyko F., Cuzin F., Rassoulzadegan M. (2013) RNA-mediated epigenetic heredity requires the cytosine methyltransferase Dnmt2. *PLoS Genet*. May;9(5):e1003498. doi: 10.1371/journal.pgen.1003498. Epub 2013 May 23.

Kille, Peter & Harmer, Jane & Anderson, Craig & Ang, Hui & Bruford, Michael & Bundy, Jake & Donnelly, Robert & Hodson, Mark & Juma, Gabriela & Lahive, Elma & Morgan, A. & Stürzenbaum, Stephen & Spurgeon, David. (2013). DNA sequence variation and methylation in an arsenic tolerant earthworm population. *Soil Biology and Biochemistry*. 57. 524-532. 10.1016/j.soilbio.2012.10.014.

Kilvitis H.J., Hanson H., Schrey A.W., Martin L.B. (2017) Epigenetic potential as a mechanism of phenotypic plasticity in vertebrate range expansions. *Integr. Comp. Biol.*;57:385–395. doi: 10.1093/icb/ix082.

- Kim S.H., Elango N., Warden C., Vigoda E., Yi S.V. (2006) Heterogeneous genomic molecular clocks in primates. *PLoS Genet.*;2:1527–1534. doi: 10.1371/journal.pgen.0020163.
- Klironomos F.D., Berg J., Collins S. (2013) How epigenetic mutations can affect genetic evolution: model and mechanism. *Bioessays*. Jun;35(6):571-8. doi: 10.1002/bies.201200169.
- Klughammer, J., Romanovskaia, D., Neme, A. *et al.* (2023) Comparative analysis of genome-scale, base-resolution DNA methylation profiles across 580 animal species. *Nat Commun. Jan 16;14(1):232. doi: 10.1038/s41467-022-34828-y.*
- Kronholm I, Collins S. (2016) Epigenetic mutations can both help and hinder adaptive evolution. *Mol Ecol*. Apr;25(8):1856-68. doi: 10.1111/mec.13296.
- Lanata C.M., Chung S.A., Criswell L.A. (2018) DNA methylation 101: What is important to know about DNA methylation and its role in SLE risk and disease heterogeneity. *Lupus Sci. Med.*;5:e000285. doi: 10.1136/lupus-2018-000285.
- Langdon, C.J., Morgan, A.J., Charnock, J.M., Semple, K.T., Lowe, C.N., (2009). As-resistance laboratory-reared F1, F2 and F3 generation offspring of the earthworm *Lumbricus rubellus* inhabiting an As-contaminated mine soil. *Environ Pollut*. Nov;157(11):3114-9. doi: 10.1016/j.envpol.2009.05.027.
- Le Luyer J., Laporte M., Beacham T.D., Kaukinen K.H., Withler R.E., Leong J.S., Rondeau E.B., Koop B.F., Bernatchez L. (2017) Parallel epigenetic modifications induced by hatchery rearing in a Pacific salmon. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (49):12964-12969. doi: 10.1073/pnas.1711229114.
- Liebl, A.L., Schrey, A.W., Richards, C.L., Martin, L.B. (2013) Patterns of DNA Methylation Throughout a Range Expansion of an Introduced Songbird. *Integr Comp Biol*. Aug;53(2):351-8. doi: 10.1093/icb/ict007.
- Lighten J., Incarnato D., Ward B.J., van Oosterhout C., Bradbury I., Hanson M., Bentzen P. (2016) Adaptive phenotypic response to climate enabled by epigenetics in a K-strategy species, the fish *Leucoraja ocellata* (Rajidae). *R Soc Open Sci*. Oct 26;3(10):160299. doi: 10.1098/rsos.160299.
- McRae A.F., Powell J.E., Henders A.K., Bowdler L., Hemani G., Shah S., Painter J.N., Martin N.G., Visscher P.M., Montgomery G.W. (2014) Contribution of genetic variation to

transgenerational inheritance of DNA methylation. *Genome Biol.* 2014 May 29;15(5):R73. doi: 10.1186/gb-2014-15-5-r73.

MacRae S.L., Croken M.M.K., Calder R.B., Aliper A., Milholland B., White R.R., Zhavoronkov A., Gladyshev V.N., Seluanov A., Gorbunova V., et al. (2015) DNA repair in species with extreme lifespan differences. *Aging.* 2015;7:1171–1184. doi: 10.18632/aging.100866.

Merlo A.A., Herman J.G., Mao L., Lee L., Gabrielson E., Burger P. C., Sidransky D (1995) 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers *Nat Med.* 1995 Jul;1(7):686-92. doi: 10.1038/nm0795-686.

