

# EPİGENETİK

## ***Hafta 8: Epigenetik mekanizmaların rol oynadığı süreçler-I***

Kök hücre ve hücreyel farklılaşma, İskelet kası yenilenmesinin epigenetik temelleri, X kromozom inaktivasyonu, genomik imprinting

**Dr Öğr Üyesi Arzu ATALAY**

# Epigenetik, kök hücreler ve hücreSEL farklılaşma

## Kök hücrelerin 2 temel özelliği:

- 1) Bölünerek sınırsız sayıda yenilenebilir
- 2) En azından iki farklı hücre tipi oluşturur

- Kök hücreler pek çok iç program ve dış sinyallere yanıt vererek hangi projeniyi oluşturacaklarına karar verirler.
- Intrinsic program => Epigenetik modifikasyon (DNA metilasyonu, kromatin modifikasyonu ve non-coding RNA aracılı süreçler)
- Epigenetik modifikasyonlar zamansal olarak düzenlenir ve geri dönüşümlüdür, dolayısı ile kök hücre aynı sabit DNAdan farklı hücre tiplerine farklılaşabilir.
- Önceleri sadece embriyoda kök hücre olduğu sanılırken artık her organda embriyodan erişkine kadar kök hücre bulunduğu bilinmektedir.

### **Kök hücrelerin epigenetiđi:**

- Kök hücrelerin gelişim sürecinde iki yolak mevcuttur. Pluripotency ya da multipotency'i muhafaza edecek şekilde kendini yenileme (self-renewal) ya da diğer hücre tiplerine farklılaşma.

Bu süreçte erken evrelerde aktif olan genler daha sonra sessizleşirler ve potency dereceli olarak azalır. Hücre spesifik genler bunu ardından aktive olur. Potency'nin zamanla susturulması bazı transkripsiyon faktörlerinin farklı ifadesi ile sağlanır.

### **DNA Metilasyonu:**

Pek çok çalışmada DNA metilasyonu ile farklılaşmanın ve hücre tipi idamesini sağlandığı gösterilmiştir. Belli transkripsiyon faktörlerinin promotorları metile olur. Demetilasyon özellikle astrositlerin farklılaşmasında önemlidir.

## Histon modifikasyonları:

**Asetilasyon:** Embriyonik kök hücrelerin sinir kök hücrelerine farklılaşmaları sırasında önemlidir. ESC lineage spesifik hücrelerden veya farklılaşmış hücrelerden yüksek seviyede histon asetilasyonuna sahiptir, ki bu da yüksek seviyedeki transkripsiyon ve açık kromatin yapıları ile uyumludur. HAT ve HDAC farklılaşmalar sırasında pek çok transkripsiyon faktörünün promotorunda yer alır.

**Metilasyon:** Histon metil transferaz (HMT) histonları metil ve arjinin rezidularından metiller. Kök hücre kromatini PcG proteinleri tarafından bivalent şekilde idame ettirilebilir.

mESC => pluripotensi genleri H3K4me3 işaretlidir

Farklılaşmış hücrelerde ise hem H3K4me3, hem de H3K27me3 işaretli olur.

H3K4me3 hESC promotorlarının %70inde bulunur, H3K27me3 %10unda bulunur.

H3K9 metilasyon işareti ise farklılaşmış hücrelerde büyük sessiz bölgelerin kromatin işaretidir.

### **MikroRNA (miRNA):**

miRNALAR kök hücre farklılaşmasında çok önemli role sahiptirler. Dicer yoksa (miRNA maturation machinery) mESC de farklılaşma görülmemektedir. Pluripotensi markırları Nanog, Oct-4, Sox-2 pek çok miRNANın hedefidir.

Bazı miRNALARIN promotörü Oct-4, Sox-2 ve Nanog tarafından regüle edilmektedir. miRNALARIN varlığı ESC varlığı ve farklılaşması için önemlidir ve miRNALAR pluripotensi ile ilgili protein ifadelerini baskılayarak farklılaşmayı sağlamaktadırlar.

### **Reprogramming for pluripotency:**

Son yıllarda bazı çalışmalar “topun” dağın öbür tarafına itilebileceğini göstermiştir. Pek çok farklılaşmış hücre pluripotent statüye Oct4, Sox2, Klf4, Myc, Nanog ve Lin28 ile programlanabilir (IPS hücreler). IPS hücreler morfoloji, başlıca ESC markırları, kendini yenileme ve 3 germ layer oluşturma ve o hücrelere farklılaşma bakımında ESClere çok benzerler.

