

ГЕНОМНЫЙ ИМПРИНТИНГ И СЛУЧАЙНАЯ МОНОАЛЛЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ

Обзор

© 2024 Я.В. Лобанова^{1,2}, С.В. Женило^{1*}

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071 Москва, Россия; электронная почта: szhenilo@gmail.com

² Институт биологии гена РАН, 119334 Москва, Россия

Поступила в редакцию 21.10.2023

После доработки 08.12.2023

Принята к публикации 08.12.2023

В данном обзоре мы рассматриваем механизмы моноаллельной экспрессии: геномного импринтинга, при котором транскрипция генов зависит от родительского происхождения аллеля, и случайной моноаллельной транскрипции. Мы суммируем данные о регуляции активности импринтированных областей. Особое внимание уделено районам, контролирующим импринтинг. Рассматриваются факторы, которые могут влиять на изменчивость импринтома. Также обсуждаются перспективы, стоящие за исследованием моноаллельной экспрессии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: импринтинг, случайная моноаллельная экспрессия, метилирование ДНК, ZNF57, эпигенетика.

DOI: 10.31857/S0320972524010057 EDN: YRLEJX

ВВЕДЕНИЕ

У диплоидных организмов по половине генетического материала получено от каждого из родителей, что приводит к экспрессии генов как с материнского, так и с отцовского аллелей. Однако у растений, сумчатых, плацентарных млекопитающих и у некоторых насекомых есть пул генов, которые в зависимости от стадии развития, типа ткани экспрессируются только с материнского или отцовского аллеля. Такое явление получило название геномного импринтинга. По своей сути, геномный импринтинг представляет собой эпигенетическую регуляцию экспрессии генов, приводящую к их транскрипции в зависимости от родительского происхождения аллеля. У растений геномный импринтинг характерен для ткани эндосперма, у насекомых – вовлечен в элиминацию отцовской X-хромосомы [1, 2]. У млекопитающих геномный импринтинг является необходимым для нормаль-

ного развития эмбриона, плаценты, регуляции метаболизма, функционирования нервной системы. У амфибий, пресмыкающихся геномный импринтинг не обнаружен, за исключением одного гена у лягушки (рис. 1).

Существует несколько теорий возникновения и эволюции импринтинга: теория коадаптации матери и потомства, теория родства и теория полового антагонизма [3]. Эти теории основаны на разных гипотезах, но каждая из теорий рассматривает геномный импринтинг как процесс отбора в пользу одного из аллелей за счет селективной асимметрии между отцовским и материнским аллелями. Появление геномного импринтинга у млекопитающих в первую очередь связывают с развитием плаценты и возникновением конфликта между матерью и эмбрионом: матери важно сохранить возможность воспроизводить потомство в дальнейшем, а отец заинтересован в том, чтобы эмбрион получил как можно больше материнских ресурсов, не учитывая возможность появления нового потомства. Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что геномный импринтинг широко представлен в органах, отвечающих за питание и рост эмбриона. Так, в плаценте было найдено множество импринтированных факторов (Igf2, H19, Cdkn1c, Slc22a2, Slc22a3, Slc38a4),

Принятые сокращения: ИПСК – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки; нкРНК – некодирующие РНК; DMR – дифференциально метилированный участок; ICR – район, контролирующий импринтинг.

* Адресат для корреспонденции.

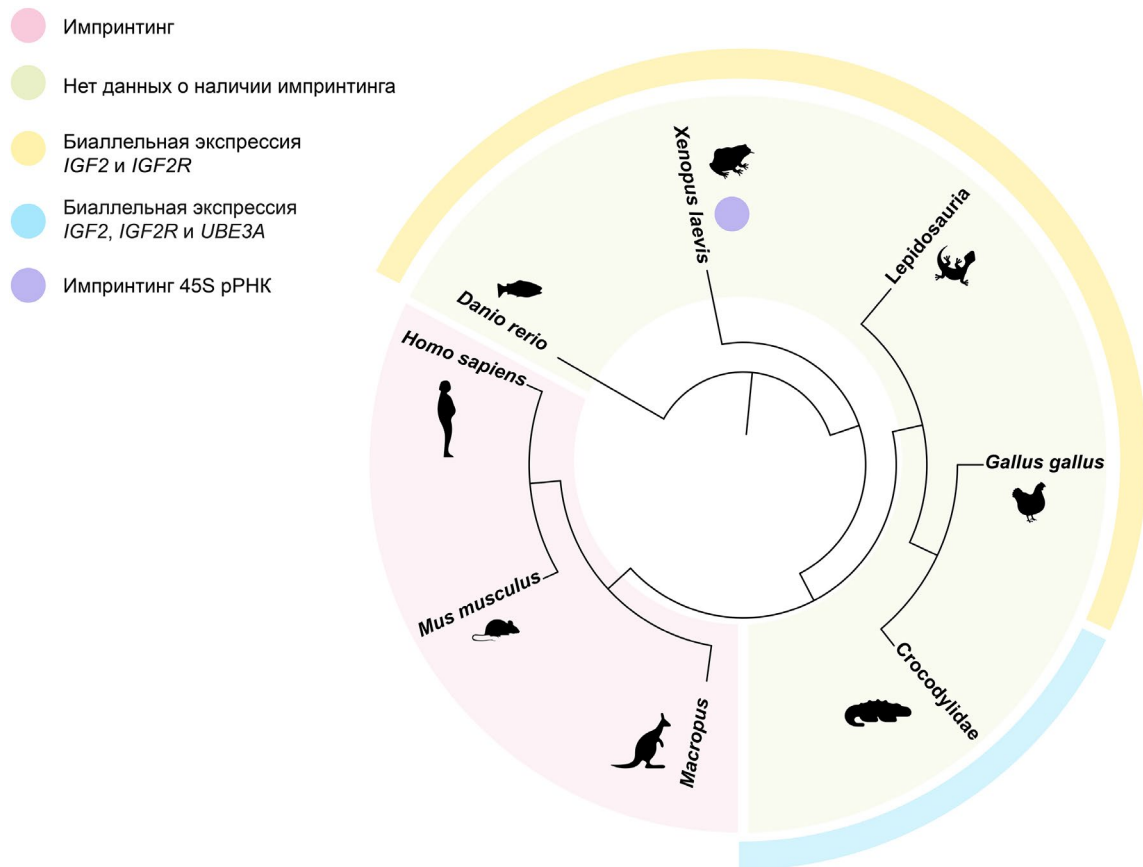


Рис. 1. Распространенность импринтинга среди различных групп позвоночных

участвующих в регуляции роста и питании эмбриона. Например, ген *Igf2* в плаценте подвергается материнскому импринтингу. *Igf2* является положительным регулятором роста эмбриона, влияя на доставку питательных веществ через плаценту [4]. Неудивительно, что мутации в импринтированных генах, неправильная их регуляция приводят к разнообразным нарушениям и патогенетическим состояниям при развитии организма [5]. У человека нарушение моноаллельной экспрессии генов приводит к гибели плода [6] или же проявляется в виде различных синдромов, например, синдромы Видемана–Беквита (H19, *IGF2*, *KCNQ1OT1*), Рассела–Сильвера (H19, *IGF2*, *KCNQ1OT1*), Ангельмана (*Ube3a*), Прадера–Вилли (кластер *15q11-13*) и др [7]. Одними из первых были открыты два синдрома: Ангельмана и Прадера–Вилли, которые представляют собой яркие примеры влияния мутаций и делеций, локализованных в одном и том же локусе, но расположенных на разных родительских аллелях. Синдромы Ангельмана и Прадера–Вилли связаны с нарушениями в локусе *15q11-13* – мутацией или потерей гена *Ube3a*, или продолжительной делеции соответственно. В зависимости от того, структура какого аллеля в локусе *15q11-13* (материнского или отцовского) была нарушена, различаются и клинические проявления [7].

Неожиданный эффект был получен при нарушении отцовского импринтинга локусов *Igf2/H19* и *Dlk1/Meg3*, а также при удалении импринтированного гена *RasGrf1*: у мышей наблюдалось уменьшение размера импринтированных локусов наряду с увеличением продолжительности жизни [8, 9]. Более того, нарушение импринтинга в локусах *Igf2/H19* и *Dlk1/Meg3* позволяет получить мышей с двумя материнскими геномами. То есть импринтированные гены являются регуляторами двуполого размножения [10, 9]. На данный момент времени наиболее полно изучен геномный импринтинг у человека и мыши. Обнаружено около 200 белок-кодирующих импринтированных генов в этих организмах. Наибольшее отличие в импринтированных генах между человеком и мышью наблюдается в плаценте, что говорит о важном вкладе эволюции в установление геномного импринтинга [11]. Помимо плаценты, геномный импринтинг затрагивает различные ткани и органы как эмбриона, так и взрослого организма. Так, исследование импринтированных генов в мозге показало, что геномный импринтинг является одним из регуляторов, влияющих на выживание и судьбу определенных популяций нейрональных клеток [12, 13].

Современные возможности полногеномного секвенирования позволили выявить интересную

особенность геномного импринтинга. Если ранее геномный импринтинг рассматривался как пример моноаллельной экспрессии, характерной для конкретной ткани, органа, то теперь появляются исследования, показывающие, что статус импринтированных генов в мозге может меняться при эмбриогенезе, онтогенезе, в ходе обучения [12, 14, 15]. Также были детектированы гены со сдвигом в биаллельной транскрипции в зависимости от происхождения родительской хромосомы, для которых сдвиг транскрипции соответствовал определенной стадии развития и локализации нейрональных клеток. Такие гены в большинстве своем являлись белок-кодирующими [14, 15]. Это позволяет говорить о сдвиге биаллельной транскрипции как о регуляторе уровня транскриптов в процессе онтогенеза и обучения.