Mikkelsen T.S., Hillier L.W., Eichler E.E., Zody M.C., Jaffe D.B., Yang S.P., Enard W., Hellmann I., Lindblad-Toh K., Altheide T.K., et al. (2005) Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature.*;437:69–87. doi: 10.1038/nature04072.

Mirbahai L, Chipman JK. (2014) Epigenetic memory of environmental organisms: a reflection of lifetime stressor exposures. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* Apr;764-765:10-7. doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.10.003.

Moorjani P., Amorim C.E.G., Arndt P.F., Przeworski M. (2016) Variation in the molecular clock of primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113:10607–10612. doi: 10.1073/pnas.1600374113.

Mugal C.F., Arndt P.F., Holm L., Ellegren H. (2015) Evolutionary consequences of DNA methylation on the GC content in vertebrate genomes. *G3 Genes Genomes Genet.* 2015;5:441–447. doi: 10.1534/g3.114.015545.

Nabel C.S., Manning S.A., Kohli R.M. (2012) The curious chemical biology of cytosine: Deamination, methylation, and oxidation as modulators of genomic potential. *ACS Chem. Biol.* 2012;7:20–30. doi: 10.1021/cb2002895.

Nan X, Meehan RR, Bird A. (1993) Dissection of the methyl-CpG binding domain from the chromosomal protein MeCP2. *Nucleic Acids Res.* 1993 Oct 25;21(21):4886-92. doi: 10.1093/nar/21.21.4886.

- Pértille F., Da Silva V.H., Johansson A.M., Lindström T., Wright D., Coutinho L.L., Jensen P., Guerrero-Bosagna C. (2019) Mutation dynamics of CpG dinucleotides during a recent event of vertebrate diversification. *Epigenetics*. 2019;14:685–707. doi: 10.1080/15592294.2019.1609868.
- Pfeifer G.P. (2006) Mutagenesis at methylated CpG sequences. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006;301:259–281. doi: 10.1007/3-540-31390-7_10.
- Qu J., Hodges E., Molaro A., Gagneux P., Dean M.D., Hannon G.J., Smith A.D. (2018) Evolutionary expansion of DNA hypomethylation in the mammalian germline genome. *Genome Res.*;28:145–158. doi: 10.1101/gr.225896.117.
- Ratcliffe H. L. (1933) Incidence and nature of tumors in captive wild mammals and birds. *The American Journal of Cancer* 17 (1): 116–135. doi.org/10.1158/ajc.1933.116
- Rey, Olivier & Eizaguirre, Christophe & Angers, Bernard & Baltazar-Soares, Miguel & Sagonas, Kostas & Prunier, Jerome & Blanchet, Simon. (2019). Linking epigenetics and biological conservation: Towards a conservation epigenetics perspective. *Functional Ecology*. DOI:10.1111/1365-2435.13429
- Schrey, A.W., Coon, C.A.C., Grispo, M.T., Awad, M., Imboma, T., McCoy, E.D., Mushinsky, H.R., Richards, C.L., Martin, L.B. (2012) Epigenetic Variation May Compensate for Decreased Genetic Variation with Introductions: A Case Study Using House Sparrows (*Passer domesticus*) on Two Continents. *Genet. Res. Int.*;2012:979751. doi: 10.1155/2012/979751.
- Shoemaker R., Deng J., Wang W., Zhang K. (2010) Allele-specific methylation is prevalent and is contributed by CpG-SNPs in the human genome. *Genome Res.*;20:883–889. doi: 10.1101/gr.104695.109
- Stajic D., Perfeito L., Jansen L.E.T. (2019) Epigenetic gene silencing alters the mechanisms and rate of evolutionary adaptation. *Nat Ecol Evol.* Mar;3(3):491-498. doi: 10.1038/s41559-018-0781-2.
- Stevenson T.J., Prendergast B.J. (2011) Reversible DNA methylation regulates seasonal photoperiodic time measurement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*;110:16651–16656. doi: 10.1073/pnas.1310643110.