Farklılaşmış hücrelerde pluripotensi ile ilgili genlerin promotorları hypermetile iken IPS hücrelerde ESCdeki gibi hipometile durumdadır.

# İskelet kası yenilenmesinin epigenetik temelleri

- Hastalıklı organların endojen progenitör hücreler kullanılarak terapötik olarak yenilenmesi rejeneratif tıptaki en zor yöntemlerden birisidir.
- Organ prekürsör hücreleri, embriyonik kök hücrelerle (ESCs)olan fonksiyonel analogilerinden dolayı adult «somatik stem cells» (SCCs) olarak adlandırılırlar.
- Ancak ESC'ler totipotent olup tüm yollara yönelebilmelerine rağmen, SCC'ler farklı organlarda yerleşmiş olup, sınırlı potansiyelleri mevcuttur ve hasara bağlı tedaviyi sağlarlar.

- SSC'lerin migrasyon, proliferasyon ve diferensiyasyonları rejeneratif çevreden gelen ipuçları ile yönetilirler.
- Bu nedenle, dış uyarıların nasıl epigenetik bilgilere dönüştürüldüğünün anlaşılması SSC'lerin terapötik olarak manipüle edilmesinde önemlidir.
- Kas kök hücreleri (MSCs) üzerinden elde edilen geniş bilgi ve güncel ölümcül hastalıklar üzerinde kas SSC hücrelerinin kullanımı.

# MSC'lerin Epigenetik Profili

- MSC'lerin epigenetik profil olarak değişik tipte kromatin modifikasyonları ve miRNA'lar taşır.
- Bu modifikasyonlar sayesinde aktif ve inaktif gen durumu hafızası aktarılarak korunmuş olur.
- Satellite kas hücreleri adult MSC'lerin tipik bir örneğidir.
- Kas hasarında rejeneratif çevrenin diğer hücreleri fibroblastlar ve kan hücreleridirler.
- Bu rejenerasyonu direkt olarak hücre hücre teması veya parakrin/otokrin uyarıcı sinyaller göndererek yaparlar.

- Farklı alışmalar MSC'lerin miyojenik, adipojenik ve muhtemel diğer türlere farklılaşma adaptasyonu olduğunu ileri sürmüştür.
- Sinyal bağımlı olarak hücrenin ulaşacağı sonuç kas rejenerasyonunu etkiler ve yetişkin organizmalardaki görece kas ve yağ oranını belirler.

# Kas kök hücrelerinin genomik reprogramlanması

- İskelet kası gelişiminde multipotent kas kök hücrelerinin çekirdekleri, yeni gen ekspresyonu paternine adapte olabilmek amacıyla tekrar programlanır.
- Bu proses epigenetik olarak kromatin modifiye edici enzimlerin kullanılmasıyla sağlanır.
- Bu reprogramlama miyojenik kimliğin kazanılması, progenitör hücrelerin proliferasyonu ve çok çekirdekli kas hücrelerine dönüşmelerini sağlar.

- SSC'lerin diğ er bir özelliđ i de «asymmetric division».
  - Bir hücrede depolanmış epigenetik bilgi segregasyon ile farklı k adere sahip olacak olan iki ayrı hücreye aktarılır.
  - Bir hücre satellit hücre deposuna ayrılırken, diğ eri diferensiyasyon programına girer.
  - Kas hasarlanmasında bu özellik sayesinde her iki hücre gurubunun da devamlılığ ı sağlanır.
  - Pax7 ekspresyonu satellit hücreye gidiş, MyoD ve Myf5 ise diferensiyasyona gidiş i gösterir.

- Pax7 diferensiyasyon programına girmeyen satellit hücreler ile co-segregasyon olup, MyoD, Myf5 ve Numb diferansiyasyonu artırır
- Pax7 aynı zamanda proliferasyonu indükler ve MyoD ve Myf5 genlerinin ekspresyonlarını artırır.
- Pax7 aracılı MyoD ve Myf5 ekspresyonu aktivasyonu diferansiyasyon programına giren MSC popülasyonunun belirlenmesini sağlar.
- Pax7 aslında zayıf bir transkripsiyon aktivatörü olup, bu etkisini bir H3K4 Histon metil transferaz aracılığı ile sağlar.