Параллельно с исследованиями геномного импринтинга были обнаружены гены с моноаллельной экспрессией, которая не зависела от родительской принадлежности аллеля и была характерна для клеток иммунной и хемосенсорной систем. Позже появились данные о большом количестве генов со случайным сдвигом биаллельной транскрипции. Так, в клетках печени и фибробластах мышцы дисбаланс транскрипции с двух аллелей затрагивает 10–20% экспрессирующихся генов [16].

Данные о гибкости регуляции импринтинга, существование различных видов инактивации: случайной или зависимой от родительского происхождения хромосом, позволяют утверждать, что геномный импринтинг, моноаллельная экспрессия и сдвиг биаллельной транскрипции являются распространенными механизмами для регуляции эмбриогенеза, и в первую очередь нервной и иммунной систем.

В данном обзоре мы рассмотрим факторы, участвующие в установлении и поддержании геномного импринтинга, а также случайной моноаллельной транскрипции, и попытаемся ответить на вопрос, есть ли что-то общее в механизмах случайной моноаллельной экспрессии и эпигенетической регуляции геномного импринтинга. Также нами будут рассмотрены трудности, которые возникают при анализе моноаллельной экспрессии.

РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА

Насекомые. У насекомых импринтингу подвергаются целые хромосомы. Так, у сциарид (семейство двукрылых насекомых) зиготы содержат две отцовские X-хромосомы и одну материнскую X-хромосому. Пол эмбриона определяется по количеству элиминированных отцовских X-хромосом в соматических клетках. У особей женского пола элиминируется одна отцовская X-хромосома,

у особей мужского пола – две отцовские X-хромосомы. При сперматогенезе у особей мужского пола наблюдается полная потеря всех отцовских X-хромосом [17]. Предполагается, что регуляция элиминации хромосом координируется модификациями гистонов: для материнских X-хромосом характерен высокий уровень ацетилирования гистонов H3 и H4 [18, 19].

Растения. У растений импринтированные гены редко формируют большие кластеры, чаще всего импринтингу подвергаются отдельные гены [20, 21]. Основным механизмом регуляции импринтинга у растений является метилирование ДНК [22]. У покрытосеменных растений происходит двойное оплодотворение, один спермий оплодотворяет яйцеклетку и образуется диплоидная зигота, другой спермий сливается с центральной клеткой, образуя клетку эндосперма с тройным набором хромосом. Эндосперм осуществляет транспорт питательных веществ в зародыш. До оплодотворения в центральной клетке и яйцеклетке происходит снижение экспрессии поддерживающей ДНК-метилтрансферазы MET1, что приводит к появлению полуметилированной ДНК. Снижение экспрессии MET1 в центральной клетке и яйцеклетке обусловлено формированием в промоторной области MET1 комплекса белка RBR (retinoblastoma related) и MSI1 (multicopy suppressor of IRA1), относящегося к группе Polycomb-белков. В центральной клетке, в отличие от яйцеклетки, активно экспрессируется ДНК-гликозилаза Demeter (DME), субстратом для связывания которой является полуметилированная ДНК. Это приводит к деметилированию обоих аллелей импринтированных генов в центральной клетке. В то время как в яйцеклетке метилирование восстанавливается благодаря активности *de novo* ДНК-метилтрансферазы DRM1 [22–24]. Таким образом, после оплодотворения в триплоидной клетке эндосперма два материнских аллеля активны и неметилированы, в то время как отцовский аллель импринтированных генов метилирован. В клетках зиготы и материнский, и отцовский аллели метилированы (рис. 2).

Млекопитающие. В отличие от насекомых и растений, большинство импринтируемых генов млекопитающих локализируются в кластерах, содержащих от 3 до 12 генов и имеющих общий регуляторный центр, называемый районом, контролирующим импринтинг (ICR). При этом в импринтированных кластерах могут присутствовать и неимпринтированные гены, т.е. экспрессирующиеся с обоих аллелей [25]. Длина одного и того же импринтированного кластера может меняться в зависимости от типа клеток. Особенно четко разница в размере импринтированных локусов просматривается между плацентой и эмбрионом/взрослым организмом. Так, размер импринтиро-

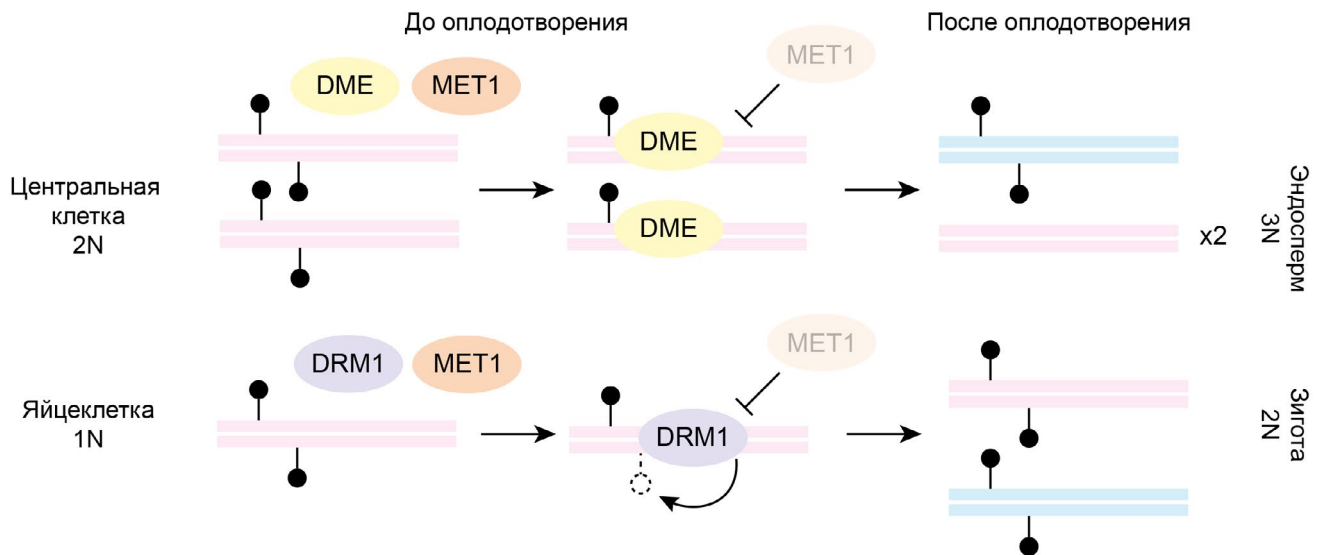


Рис. 2. Общий механизм импринтинга генов покрытосеменных растений. 3N – триплоидный геном; 2N – диплоидный геном; 1N – гаплоидный геном; DME – гликозилаза Demeter; MET1 – ДНК-метилтрансфераза; DRM1 – *de novo* ДНК-метилтрансфераза; черные закрашенные круги – метилирование ДНК

ванного кластера *Igf2r* составляет 120 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.) в тканях эмбриона и у взрослого организма, в то время как в плаценте размер этого локуса достигает 10 млн п.н. [26].

Важно отметить, что большинство импринтированных генов млекопитающих являются генами некодирующих РНК (нкРНК) [27]. Среди известных 110 импринтированных кластеров было детектировано около 4000 генов разнообразных нкРНК, большую часть которых составляют рiРНК (РНК, образующая комплекс с белками семейства Piwi), в то время как количество импринтированных генов, кодирующих белки, у мыши и человека – около 200 [27]. Импринтированные нкРНК чаще выполняют нетипичную для себя функцию. Так, snoРНК (малые ядрышковые РНК) обычно участвуют в процессировании рРНК и ее модификации, однако импринтированная snoРНК H/MBII-52 регулирует сплайсинг 5htr2c (серотонинового рецептора 2C) [28]. Отметим, что многие белок-кодирующие импринтированные гены были найдены и в организмах, в которых отсутствует импринтинг, в то время как последовательности импринтированных генов нкРНК характерны только для организмов с геномным импринтингом [29] (рис. 1).

Эпигенетические модификации (метилирование ДНК или модификации гистонов) последовательностей ICR, являющихся ключевым регулятором импринтированных генов, зависят от родительского происхождения аллеля. Они устанавливаются на ICR в гаметах и после образования зиготы избегают волны деметилирования, которая затрагивает весь геном в предимплантационном периоде. Удаление модификаций в этих областях в дальнейшем происходит только в клетках гонад

эмбрионов до определения их пола. При развитии эмбриона в особь одного или другого пола гонады организма дифференцируются в семенники или яичники, которые производят гаплоидные половые клетки, приобретающие соответствующий паттерн геномного импринтинга. Дифференциально метилированные участки зародышевого происхождения (gDMR) или первичные DMR – это участки ДНК, расположенные в ICR, метилирование которых осуществляется и поддерживается при помощи ДНК-метилтрансфераз в половых клетках гонад эмбриона и сохраняется только на одной родительской хромосоме в диплоидных клетках после оплодотворения. Например, кластер *Igf2/H19* имеет gDMR, расположенный на 2 т.п.н. выше промотора длинной нкРНК *H19*, который метилируется только в отцовских гаметах (рис. 3, а).

Метилирование этого gDMR сохраняется во всех соматических тканях. Важность метилирования в установлении и поддержании импринтинга подтверждается в экспериментах по снижению уровня полногеномного метилирования ДНК, вызванному мутациями в ферментах семейства ДНК-метилтрансфераз, которое приводит к изменению экспрессии импринтированных генов.