- Suzuki, M. M. & Bird, A. (2008) DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat Rev Genet. Jun;9(6):465-76. doi: 10.1038/nrg2341.*
- Takahashi Y., Morales Valencia M., Yu Y., Ouchi Y., Takahashi K., Shokhirev M.N., Lande K., Williams A.E., Fresia C., Kurita M., Hishida T., Shojima K., Hatanaka F., Nuñez-Delicado E., Esteban C.R., Izpisua Belmonte J.C. (2023) Transgenerational inheritance of acquired epigenetic signatures at CpG islands in mice. *Cell. Feb 16;186(4):715-731.e19. doi: 10.1016/*
- Tatarenkov, A., Earley, R.L., Taylor, D.S., Avise, J.C. (2012) Microevolutionary Distribution of Isogenicity in a Self-Fertilizing Fish (*Kryptolebias marmoratus*) in the Florida Keys. *Integr. Comp. Biol., 52, 743–752 doi: 10.1093/icb/ics075.*
- Tomkova M., McClellan M., Kriaucionis S., Schuster-Böckler B. (2018) DNA Replication and associated repair pathways are involved in the mutagenesis of methylated cytosine. *DNA Repair.;62:1–7. doi: 10.1016/j.dnarep.2017.11.005.*
- Walser J.C., Furano A. V (2010) The mutational spectrum of non-CpG DNA varies with CpG content. *Genome Res.;20:875–882. doi: 10.1101/gr.103283.109.*
- Wang H., Lou D., Wang Z. (2019) Crosstalk of genetic variants, allele-specific DNA methylation, and environmental factors for complex disease risk. *Front. Genet.;10:695. doi: 10.3389/fgene.2018.00695.*
- Wang, X.; Li, A.; Wang, W.; Zhang, G.; Li, L. (2021) Direct and Heritable Effects of Natural Tidal Environments on DNA Methylation in Pacific Oysters (*Crassostrea Gigas*). *Environ. Res., 197, 111058*
- Wiechmann T., Röh S., Sauer S., Czamara D., Arloth J., Ködel M., Beintner M., Knop L., Menke A., Binder E.B., et al. (2019) Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus. *Clin. Epigenetics.;11:1–14. doi: 10.1186/s13148-019-0682-5.*
- West-Eberhard, Mary. (2003). *Developmental Plasticity And Evolution.* Nature.
- Wu H., Zhang Y. (2014) Reversing DNA methylation: mechanisms, genomics, and biological functions. *Cell. Jan 16;156(1-2):45-68. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.019.*

Xia J., Han L., Zhao Z. (2012) Investigating the relationship of DNA methylation with mutation rate and allele frequency in the human genome. *BMC Genom.*;13((Suppl. 8)):S7. doi: 10.1186/1471-2164-13-S8-S7.

Ying H., Huttley G. (2011) Exploiting CpG hypermutability to identify phenotypically significant variation within human protein-coding genes. *Genome Biol. Evol.* 2011;3:938–949. doi: 10.1093/gbe/evr021.

Yu G., Wu Q., Gao Y., Chen M., Yang M. (2019) The Epigenetics of Aging in Invertebrates. *Int J Mol Sci.* Sep 13;20(18):4535. doi: 10.3390/ijms20184535.

Zhang H., Zhu J.K.. (2011) RNA-directed DNA methylation. *Curr Opin Plant Biol.* Apr;14(2):142-7. doi: 10.1016/j.pbi.2011.02.003.

Zhang X., Yazaki J., Sundaresan A., Cokus S., Chan S.W., Chen H., Henderson I.R., Shinn P., Pellegrini M., Jacobsen S.E., Ecker J.R.. (2006) Genome-wide high-resolution mapping and functional analysis of DNA methylation in arabidopsis. *Cell.* Sep 22;126(6):1189-201. doi: 10.1016/j.cell.2006.08.003.

Zhang X. (2008) The epigenetic landscape of plants. *Science.* Apr 25;320(5875):489-92. doi: 10.1126/science.1153996.

Zhong X., Du J., Hale C.J., Gallego-Bartolome J., Feng S., Vashisht A.A., Chory J., Wohlschlegel J.A., Patel D.J., Jacobsen S.E.. (2014) Molecular mechanism of action of plant DRM de novo DNA methyltransferases. *Cell.* May 22;157(5):1050-60. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.056.

Zhou D., Li Z., Yu D., Wan L., Zhu Y., Lai M., Zhang D. (2015) Polymorphisms involving gain or loss of CpG sites are significantly enriched in trait-associated SNPs. *Oncotarget.*;6:39995–40004. doi: 10.18632/oncotarget.5650.

Zhou Y.H., Zheng J.B., Gu X., Saunders G.F., Alfred Yung W.K. (2002) Novel PAX6 binding sites in the human genome and the role of repetitive elements in the evolution of gene regulation. *Genome Res.*;12:1716–1722. doi: 10.1101/gr.188302.