# İskelet kası miyogenezini regüle eden transkripsiyonel network

- Genom analizlerine göre bazı genlerin koordineli olarak ekspresyonuna izin veren epigenetik değişiklikler, progenitör hücreden iskelet miyogenezine doğru ilerleyişi sağlamaktadır

# Kromatin ilişkili kinazlar: miyojenik hücrelerde rejenerasyon uyarılarına cevap olarak epigenomik regülatörler

- Rejenerasyon ortamında, ekstrinsik uyarılar epigenetik modifikasyonlara dönüştürülür ve bu da bir dizi hücrel olayları tetikleyerek histon ve kromatin ilişkili proteinleri fosforilleyen kromatin kinazlarının aktiflenmesini sağlar.
- P38 kinazlar kromatin ilişkili proteinlerin önemli regülatörleridir.
  - SWI/SNF kompleksi BAF60 subuniti üzerinden p38 kinazları tarafından fosforillenir
  - MEF2D fosforilasyonu, gen transkripsiyonuna yönlendiren H3K4 trimetilasyonunu sağlayan ve Tirotorax grubu Ash2L histon metiltransferazının rekrutmanını sağlar

- SWI/SNF ve TrxG subunitleri fonksiyonel olarak bağlantılıdır
- Bu şekilde kas genleri regulator elementleri üzerinde SWI/SNF bağımlı nükleozom remodeling ve TrxG ilişkili H3K4me3, p38'in fosforillemesiyle birleştirilmiş olur.
- p38'in E47 fosforillemesi ise MyoD'nin DNA tanıma bölgesine yapışmasını kolaylaştırır. Bu da Myo D hedef promotor bölgelerine SWI/SNF ve TrxG komplekslerinin rekrutmanına katkıda bulunur.

- Undifferansiye miyoblastlardan diferansiye kas hücrelerine geçiş için ko-aktivatör enzimlerle ko-represör enzimlerin yer değiştirmesi ve öncesinde mevcut epigenetik modifikasyonların silinmeleri gereklidir
  - Histon deasetilazlar ile CaMK yer değiştirmesiyle hiperasetilasyonun sağlanması
  - Polycomb complex'inin Ezh2 subuniti ile yapılan metilasyon
    - Ezh2 ve HDAC1 downregulasyonu sayesinde YY1 bölgesinin SRF ile iletişime geçmesi MyoD'nin bağlanması ve aktivasyon için gerekli transkriptozom oluşumu
  - Histon metilasyon ve demetilasyonu da önemli rol oynar
    - Demetilasyon tam olarak bilinmiyor
  - Farmakolojik olarak girişimler mevcut
    - Histon deasetilaz inhibitörleri

# miRNA aracılı epigenetik Miyogenez regulasyon

- miRNA'lar posttranskripsiyonal gen regulasyonunu sağlayan kodlanmayan RNA parçalarıdır
- Memeli mRNA'ların %50'si miRNA'lar tarafından regule edilebilir
- miRNA'lar
  - RNA polimeraz II tarafından primi-miRNA olarak transkripte edilir
  - Pri-miRNA'lar Drosha protein kompleksi aracılığıyla pre-miRNA'lara dönüşür
  - Pre-miRNA'lar Exportin-5 aracılığıyla çekirdekten atılır
  - Dicer, miRNA'ları keserek matür formlarına dönüştürür
  - Böylece miRNA'lar RNA-induced silencing complex'lere incorpore olabilirler
  - Böylece hedef mRNA, translasyonel inhibisyon, endonucleolitik parçalanma ve exonukleolitik RNA yıkımı gibi yollarla inhibe edilmeye yönlendirilmiş olur

# Kas gelişiminde miRNA'ların rolü

- miR-1/206 and miR-133a/133b
  - Hem miR-1 hem de miR-133 kas gen ekspresyonunu ve sarkomerik aktin organizasyonunu etkiler (zebrafish)
  - miR-1 etkisini HDAC4 seviyesini azaltır, diferensiyasyona yönlendirir.
  - miR133a hücre proliferasyonunu artırır, dolayısıyla SRF inhibe ederek diferansiyasyonu azaltır
  - miR206 ekspresyonu C2C12 hücrelerinin diferensiyasyonunu sağlar (MET regulasyonu ile rabdomiyosarkom inh.)