В отличие от метилирования ДНК, модификации гистонов в импринтированных локусах в зиготах преимущественно наследуются от ооцитов. При исследовании локусов моноаллельно экспрессирующихся генов было показано, что лишь часть отцовско-специфичных открытых участков хроматина была связана с метилированием ДНК в ооците, что говорило о наличии альтернативного метилированию механизма по поддержанию материнского аллеля в молчащем состоянии [30].

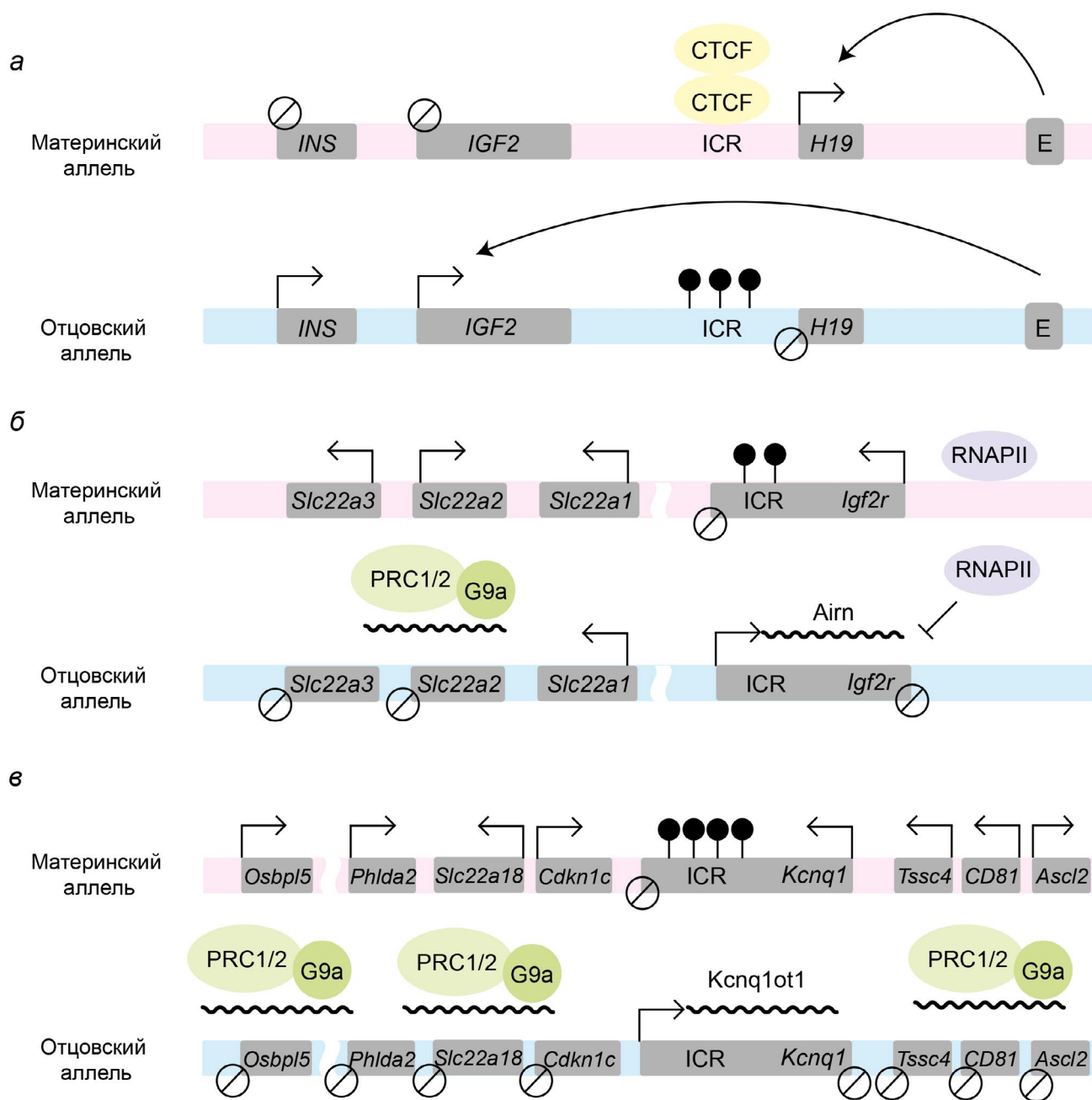


Рис. 3. Строение и механизм функционирования импринтированных локусов. Регуляция экспрессии в импринтированном локусе с помощью инсультатора на примере локуса *Igf2/H19* (а), длинных некодирующих РНК на примере локуса *Igf2r/Airn* (б) и локуса *Kcnq1* (в). Е – энхансер; черные закрашенные круги – метилирование ДНК; ICR – район, контролирующий импринтинг

Анализ модификаций гистонов в импринтированных локусах в ооцитах выявил обогащение триметилированных H3K27 и H3K9. Удаление H3K27me3 при помощи гистоновых деметилаз приводило к нарушению импринтинга [31]. Для подтверждения важности модификаций гистонов при установлении импринтированного состояния были предприняты попытки инактивировать ферменты, участвующие в установлении H3K27me3. Триметилирование H3K27 осуществляется PRC2, белковым комплексом из группы белков Polycomb. Мутация

в гене *Eed*, кодирующем субъединицу PRC2 приводит к биаллельной экспрессии ряда импринтированных генов (*Ascl2*, *Grb10*, *Cdkn1c*, *Gtl2*) без изменения уровня метилирования их регуляторных элементов [32]. Триметилированный H3K9 также присутствует в областях ICR хроматина импринтированных локусов, наряду с метилированием ДНК в предимплантационном зародыше, и необходим для предотвращения деметилирования ДНК, которое наблюдается в этот период для всего генома [33].

Известны два механизма, обеспечивающие регуляцию функционирования импринтированных локусов. Первый механизм связан с функционированием инсуляторов. В основе второго механизма лежит воздействие длинных нкРНК. Так, в ICR кластера *Igf2/H19* расположен DMR, метилирование которого поддерживается на отцовской хромосоме, что препятствует связыванию единственного известного для млекопитающих инсуляторного белка CTCF, способного проявлять энхансер-блокирующую активность. Это приводит к стерическим затруднениям во взаимодействии промоторов генов *Igf2* и *INS* с энхансером, что препятствует активации этих генов. Таким образом, гены кластера *Igf2* экспрессируются только с отцовской хромосомы, в то время как длинная нкРНК *H19* – с материнской, где отсутствует метилирование ее промотора, перекрывающегося с ICR (рис. 3, а).

В основе второго механизма лежит действие длинных нкРНК [5]. Как правило, длинные нкРНК расположены в регуляторных областях: в промоторах или энхансерах, а также внутри кодирующей последовательности импринтированных генов. Это приводит к тому, что длинные нкРНК могут влиять как на инициацию транскрипции, так и на процесс элонгации импринтированных генов [34, 35]. Например, в импринтированном локусе *Igf2r/Airn* на отцовском аллеле происходит антисмысловая, по отношению к *Igf2r*, транскрипция гена *Airn*, что предотвращает связывание РНК-полимеразы II с промотором *Igf2r* [35]. На материнском аллеле ICR заметилирован, что приводит к инактивации промотора *Airn* и транскрипции *Igf2r*. С другой стороны, длинные нкРНК могут участвовать в регуляции импринтированных генов как нкРНК. К своим участкам связывания импринтированного локуса они привлекают репрессивные комплексы, которые метилируют ДНК, приводя к появлению модификаций гистонов, ассоциированных с репрессией: триметилирование H3K27, убиквитинирование H2AK119. Классическим примером влияния длинных нкРНК на установление этих модификаций является длинная нкРНК *KCNQ1OT1* (рис. 3, в). Также импринтированные длинные нкРНК могут регулировать транскрипцию генов, расположенных вовне импринтированных локусов. Так, транскрипция генов *Slc22a2* и *Slc22a3*, расположенных на расстоянии 100 и 300 т.п.н выше локуса *Igf2r/Airn* соответственно, подавляется за счет связывания длинной нкРНК *Airn* с их промоторными участками и привлечения репрессивных Polycomb-комплексов PRC1 и PRC2, а также гистоновой метилтрансферазы H3K9 G9a (рис. 3, б) [36, 37].

Сходства и отличия регуляции геномного импринтинга у растений и млекопитающих. У млекопитающих инактивация импринтирован-

ного аллеля происходит при гаметогенезе преимущественно за счет метилирования ДНК, а также триметилирования гистонов H3K9 и H3K27, которое поддерживается в дальнейшем в соматических клетках. Активное состояние аллеля сопряжено с отсутствием метилирования. У растений наблюдается принципиально иная стратегия механизма геномного импринтинга. Метилирование ДНК является ключевым регулятором геномного импринтинга у растений, однако, в отличие от млекопитающих, у которых импринтированный аллель метилирован и активен, у растений импринтированный аллель активируется за счет деметилирования ДНК. У растений геномный импринтинг характерен для эндосперма, функция которого связана с запасанием питательных веществ и питанием зародыша, но не дает начало новой особи. Поэтому в дальнейшем нет необходимости стирать импринтинг в эндосперме. Другая ситуация наблюдается у млекопитающих: у них деметилирование импринтированных участков происходит в гонадах, где устанавливается новый профиль импринтинга в соответствии с полом животного. Тем не менее у растений есть гены, для которых показано, что они биаллельно экспрессируются в других тканях, т.е. были деметилированы оба аллеля, а в эндосперме импринтированы, т.е. был деметилирован только один аллель. Например, ген *MEA* у *Arabidopsis thaliana*, кодирующий белок из группы Polycomb, импринтирован в эндосперме, т.е. активно транскрибируется с материнского аллеля и неактивен в яйцеклетке, однако в эмбрионе на стадии торпеды и позже в проростке, листе, стебле и корне он экспрессируется биаллельно (таблица в Приложении) [38].

ПОДДЕРЖАНИЕ ГЕНОМНОГО ИМПРИНТИНГА

Исследования механизмов поддержания импринтированных аллелей в активном или неактивном состоянии показали важность как генетических, так и эпигенетических факторов. Многие ICR расположены в CpG-островках или CpG-богатых участках. CpG-островок – участок ДНК, в котором уровень пар GC больше 50% и соотношение ожидаемое/наблюдаемое количество CpG выше 0,6 [39]. Введение в геном мышиных стволовых клеток неметилированной последовательности ICR в эухроматиновый регион приводило к устойчивости данного ICR к *de novo* метилированию [40]. Такая же картина характерна для любых CpG-островков [41]. То есть поддержание ICR в неметилированном состоянии может регулироваться повышенной плотностью CpG-пар. Введение в то же самое место генома метилированного *in vitro* ICR

характеризовалось поддержанием высокого уровня метилирования ICR и появлением модификаций неактивного хроматина [40, 42, 43]. При этом CpG-островки, расположенные вовне ICR, теряли свое метилирование при введении в клетки в метилированном состоянии [40]. Таким образом, метилирование ICR в клетках способно поддерживаться вне зависимости от того, находится ли он в эндогенном локусе или введен искусственно. Были проведены исследования по определению того, какие элементы последовательности ICR необходимы для поддержания его в метилированном состоянии. Оказалось, что плотность CpG и GC-состав являются не единственными критериями, наличие которых гарантирует поддержание статуса ICR. Ключевую роль в поддержании метилирования ICR и установление модификаций, характерных для гетерохроматина, играют последовательности, к которым привлекается метил-ДНК-связывающий KRAB-белок с цинковыми пальцами ZFP57 или его аналоги [40, 44]. ZFP57 связывается с метилированной гексануклеотидной последовательностью TGCCGC, высокое обогащение которой наблюдается в большинстве ICR. Далее ZFP57 привлекает KAP1 (известный также как TRIM28 или TIF1-beta), который является скаффолдом для сборки репрессивного комплекса, содержащего такие факторы, как ДНК-метилтрансферазы (DNMT1, DNMT3a/b), а также факторы, модифицирующие хроматин: гетерохроматиновый белок HP1, гистон-метилтрансфераза SETDB1, комплекс ремоделирования хроматина и деацетилирования гистонов NuRD и ядерный рецепторный корепрессорный комплекс N-CoR1 [45].

Белки, содержащие KRAB-домен, были найдены у многих позвоночных, в том числе у рептилий и птиц, однако наибольшее количество таких белков присутствует у млекопитающих. Особенно много KRAB-белков с цинковыми пальцами у человека, где количество их достигает 724 [46]. Тем не менее ZFP57 присутствует исключительно в геноме млекопитающих, что говорит о его особой роли в регуляции импринтинга у этих организмов. Удаление ZFP57 у мыши приводит к ранней эмбриональной летальности и потере большинства импринтов. В отличие от мыши, у человека ZFP57 начинает синтезироваться только после формирования бластоцисты, до этого времени функцией привлечения к импринтированным локусам фактора KAP1 обладают другие белки с цинковыми пальцами и KRAB-доменом: ZNF202 и ZNF445 [47]. Отметим, что, несмотря на большое количество метил-ДНК-связывающих белков (белки семейства MBD, Kaiso и Kaiso-подобные белки, UHRF, KLF4 и пр.), только белки семейства KRAB-ZNF вовлечены в поддержание метилированного состояния ICR. Удаление генов, кодирующих метил-ДНК-связывающие белки семейства MBD

и семейства Kaiso, не приводит к реактивации метилированного аллеля, хотя это может влиять на метилирование различных регуляторных элементов неимпринтированных генов как прямо, так и опосредованно [39, 48, 49]. Единственным исключением является BTV/POZ-ZNF белок Kaiso. Его удаление способствует снижению метилирования ICR импринтированного локуса *Igf2/H19* в первичных фибробластах человека, которое, однако, не приводит к изменению экспрессии импринтированных генов в данном локусе [50].

У амфибий аналогов ZFP57 не было найдено, и долгое время считалось, что импринтинга у лягушек нет. Однако в работе 2014 г. у лягушки был найден единственный импринтированный ген 45S рРНК (рис. 1) [51]. Одним из возможных кандидатов в регуляторы импринтинга 45S рРНК может выступать метил-ДНК-связывающий белок Kaiso. Нокаут гена *Kaiso* в *Xenopus laevis* приводит к аресту развития и характеризуется преждевременной активацией генов, которая наблюдается на два цикла раньше классической стадии сдвига в средней бластуле, после которой обычно начинается активная транскрипция [52]. Таким образом, Kaiso и ZFP57 необходимы для развития лягушки и мыши соответственно. Отметим общую схожесть белков ZFP57 и Kaiso в клеточной локализации, сайтах связывания с ДНК и возможности образовывать комплекс с KAP1 [53]. Однако нокаут *Kaiso* у мыши приводит лишь к определенному поведенческому фенотипу, характеризующемуся повышенной локомоторной и исследовательской активностью [54]. Все это позволяет предположить, что Kaiso у млекопитающих вовлечен в регуляцию транскрипции генов в клетках нервной системы и, возможно, участвует в динамическом импринтинге при онтогенезе и в процессе обучения, что поддерживается способностью Kaiso напрямую взаимодействовать с ключевым регулятором импринтинга KAP1 [53].

СЛУЧАЙНАЯ МОНОАЛЛЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ

В данной главе мы рассмотрим известные данные о механизмах случайной моноаллельной экспрессии или сдвига биаллельной транскрипции генов человека, которая характерна для примерно 10% генов (рис. 4) [55].

Впервые моноаллельная экспрессия была описана при инактивации X-хромосомы, которая происходит случайным образом при развитии эмбриона женского пола. Исключением являются ткани плаценты грызунов и сумчатых, у которых всегда происходит инактивация отцовской X-хромосомы. Инактивация X-хромосомы в плаценте

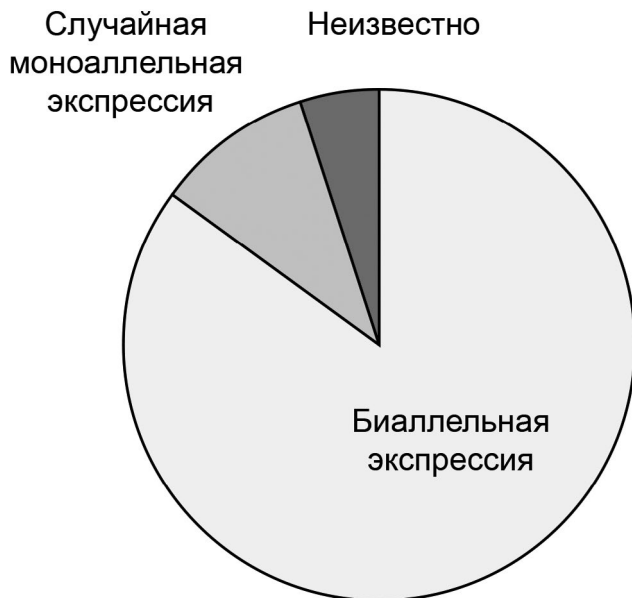


Рис. 4. Соотношение биаллельно и моноаллельно экспрессирующихся генов в геноме человека (адаптировано из [55])

человека происходит неоднородно, наблюдаются крупные кластеры клеток с отцовской или материнской экспрессией, что значительно отличается от мозаичного паттерна инактивации в тканях взрослого организма или эмбриона [56]. Позднее были найдены и аутосомные гены, которые подвергаются случайной инактивации. Часть генов со случайной моноаллельной инактивацией регулируется перестройкой ДНК. К таким генам относятся гены иммуноглобулинов Т-клеточных рецепторов. Однако случайная моноаллельная инактивация для других аутосомных генов, среди которых были найдены гены обонятельных рецепторов, рецепторов феромонов, интерлейкинов, рибосомных генов и других генов, кодирующих разнообразные факторы, не связана с геномными перестройками [57, 58]. Отметим, что спектр генов, который регулируется моноаллельной инактивацией, обогащен генами, кодирующими поверхностные клеточные маркеры [59]. Это позволяет предположить, что регуляция с помощью моноаллельной экспрессии направлена на создание клеточной идентичности для отдельных клеток. С другой стороны, моноаллельная экспрессия также затрагивает гены, связанные с возрастными заболеваниями: раком, нейродегенеративными заболеваниями [55, 60]. Также эти гены чаще всего расположены в быстро развивающихся геномных регионах, а мутации в них детектируются при различных заболеваниях [55]. Моноаллельная экспрессия, аналогично импринтингу, может динамически изменяться. Так, пластичность моноаллельной экспрессии наблюдается в нервной системе при онтогенезе (таблица в Приложении) [61].

Таким образом, моноаллельная экспрессия представляет собой важную мишень для регуляции различных патогенетических состояний.

РЕГУЛЯЦИЯ СЛУЧАЙНОЙ МОНОАЛЛЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ

О механизмах установления и регуляции моноаллельной экспрессии известно немного. Рассматривается несколько механизмов, вовлеченных в установление и поддержание моноаллельной экспрессии, однако ни один из них не является универсальным.

Одной из наиболее исследованных причин возникновения моноаллельной транскрипции является наличие однонуклеотидных полиморфизмов в *cis*-регуляторных элементах генов, которые оказывают влияние на связывание транскрипционных факторов [62] (рис. 5, а).