- miR24
  - Miyoblast diferensiyasyonu esnasında miktarı artar. TGF-1 tarafından miktarı azaltılır
- miR26a
  - C2C12 kas kültürlerinde diferensiyasyon esnasında miktarında artış gözlenmiştir.
  - Kas diferensiyasyonunun negatif regülatörü olan Ezh2'yi (polycomb) hedefler
- miR27
  - Pax3 miktarını azaltarak , kas progenitör hücrelerinin diferensiyasyonunu artırır.

- miR29
  - Ekspresyonu MEF1 ve SRF tarafından azaltılır
  - Undiferensiye miyoblastlarda YY1 ve policomb proteinleri tarafından miktarı azaltılır.
- miR181
  - Diferensiyasyon esnasında anlamlı oranda artar
- miR214
  - Ezh2 hedefler ve Ezh2 protein seviyelerini azaltır
  - Promiyogenik etkiye sahiptir

# Miyogenez ve muskuler distrofilerde miRNA'lar

- miRNA'lar strese bağlı kardiyak remodelingde regelatör rol oynarlar
- miRNA alt guruplarının ekspresyonları limb girdle ve DMD gibi hastalıklarda farklı özellikler sergiler.
- DMD'de miR-299-5p, miR-487b, ve miR-362 artmış miktardadır.

# X kromozom inaktivasyonu

- Epigenetik gen regulasyonunun klasik örneğidir
- Dişi cinsiyetteki 2 X kromozomundan birinin fakültatif heterokromatinleşmesiyle inaktive olmasıdır
- Xi bir diğer tipik özelliği asenkronize replikasyondur (1962)
- Bu bölümde XCI olaylarındaki düzenleyici mekanizmalar tartışılmıştır

# XCI regulation during development

- Imprinted ve random şeklindedir
- Fare modelinde fertilizasyon aşamasında 2 X de aktiftir
- İlk bölünmede 1. inaktivasyon gerçekleşir ve imprint paternde paternal X inaktive olur
- Blastosist aşamasında iç hücre kitlesi (ICM) reaktive olur
- Bu noktada ICM de 2 X de aktifken trofoektoderm ve primitif endoderm ilk bölünmeden itibaren 1 X inaktiftir

- 2. inaktivasyon rasgele olur ve **primordial hücreler hariç** tüm hücrelerde Xi gerçekleşir
- Monoallelilik Xist geni ile gerçekleşir
- Epigenetik modifikasyonlar
  - RNA pol2
  - Transkripsiyon faktörleri
  - Ökromatik belirteçler

- Rasgele seçilen XCI bir ömür süreceğinden
  - Imprinted XCI (histon modifikasyonları)
  - **Random XCI (CpG metilasyonu) “daha stabil”**

**Spesifik loküslerin muhtemel intrinsek özelliklerinden dolayı Xi deki bazı genler eksprese olabilmektedir**

# **Xist RNA sđ X kromozom inaktivasyonunda bařlıca dűzenleyicidir**

**Xist ve Tsix GENLERİNİN  
EKSPRESYONUNDAKİ DENGE HANGİ X İN  
İNAKTİF YA DA AKTİF OLACAĐINI BELİRLER**

# ***Xist A-Repeat Role in Silencing***

- Xist geninde tekrarlayan korunmuş bölgeler mevcuttur, RepA olarak adlandırılmıştır ve bu bölgenin mutasyonu XCI yi bozar
- RepA PRC2 ve H3K27 trimetilasyonu ile inaktivasyona yol açtığı düşünülmektedir
- Rep A nın inaktivasyon görevinde PRC2 ve H3K27 trimetilasyonuna gereksinimi olmadığı da gösterilmiştir
- Tsix bu RepA PRC2 interaksyonu bozarak XCI yi önler

# *Xist* gen düzenlenmesi

- Antisense olan Tsix'in mutasyona uğratıldığı deneklerde o allelin olduğu kromozom inaktive olmaktadır
- Mekanizma olarak
  - Tsix'in mutasyonu Xist promotor bölgesindeki represif kromatin marker birikimine sebep olur
  - Tsix'in mutasyonu XCI loküsünde aktif kromatin marker artışına sebep olur