Недостаток регуляторных факторов также может приводить к преимущественной экспрессии гена с одного аллеля, что в дальнейшем закрепляется с помощью асинхронной репликации, различной локализации аллелей в ядре, которая характерна и для импринтированных генов (рис. 5, б).

Около половины генов со случайной моноаллельной экспрессией содержат внутри себя гены, расположенные на комплементарной цепи, в то время как биаллельные гены редко пересекаются с другими генами таким образом (рис. 5, в) [55].

Транскрипция с комплементарной цепи, идущая в противоположном направлении, более вероятно будет оказывать влияние на транскрипцию по прямой цепи, нежели транскрипция другого гена по той же цепи. Эта ситуация схожа с тем, что наблюдается при геномном импринтинге (рис. 5, в): в большинстве случаев белок-кодирующие импринтированные гены имеют в своем составе последовательности различных нкРНК, расположенных на комплементарной цепи.

Аналогично геномному импринтингу, одна из ключевых ролей при моноаллельной транскрипции принадлежит метилированию ДНК промоторных участков (рис. 5, г) [63–65]. На примере моноаллельно экспрессирующегося в В-клетках гена *Col6a5* показано, что обработка клеток деметилирующим агентом 5-азациитидином приводит к реактивации второго аллеля этого гена [64]. Многие гены с моноаллельной экспрессией имеют средний уровень метилирования, соответствующий наличию метилированного и неметилированного аллелей [63–65]. Однако остается неизвестным, является ли метилирование промоторов причиной или следствием моноаллельной экспрессии. Несмотря на корреляцию между метилированием ДНК, импринтингом и моноаллельной

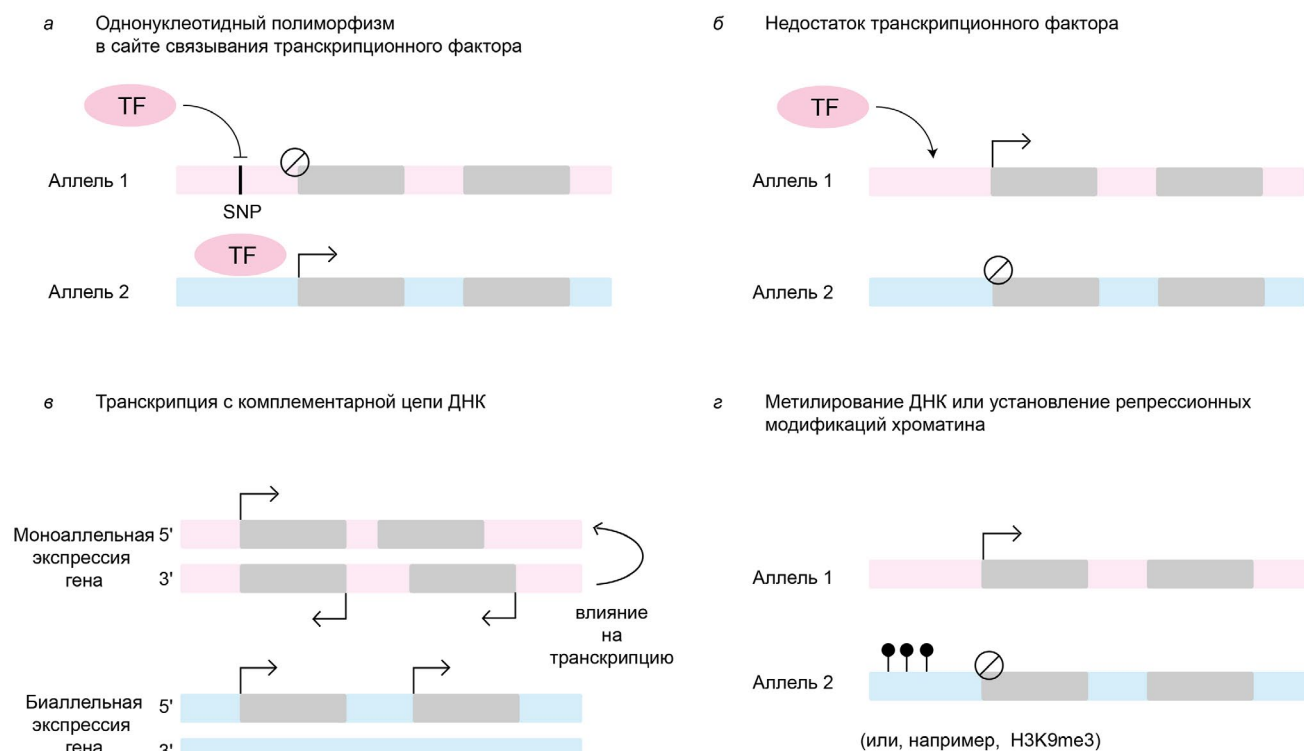


Рис. 5. Факторы, играющие роль в регуляции моноаллельной транскрипции. *а* – Наличие однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в сайтах связывания транскрипционных факторов. *б* – Недостаток транскрипционного фактора для связывания с обоими аллелями. *в* – Транскрипция с комплементарной цепи, идущая в противоположном направлении. *г* – Метилирование ДНК (черные закрашенные круги) или наличие гистоновых модификаций H3K9me3, H3K27me3 промоторного участка. TF – транскрипционный фактор; SNP – однонуклеотидный полиморфизм

экспрессией, были найдены гены с моноаллельной экспрессией, для которых метилирование могло быть как высоким в промоторной области, так и низким независимо от активности аллеля [65, 66]. Таким образом, метилирование ДНК является одним из регуляторных механизмов моноаллельной экспрессии, но не для всех генов. Иная картина наблюдается для энхансеров: для них характерно неметилированное состояние независимо от того, на каком аллеле он расположен: на активном или неактивном [67].

Еще одним из факторов, коррелирующим с моноаллельной экспрессией, являются интроны. Так, у нематод было показано, что наличие интрона в 5'-области гена препятствует возникновению моноаллельной транскрипции. В то время как полное отсутствие интронов или наличие их в 3'-области является маркером моноаллельной транскрипции [68]. Однако пока мы не можем ответить на вопрос, является ли отсутствие интронов маркером селекции генов с моноаллельной экспрессией или имеет регуляторную роль, поскольку эксперименты по удалению интронов в гене *MTL-2* у нематод не привели к их моноаллельной экспрессии [68]. Что касается роли интронов в регуляции моноаллельной экспрессии у человека, то среди

генов со сдвигом биаллельной транскрипции действительно широко представлены гены без интронов, однако это не является правилом. Поэтому этот вопрос остается открытым.

ПРОБЛЕМЫ ПРИ АНАЛИЗЕ МОНОАЛЛЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ

В основе анализа моноаллельной экспрессии лежит возможность разделять, с какого из аллелей идет транскрипция. Поэтому главным инструментом для исследования как геномного импринтинга, так и случайной моноаллельной экспрессии является наличие однонуклеотидных полиморфизмов в транскрибируемой области гена. Перспективным методом анализа является введение в разные аллели для исследуемого гена маркеров, позволяющее проводить разделение аллелей. Например, это могут быть баркоды или последовательности, кодирующие различные флуоресцентные белки. Это позволит определить вклад каждого из аллелей в транскрипцию с помощью секвенирования и флуоресцентного анализа соответственно [68]. Работа на клетках человека дает преимущество при наличии информации о генотипе родителей,

в то время как для мышиных моделей возникают дополнительные трудности. При исследовании моноаллельной экспрессии у мышей проводят скрещивание разных линий для создания пула гетерозиготных одонуклеотидных полиморфизмов в геноме. Основным недостатком данного подхода является аллельный дисбаланс, вызванный генотипической изменчивостью, возникающей из-за скрещиваний разных линий животных, который необходимо учитывать при анализе за счет дополнительных контрольных скрещиваний [16].

Другой трудностью анализа сдвига биаллельной транскрипции и моноаллельной экспрессии является выбор критерия, при котором мы можем говорить о статистической значимости дисбаланса аллелей. Эта проблема связана с многочисленными техническими артефактами, которые возникают при пробоподготовке и секвенировании, что приводит к необходимости проводить не только биологические, но и технические повторы. Этот вопрос особенно актуален при одноклеточном анализе популяции клеток [69]. Для уменьшения количества технических повторов было предложено при пробоподготовке использовать РНК других организмов, например, при анализе моноаллельной экспрессии у мыши или человека при подготовке библиотек добавлять РНК из *Caenorhabditis elegans* [70].

В последнее время стал широко применяться одноклеточный анализ транскриптома для анализа моноаллельной экспрессии, который показал, что в клетках широко представлена динамическая моноаллельная экспрессия, которая может меняться после деления клетки [57, 71]. Необходимо отметить, что в основе этого явления может лежать сам механизм транскрипции [72]. Процесс синтеза мРНК является прерывистым, поэтому при одноклеточном анализе необходимо учитывать возможность синтеза в текущий момент времени с одного аллеля, а в другой момент времени – с обоих или с другого аллелей [73].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря современным методам секвенирования мы можем говорить не просто о геномном импринтинге, а, скорее, об импринтоме, наряду с транскриптомом и метилом, который устанавливается в эмбриогенезе и может изменяться по мере роста и развития организма. Это позволяет рассматривать такие процессы, как обучение, формирование памяти с точки зрения пластичности импринтома. Тем не менее наиболее исследованным остается процесс установления импринтинга при эмбриогенезе и формировании плаценты, установлена роль первичной последовательно-

сти локусов, регулирующих импринтинг, а также определены ключевые факторы, позволяющие поддерживать эпигенетические модификации на импринтированных участках. Однако механизмы пластичности импринтинга остаются нераскрытыми. Их исследование необходимо в первую очередь для понимания процессов, связанных с обучением и формированием памяти. Одним из перспективных направлений исследования является изучение метил-ДНК-связывающих белков как регуляторов импринтома в процессе формирования нервной системы и при обучении. Эти белки могут не только выступать в роли интерпретаторов метилирования ДНК, но и в качестве факторов, участвующих в его регуляции [39, 49]. Кроме того, основной фенотип при удалении многих метил-ДНК-связывающих белков ассоциирован с поведенческими отклонениями, что позволяет рассматривать их в роли регуляторов пластичности импринтома.

Пластичность импринтома необходимо учитывать при работе с индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (ИПСК). ИПСК являются одними из перспективных инструментов в регенеративной медицине. Будучи полученными из соматических клеток, ИПСК могут быть дифференцированы в любые клетки человека. Основными проблемами применения ИПСК в терапии являются накопление генетических мутаций и возникновение эпимутаций, которые происходят преимущественно при репрограммировании соматических клеток и дальнейшем культивировании клеток [74, 75]. В процессе репрограммирования в клетках происходит переключение эпигенетического профиля с соматического на плюрипотентный, что может сопровождаться появлением эпимутаций, т.е. появлением наследуемых изменений в эпигенетическом профиле. В первую очередь это касается инактивации X-хромосомы и импринтируемых генов.

Длительное культивирование ИПСК с XX-генотипом приводит к частичной реактивации инактивированной X-хромосомы, которую называют эрозированной X-хромосомой. Такие клетки имеют сниженную способность к дифференцировке, поскольку эрозированная X-хромосома не может быть инактивирована полностью в дальнейшем [76, 77]. Поэтому возникает проблема выбора наиболее оптимальных условий при получении ИПСК: долгое культивирование ИПСК, с одной стороны, делает их более похожими на эмбриональные стволовые клетки, а с другой стороны, приводит к образованию эрозированной X-хромосомы; более короткое культивирование приводит к формированию клеток с недостаточным уровнем плюрипотентности, но с инактивированной X-хромосомой. Заметим, что эта проблема не касается ИПСК с генотипом XY [78]. Для ИПСК также характерно

нарушение импринтинга для целого ряда генов: *H19*, *IGF2*, *MEG3*, *PEG3*, *PEG10*, *MEST*, которые начинают экспрессироваться с обоих аллелей [79]. Отметим, что культивирование *in vitro* мышинных ооцитов и в дальнейшем эмбрионов ассоциировано с различными нарушениями импринтинга [80]. Поэтому применение ИПСК в исследовательских целях, для скрининга лекарственных препаратов и особенно в рамках заместительной клеточной терапии обуславливает необходимость контроля корректного состояния моноаллельной экспрессии генов в них. В дальнейшем необходимы новые исследования, направленные на оптимизацию условий культивирования ИПСК, которые позволили бы предотвратить нарушения как в импринтинге, так и в X-инактивации.

Работы последних лет об аутосомных генах с моноаллельной экспрессией показали, что моноаллельная экспрессия распространена не только среди генов, вовлеченных в иммунную или хемисенсорную систему, но характерна для целого ряда аутосомных генов и является динамичной. Среди генов, подверженных моноаллельной экспрессии, были найдены гены поверхностных маркеров, ионных каналов, факторов, вовлеченных в клеточную адгезию, развитие нейродегенеративных заболеваний, в клеточный ответ на различные стрессовые воздействия и онкологическую трансформацию клеток. Этот список факторов позволяет выделить две ключевые возможности: 1) увеличение разнообразия белков за счет экспрессии различных аллелей и проведение более тонкой регуляцию транскрипции; 2) оказание

влияния на развитие патологических состояний в случае гетерозиготных мутаций. Особое внимание уделяется второй возможности, когда моноаллельная экспрессия влияет на прогрессирование заболевания. В связи с этим моноаллельную экспрессию можно рассматривать в качестве терапевтической мишени. Интерес к терапии за счет влияния на моноаллельную экспрессию можно объяснить еще с той точки зрения, что нет необходимости вносить изменения в геном, – требуется либо реактивировать второй аллель, либо произвести переключение с мутантного аллеля на интактный.

Вклад авторов. Я.В.Л., С.В.Ж. – написание и редактирование манускрипта.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-30026-Р; геномный импринтинг) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание № 122041100149-7; случайная моноаллельная экспрессия).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

Дополнительные материалы. Приложение к статье опубликовано на сайте журнала «Биохимия» (<https://biochemistrymoscow.com>).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Crouse, H. V. (1960) The controlling element in sex chromosome behavior in sciara, *Genetics*, **45**, 1429-1443, doi: 10.1093/genetics/45.10.1429.
2. Bai, F., and Settles, A. M. (2014) Imprinting in plants as a mechanism to generate seed phenotypic diversity, *Front. Plant Sci.*, **5**, 780, doi: 10.3389/fpls.2014.00780.
3. Patten, M. M., Ross, L., Curley, J. P., Queller, D. C., Bonduriansky, R., and Wolf, J. B. (2014) The evolution of genomic imprinting: theories, predictions and empirical tests, *Heredity*, **113**, 119-128, doi: 10.1038/hdy.2014.29.
4. Constância, M., Angiolini, E., Sandovici, I., Smith, P., Smith, R., Kelsey, G., Dean, W., Ferguson-Smith, A., Sibley, C. P., Reik, W., and Fowden, A. (2005) Adaptation of nutrient supply to fetal demand in the mouse involves interaction between the *Igf2* gene and placental transporter systems, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 19219-19224, doi: 10.1073/pnas.0504468103.
5. Wang, T., Yang, L. J., Wu, M., and Ma, Q. (2021) The role of long non-coding RNAs in human imprinting disorders: prospective therapeutic targets, *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 730014, doi: 10.3389/fcell.2021.730014.
6. Alazami, A. M., Awad, S. M., Coskun, S., Al-Hassan, S., Hijazi, H., and Abdulwahab, F. M. (2015) TLE6 mutation causes the earliest known human embryonic lethality, *Genome Biol.*, **16**, 240, doi: 10.1186/s13059-015-0792-0.
7. Eggermann, T., Monk, D., de Nanclares, G. P., Kagami, M., Giabicani, E., and Riccio, A. (2023) Imprinting disorders, *Nat. Rev. Dis. Primers*, **9**, 33, doi: 10.1038/s41572-023-00443-4.
8. Borrás, C., Monleón, D., López-Grueso, R., Gambini, J., Orlando, L., Pallardó, F. V., Santos, E., Viña, J., and Font de Mora, J. (2011) RasGrf1 deficiency delays aging in mice, *Aging*, **3**, 262-276, doi: 10.18632/aging.100279.
9. Kawahara, M., Wu, Q., Takahashi, N., Morita, S., Yamada, K., Ito, M., et al. (2007) High-frequency generation of viable mice from engineered bi-maternal embryos, *Nat. Biotechnol.*, **25**, 1045-1050, doi: 10.1038/nbt1331.