# *Xist ifadesi Tsix tarafından düzenlenir*

- Tsix RNA geni kodlamadığından transkriptin kendisi Xist ekspresyonunu represe ettiği düşünülmektedir
- Ancak bu mekanizmanın nasıl olduğu henüz bilinmemektedir

# *Xist Pluripotensi ilişkili faktörlerle düzenlenir*

- Rasgele XCI embriyogenezis aşamasında undiff. hücrenin differensiye olması esnasında olur
- Farklılaşmamış dişi ES in vivo ve in vitro 2 aktif X kromozomu olduğu gösterilmiştir
- *Pluripotency transkripsiyon faktörleri Ctcf, Yy1, Oct4 Tsix ve Xite loküslerine bağlanarak XCI yi düzenler*

# *Xist Pluripotensi ilişkili faktörlerle düzenlenir*

- Pluripotensin başlangıcı ve idamesi için gerekli transkripsiyon faktörleri Oct4, Nanog ve Sox2 pluripotent hücrelerdeki *Xist geni kromatinine direk bağlanır*
- *İnsan ESC deki pluripotent faktörler ve XCI arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir*
- *Farelerdeki kadar kolay olmadığı düşünülmektedir*

# X kromozom inaktivasyonunun kardeş X kromozom eşleşmesi ile regülasyonu

- Yüksek duyarlıklı haritalama ve kromozom konformasyon (3C) ile *Xist*, *Tsix* ve *Xite* aralarındaki ilişki domainleri keşfedilmiştir
- XCI nin 3 boyutlu organizasyonunda bu ilişkilerin rolü bulunmaktadır
- Xpr 2 X kromozomun homolog eşleşmesinden sorumludur ve XCI için birden çok X kromozomu mevcuttur
- XCI başlangıç ve gelişiminde yapısal interaksiyonun önemli rolü ve vardır

# XCI karakterize eden kromatin modifikasyonları

- Xist ekspresyonu ile başlayan XCI susturma ve stabilizasyonu sağlayan kromatin modifikasyonu ile devam eder.
- XCI başladıktan sonra diğer epigenetik modifikasyonlar inaktif durumu sürdürebildiklerinden Xist gereksiz hale gelebilir

# XCI karakterize eden kromatin modifikasyonları

- Histon modifikasyon kombinasyonu X in durumunu gösterir
- Kromatin immünpresipitasyon çalışmaları ile gösterilmiştir (ChIP)
  - Heterokromatik: H3K27me3, H3K9me2, H2AK119Ub, H4K20me1, ve macroH2A
  - Ökromatik: H3K4me2/3 and H3, H4 acetylated lysines

# Chromatin modifications characterizing the XCI

- CpG promotor metilasyonu XCI nin erken fazlarıyla ilişkili değildir
- Random XCI inaktivasyonunun kalıcı devamından sorumlu olduğu düşünülüyor
- Dnmt 1 mutasyonu veya 5' azcytidine maruziyetine bağlı DNA demetilasyonu Xi nin reaktive olmasını sağlar
- CpG hypermetilasyonu ve Xi nin yapısal devamlılığından SmcHD1 proteinin sorumludur

# Chromatin modifications characterizing the XCI

- DNA metilasyonu Xist in aktif X üzerindeki represyonunu sağlar

-

# Role of spatial organization within the nucleus in X inactivation

- Nükleustaki gen pozisyonunun o genin aktivite düzeyini gösterdiği keşfedilmiştir
- Gen zengin bölgeler transkripsiyonel olarak aktif olduklarında kromozomal alandan dışarı çıkıntı oluştururlar “loop out”
- Somatik hc. lerde Xist RNA gen susturmada görev almaz, Xi deki X-linked genler internal bölgede bulunurlar
- Aktif X de bu genler kromozomal bölgenin periferinde bulunurlar

# Role of spatial organization within the nucleus in X inactivation

- Sonraki çalışmalarda Xi deki X-linked genlerin internal bölgede değil kenarlarda olduğu gösterilmiş
- Xist RNA birikir ve sessiz bir kompartman oluşturur, X kromozomunbu tekrarlayan sekansları RNA pol 2 ve transkripsiyon faktörlerinden yoksundur
- SAF-A Xi nin strüktürel stabilizasyonundan sorumlu proteindir