10. Li, Z.-K., Wang, L.-Y., Wang, L.-B., Feng, G.-H., Yuan, X.-W., Liu, C., Xu, K., Li, Y.-H., Wan, H.-F., Zhang, Y., Li, Y.-F., Li, X., Li, W., Zhou, Q., and Hu, B.-Y. (2018) Generation of bimaternal and bipaternal mice from hypomethylated haploid ESCs with imprinting region deletions, *Cell Stem Cell*, **23**, 665-676, doi: 10.1016/j.stem.2018.09.004.
11. Monk, D. (2015) Genomic imprinting in the human placenta, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **213**, S152-S162, doi: 10.1016/j.ajog.2015.06.032.
12. Ho-Shing, O., and Dulac, C. (2019) Influences of genomic imprinting on brain function and behavior, *Curr. Opin. Behav. Sci.*, **25**, 66-76, doi: 10.1016/j.cobeha.2018.08.008.
13. Isles, A. R. (2022) The contribution of imprinted genes to neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders, *Transl. Psychiatry*, **12**, 210, doi: 10.1038/s41398-022-01972-4.
14. Bonthuis, P. J., Huang, W.-C., Stacher Hörndli, C. N., Ferris, E., Cheng, T., and Gregg, C. (2015) Noncanonical genomic imprinting effects in offspring, *Cell Rep.*, **12**, 979-991, doi: 10.1016/j.celrep.2015.07.017.
15. Perez, J. D., Rubinstein, N. D., Fernandez, D. E., Santoro, S. W., Needleman, L. A., Ho-Shing, O., Choi, J. J., Zirlinger, M., Chen, S.-K., Liu, J. S., and Dulac, C. (2015) Quantitative and functional interrogation of parent-of-origin allelic expression biases in the brain, *Elife*, **4**, e07860, doi: 10.7554/eLife.07860.
16. Pinter, S. F., Colognori, D., Beliveau, B. J., Sadreyev, R. I., Payer, B., Yildirim, E., Wu, C.-T., and Lee, J. T. (2015) Allelic imbalance is a prevalent and tissue-specific feature of the mouse transcriptome, *Genetics*, **200**, 537-549, doi: 10.1534/genetics.115.176263.
17. Sazhenova, E. A., and Lebedev, I. N. (2021) Evolutionary aspects of genomic imprinting [in Russian], *Mol. Biol.*, **55**, 3-19, doi: 10.31857/S0026898420060105.
18. Goday, C., and Ruiz, M. F. (2002) Differential acetylation of histones H3 and H4 in paternal and maternal germline chromosomes during development of sciarid flies, *J. Cell. Sci.*, **115**, 4765-4775, doi: 10.1242/jcs.00172.
19. Matsuura, K. (2020) Genomic imprinting and evolution of insect societies, *Popul. Ecol.*, **62**, 38-52, doi: 10.1002/1438-390x.12026.
20. Luo, M., Taylor, J. M., Spriggs, A., Zhang, H., Wu, X., and Russell, S. (2011) A genome-wide survey of imprinted genes in rice seeds reveals imprinting primarily occurs in the endosperm, *PLoS Genet.*, **7**, e1002125, doi: 10.1371/journal.pgen.1002125.
21. Wolff, P., Weinhofer, I., Seguin, J., Roszak, P., Beisel, C., and Donoghue, M. T. (2011) High-resolution analysis of parent-of-origin allelic expression in the Arabidopsis endosperm, *PLoS Genet.*, **7**, e1002126, doi: 10.1371/journal.pgen.1002126.
22. Ogunwuyi, O., Upadhyay, A., Adesina, S. K., Puri, R., Foreman, T. M., and Hauser, B. R. (2016) Genetic imprinting: comparative analysis between plants and mammals, *Plant Tissue Cult. Biotechnol.*, **26**, 267-284, doi: 10.3329/ptcb.v26i2.30576.
23. Xiao, W., Gehring, M., Choi, Y., Margossian, L., Pu, H., and Harada, J. J. (2003) Imprinting of the MEA Polycomb gene is controlled by antagonism between MET1 methyltransferase and DME glycosylase, *Dev. Cell*, **5**, 891-901, doi: 10.1016/s1534-5807(03)00361-7.
24. Kinoshita, T., Miura, A., Choi, Y., Kinoshita, Y., Cao, X., and Jacobsen, S. E. (2004) One-way control of FWA imprinting in Arabidopsis endosperm by DNA methylation, *Science*, **303**, 521-523, doi: 10.1126/science.1089835.
25. Ferguson-Smith, A. C. (2011) Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm, *Nat Rev Genet.*, **12**, 565-575, doi: 10.1038/nrg3032.
26. Andergassen, D., Dotter, C. P., Wenzel, D., Sigl, V., Bammer, P. C., Muckenhuber, M., Mayer, D., Kulinski, T. M., Theussl, H.-C., Penninger, J. M., Bock, C., Barlow, D. P., Pauler, F. M., and Hudson, Q. J. (2017) Mapping the mouse Allelome reveals tissue-specific regulation of allelic expression, *Elife*, **6**, e25125, doi: 10.7554/eLife.25125.
27. Zhang, Y., Guan, D.-G., Yang, J.-H., Shao, P., Zhou, H., and Qu, L.-H. (2010) ncRNAimprint: a comprehensive database of mammalian imprinted noncoding RNAs, *RNA*, **16**, 1889-1901, doi: 10.1261/rna.2226910.
28. Doe, C. M., Relkovic, D., Garfield, A. S., Dalley, J. W., Theobald, D. E. H., Humby, T., Wilkinson, L. S., and Isles, A. R. (2009) Loss of the imprinted snoRNA mbii-52 leads to increased 5htr2c pre-RNA editing and altered 5HT2CR-mediated behaviour, *Hum. Mol. Genet.*, **18**, 2140-2148, doi: 10.1093/hmg/ddp137.
29. Edwards, C. A., Mungall, A. J., Matthews, L., Ryder, E., Gray, D. J., Pask, A. J., Shaw, G., Graves, J. A. M., and Rogers, J., SAVOIR Consortium, Dunham, I., Renfree, M. B., Ferguson-Smith, A. C. (2008) The evolution of the DLK1-DIO3 imprinted domain in mammals, *PLoS Biol.*, **6**, e135, doi: 10.1371/journal.pbio.0060135.
30. Hanna, C. W., and Kelsey, G. (2017) Genomic imprinting beyond DNA methylation: a role for maternal histones, *Genome Biol.*, **18**, 177, doi: 10.1186/s13059-017-1317-9.
31. Umlauf, D., Goto, Y., Cao, R., Cerqueira, F., Wagschal, A., Zhang, Y., and Feil, R. (2004) Imprinting along the Kcnq1 domain on mouse chromosome 7 involves repressive histone methylation and recruitment of Polycomb group complexes, *Nat. Genet.*, **36**, 1296-1300, doi: 10.1038/ng1467.
32. Mager, J., Montgomery, N. D., de Villena, F. P.-M., and Magnuson, T. (2003) Genome imprinting regulated by the mouse Polycomb group protein Eed, *Nat. Genet.*, **33**, 502-507, doi: 10.1038/ng1125.

33. Yang, H., Bai, D., Li, Y., Yu, Z., Wang, C., Sheng, Y., Liu, W., Gao, S., and Zhang, Y. (2022) Allele-specific H3K9me3 and DNA methylation co-marked CpG-rich regions serve as potential imprinting control regions in pre-implantation embryo, *Nat. Cell Biol.*, **24**, 783-792, doi: 10.1038/s41556-022-00900-4.
34. Hao, N., Palmer, A. C., Dodd, I. B., and Shearwin, K. E. (2017) Directing traffic on DNA-How transcription factors relieve or induce transcriptional interference, *Transcription*, **8**, 120-125, doi: 10.1080/21541264.2017.1285851.
35. Latos, P. A., Pauler, F. M., Koerner, M. V., Şenergin, H. B., Hudson, Q. J., Stocsits, R. R., Allhoff, W., Stricker, S. H., Klement, R. M., Warczok, K. E., Aumayr, K., Pasierbek, P., and Barlow, D. P. (2012) Airn transcriptional overlap, but not its lncRNA products, induces imprinted Igf2r silencing, *Science*, **338**, 1469-1472, doi: 10.1126/science.1228110.
36. Schertzer, M. D., Bracer, K. C. A., Starmer, J., Cherney, R. E., Lee, D. M., Salazar, G., Justice, M., Bischoff, S. R., Cowley, D. O., Ariel, P., Zylka, M. J., Downen, J. M., Magnuson, T., and Calabrese, J. M. (2019) lncRNA-induced spread of polycomb controlled by genome architecture, RNA abundance, and CpG island DNA, *Mol. Cell*, **75**, 523-537, doi: 10.1016/j.molcel.2019.05.028.
37. Nagano, T., Mitchell, J. A., Sanz, L. A., Pauler, F. M., Ferguson-Smith, A. C., Feil, R., and Fraser, P. (2008) The Air noncoding RNA epigenetically silences transcription by targeting G9a to chromatin, *Science*, **322**, 1717-1720, doi: 10.1126/science.1163802.
38. Kinoshita, T., Yadegari, R., Harada, J. J., Goldberg, R. B., and Fischer, R. L. (1999) Imprinting of the MEDEA polycomb gene in the Arabidopsis endosperm, *Plant Cell*, **11**, 1945-1952, doi: 10.1105/tpc.11.10.1945.
39. Kaplun, D. S., Kaluzhny, D. N., Prokhortchouk, E. B., and Zhenilo, S. V. (2022) DNA methylation: genomewide distribution, regulatory mechanism and therapy target, *Acta Naturae*, **14**, 4-19, doi: 10.32607/actanaturae.11822.
40. Butz, S., Schmolka, N., Karemaker, I. D., Villaseñor, R., Schwarz, I., Domcke, S., Uijttewaal, E. C. H., Jude, J., Lienert, F., Krebs, A. R., de Wagenaar, N. P., Bao, X., Zuber, J., Elling, U., Schübeler, D., and Baubec, T. (2022) DNA sequence and chromatin modifiers cooperate to confer epigenetic bistability at imprinting control regions, *Nat. Genet.*, **54**, 1702-1710, doi: 10.1038/s41588-022-01210-z.
41. Krebs, A. R., Dessus-Babus, S., Burger, L., and Schübeler, D. (2014) High-throughput engineering of a mammalian genome reveals building principles of methylation states at CG rich regions, *Elife*, **3**, e04094, doi: 10.7554/eLife.04094.
42. Matsuzaki, H., Okamura, E., Kuramochi, D., Ushiki, A., Hirakawa, K., Fukamizu, A., and Tanimoto, K. (2018) Synthetic DNA fragments bearing ICR cis elements become differentially methylated and recapitulate genomic imprinting in transgenic mice, *Epigenetics Chromatin*, **11**, 36, doi: 10.1186/s13072-018-0207-z.
43. Taylor, D. H., McLean, C. M., Wu, W. L., Wang, A. B., and Soloway, P. D. (2016) Imprinted DNA methylation reconstituted at a non-imprinted locus, *Epigenetics Chromatin*, **9**, 41, doi: 10.1186/s13072-016-0094-0.
44. Anvar, Z., Cammisa, M., Riso, V., Baglivo, I., Kukreja, H., Sparago, A., Girardot, M., Lad, S., De Feis, I., Cerrato, F., et al. (2016) ZFP57 recognizes multiple and closely spaced sequence motif variants to maintain repressive epigenetic marks in mouse embryonic stem cells, *Nucleic Acids Res.*, **44**, 1118-1132, doi: 10.1093/nar/gkv1059.
45. Zuo, X., Sheng, J., Lau, H.-T., McDonald, C. M., Andrade, M., Cullen, D. E., Bell, F. T., Iacovino, M., Kyba, M., Xu, G., and Li, X. (2012) Zinc finger protein ZFP57 requires its co-factor to recruit DNA methyltransferases and maintains DNA methylation imprint in embryonic stem cells via its transcriptional repression domain, *J. Biol. Chem.*, **287**, 2107-2118, doi: 10.1074/jbc.M111.322644.
46. Imbeault, M., Helleboid, P.-Y., and Trono, D. (2017) KRAB zinc-finger proteins contribute to the evolution of gene regulatory networks, *Nature*, **543**, 550-554, doi: 10.1038/nature21683.
47. Monteagudo-Sánchez, A., Mora, J. R. H., Simon, C., Burton, A., Tenorio, J., Lapunzina, P., Clark, S., Esteller, M., Kelsey, G., López-Siguero, J. P., et al. (2020) The role of ZFP57 and additional KRAB-zinc finger proteins in the maintenance of human imprinted methylation and multi-locus imprinting disturbances, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 11394-11407, doi: 10.1093/nar/gkaa837.
48. Menafrá, R., and Stunnenberg, H. G. (2014) MBD2 and MBD3: elusive functions and mechanisms, *Front. Genet.*, **5**, 428, doi: 10.3389/fgene.2014.00428.
49. Kaplun, D. S., Fok, R. E., Korostina, V. S., Prokhortchouk, E. B., and Zhenilo, S. V. (2019) Kaiso gene knockout promotes somatic cell reprogramming, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 283-290, doi: 10.1134/S0006297919030106.
50. Barrett, C. W., Smith, J. J., Lu, L. C., Markham, N., Stengel, K. R., and Short, S. P. (2012) Kaiso directs the transcriptional corepressor MTG16 to the Kaiso binding site in target promoters, *PLoS One*, **7**, e51205, doi: 10.1371/journal.pone.0051205.
51. Michalak, P. (2014) Evidence for maternal imprinting of 45S ribosomal RNA genes in *Xenopus* hybrids, *Dev. Genes Evol.*, **224**, 125-128, doi: 10.1007/s00427-014-0464-1.
52. Ruzov, A., Dunican, D. S., Prokhortchouk, A., Pennings, S., Stancheva, I., Prokhortchouk, E., and Meehan, R. R. (2004) Kaiso is a genome-wide repressor of transcription that is essential for amphibian development, *Development*, **131**, 6185-6194, doi: 10.1242/dev.01549.