# Sonuç

- Dişi memeli embriyogenezi sırasında olaylar dizisi ile 2 X den biri inaktive olur
- “Xist coating” ile başlayan olaylar zinciri diğer epigenetik modifikasyonlarla stabilite ve fleksibilite ile inaktive durumun devamlılığı sağlanır
- XCI karmaşıklığında aydınlatılacak çok konu mevcuttur

# Genomik damgalanma

- Bazı genler anneden ya da babadan kalıtılmalarına göre epigenetik damgalar taşır.
- Bu damgalar (imprint) bir gende hangi allelin ifade edileceğini belirler.
- «genomik imprinting» terimi sadece memeliler için kullanılırken ,buna benzer damgalama mekanizmaları daha önce biliniyordu.
- Bu mekanizmada bozukluk olduğunda birçok patoloji özellikle kanser ortaya çıkmaktadır

- X kromozomu inaktivasyonu 1970, bundan 20 yıl önce memelilerde damgalanmış otozomal genlerin keşfi gerçekleşmiştir.
- Farelerde çekirdek transfer çalışmaları sırasında bu olgu farkedilmiş.

- 1991 yılında farelerde *igfr2* reseptör geninin anneden gelen alleli, *igfr2* geninin babadan gelen alelinin ifade edildiği
- *Igf* düzenleyicisi bir kodlamayan RNA olan *H19* geninin maternal ifade edildiği bulunmuş

- Mekanizma tam olarak aydınlatılamamış
- Damgalanmış genler DNA metilasyonu içeriyorlar.
- Memelilerde CpG dinükleotidlerinde oluyor
- Memelilerde genelde bu «transposable» bölgelerde bulunuyor

- Damgalanmış genler genelde farklı şekilde metillenmiş bölgeler denen kalıtılan metilasyon bölgelerine yakın bulunur (DMR).
- Buralara farklı metillenmiş domainler (DMD) denir .
- Bunlar epigenetik modifikasyonun ana hedefi olarak görülürler.
- DMR ler cis yada trans olmalarına göre allel spesifik gen ifadesini belirler.

- Bunlara ayrıca
- «imprinting control regions (ICRs), also known as imprinting control elements (ICEs) or imprinting centers (ICs).» denir

- CpG lerin yüksek frekansta bulunduğu bölgelerde ardışık tekrarlı diziler şeklinde homolog DMR dizileri dağılmıştır .
- Bu dizilerin de novo diferansiyel metilasyonu başlattığına inanılmaktadır.

- İlk damgalanma gamet hücrelerinde başlamakta mevcut metilasyon silinerek yeniden *de novo* metilasyon olmaktadır.
- (Dnmt3a ve kofaktör Dnma3L)
- De novo metiltransferazın anne ve baba DMR leri nasıl ayırd ettiği bilinmiyor ancak yerleşimlerine göre ayırdığı tahmin ediliyor

- Anneden gelen DMR transkripsiyon ünitlerinde yerleşirken bilinen bir kaç baba kaynaklı DMR intergenik bölgededir .
- Paternal spesifik germline metilasyon ardışık tekrarlı dizileri hedeflerken ( *H19 and Rasgrf1* loci), taranskripsiyon faaliyetleri maternal spesifik metilasyonu dikte edtmektedir.  
(*Gnas/Nesp* locus)

- Bu modele göre bütün maternal DMR ler transkripte bölgelerde bulunuyorlar.
- Bu hipoteze göre oosit spesifik transkripsiyon kromatinin yapısını uygun şekilde değiştirerek Germline DMR metilasyonunu kolaylaştırmaktadır.
- Alternatif olarak RNA germline metilasyonu artıran de novo metiltransferazı kendisi kullanmaktadır.

- Allel spesifik metilasyon germline –spesifik Dnmt3L ifadesinin zamanlamasını da içerir
- Dnmt3L oositlerde sadece ovulasyondan önce3 birkaçgün ifade edilir ve bu kısa sürede primer metilasyon damgaları oluşturulur.

- Dnmt3l ifadesi embriyonik dönemde başlar ve doğumdan sonra birkaç gün devam eder.
- Paternal spesifik DMR metilasyonu erkek germline hücrelerde yetişkinlik boyunca devam eder.
- Paternal metilasyonda sitozinler spontan olarak timine deamine olurlar (CpG lerden uzak yerleşimli)