53. Lobanova, Y., Filonova, G., Kaplun, D., Zhigalova, N., Prokhortchouk, E., and Zhenilo, S. (2023) TRIM28 regulates transcriptional activity of methyl-DNA binding protein Kaiso by SUMOylation, *Biochimie*, **206**, 73-80, doi: 10.1016/j.biochi.2022.10.006.
54. Kulikov, A. V., Korostina, V. S., Kulikova, E. A., Fursenko, D. V., Akulov, A. E., Moshkin, M. P., and Prokhortchouk, E. B. (2016) Knockout Zbtb33 gene results in an increased locomotion, exploration and pre-pulse inhibition in mice, *Behav. Brain Res.*, **297**, 76-83, doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.003.
55. Kravitz, S. N., Ferris, E., Love, M. I., Thomas, A., Quinlan, A. R., and Gregg, C. (2023) Random allelic expression in the adult human body, *Cell Rep.*, **42**, 111945, doi: 10.1016/j.celrep.2022.111945.
56. Phung, T. N., Olney, K. C., Pinto, B. J., Silasi, M., Perley, L., and O'Bryan, J. (2022) X chromosome inactivation in the human placenta is patchy and distinct from adult tissues, *HGG Adv.*, **3**, 100-121, doi: 10.1016/j.xhgg.2022.100121.
57. Deng, Q., Ramsköld, D., Reinius, B., and Sandberg, R. (2014) Single-cell RNA-seq reveals dynamic, random monoallelic gene expression in mammalian cells, *Science*, **343**, 193-196, doi: 10.1126/science.1245316.
58. Chess, A. (2016) Monoallelic gene expression in mammals, *Annu. Rev. Genet.*, **50**, 317-327, doi: 10.1146/annurev-genet-120215-035120.
59. Gimelbrant, A., Hutchinson, J. N., Thompson, B. R., and Chess, A. (2007) Widespread monoallelic expression on human autosomes, *Science*, **318**, 1136-1140, doi: 10.1126/science.1148910.
60. Walker, E. J., Zhang, C., Castelo-Branco, P., Hawkins, C., Wilson, W., Zhukova, N., Alon, N., Novokmet, A., Baskin, B., Ray, P., Knobbe, C., Dirks, P., Taylor, M. D., Croul, S., Malkin, D., and Tabori, U. (2012) Monoallelic expression determines oncogenic progression and outcome in benign and malignant brain tumors, *Cancer Res.*, **72**, 636-644, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2266.
61. Huang, W.-C., Ferris, E., Cheng, T., Hörndli, C. S., Gleason, K., Tamminga, C., Wagner, J. D., Boucher, K. M., Christian, J. L., and Gregg, C. (2017) Diverse non-genetic, allele-specific expression effects shape genetic architecture at the cellular level in the mammalian brain, *Neuron*, **93**, 1094-1109.e7, doi: 10.1016/j.neuron.2017.01.033.
62. Zhenilo, S., Khrameeva, E., Tsygankova, S., Zhigalova, N., Mazur, A., and Prokhortchouk, E. (2015) Individual genome sequencing identified a novel enhancer element in exon 7 of the CSFR1 gene by shift of expressed allele ratios, *Gene*, **566**, 223-228, doi: 10.1016/j.gene.2015.04.053.
63. Rv, P., Sundaresh, A., Karunyaa, M., Arun, A., and Gayen, S. (2021) Autosomal clonal monoallelic expression: natural or artifactual? *Trends Genet.*, **37**, 206-211, doi: 10.1016/j.tig.2020.10.011.
64. Gupta, S., Lafontaine, D. L., Vigneau, S., Vinogradova, S., Mendelevich, A., Igarashi, K. J., Bortvin, A., Alves-Pereira, C. F., Clement, K., Pinello, L., Gnirke, A., Long, H., Gusev, A., Nag, A., and Gimelbrant, A. A. (2020) DNA methylation is a key mechanism for maintaining monoallelic expression on autosomes, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.02.20.954834.
65. Gendrel, A.-V., Attia, M., Chen, C.-J., Diabangouaya, P., Servant, N., Barillot, E., and Heard, E. (2014) Developmental dynamics and disease potential of random monoallelic gene expression, *Dev. Cell*, **28**, 366-380, doi: 10.1016/j.devcel.2014.01.016.
66. Eckersley-Maslin, M. A., Thybert, D., Bergmann, J. H., Marioni, J. C., Flicek, P., and Spector, D. L. (2014) Random monoallelic gene expression increases upon embryonic stem cell differentiation, *Dev. Cell*, **28**, 351-365, doi: 10.1016/j.devcel.2014.01.017.
67. Kissiov, D. U., Ethell, A., Chen, S., Wolf, N. K., Zhang, C., Dang, S. M., Jo, Y., Madsen, K. N., Paranjpe, I., Lee, A. Y., Chim, B., Muljo, S. A., and Raulet, D. H. (2022) Binary outcomes of enhancer activity underlie stable random monoallelic expression, *Elife*, **11**, e74204, doi: 10.7554/eLife.74204.
68. Sands, B., Yun, S., and Mendenhall, A. R. (2021) Introns control stochastic allele expression bias, *Nat. Commun.*, **12**, 6527, doi: 10.1038/s41467-021-26798-4.
69. Kim, J. K., Kolodziejczyk, A. A., Ilicic, T., Teichmann, S. A., and Marioni, J. C. (2015) Characterizing noise structure in single-cell RNA-seq distinguishes genuine from technical stochastic allelic expression, *Nat. Commun.*, **6**, 8687, doi: 10.1038/ncomms9687.
70. Mendelevich, A., Gupta, S., Pakharev, A., Teodosiadis, A., Mironov, A. A., and Gimelbrant, A. A. (2023) Foreign RNA spike-ins enable accurate allele-specific expression analysis at scale, *Bioinformatics*, **39**, i431-i439, doi: 10.1093/bioinformatics/btad254.
71. Reinius, B., Mold, J. E., Ramsköld, D., Deng, Q., Johnsson, P., Michaëlsson, J., Frisén, J., and Sandberg, R. (2016) Analysis of allelic expression patterns in clonal somatic cells by single-cell RNA-seq, *Nat. Genet.*, **48**, 1430-1435, doi: 10.1038/ng.3678.
72. Naik, H. C., Hari, K., Chandel, D., Mandal, S., Jolly, M. K., and Gayen, S. (2021) Semicoordinated allelic-bursting shape dynamic random monoallelic expression in pregastrulation embryos, *iScience*, **24**, 102954, doi: 10.1016/j.isci.2021.102954.
73. Tunnacliffe, E., and Chubb, J. R. (2020) What is a transcriptional burst? *Trends Genet.*, **36**, 288-297, doi: 10.1016/j.tig.2020.01.003.

74. Garber, K. (2015) RIKEN suspends first clinical trial involving induced pluripotent stem cells, *Nat. Biotechnol.*, **33**, 890-891, doi: 10.1038/nbt0915-890.
75. Perrera, V., and Martello, G. (2019) How does reprogramming to pluripotency affect genomic imprinting? *Front. Cell Dev. Biol.*, **7**, 76, doi: 10.3389/fcell.2019.00076.
76. Anguera, M. C., Sadreyev, R., Zhang, Z., Szanto, A., Payer, B., and Sheridan, S. D. (2012) Molecular signatures of human induced pluripotent stem cells highlight sex differences and cancer genes, *Cell Stem Cell*, **11**, 75-90, doi: 10.1016/j.stem.2012.03.008.
77. Patel, S., Bonora, G., Sahakyan, A., Kim, R., Chronis, C., and Langerman, J. (2017) Human embryonic stem cells do not change their x inactivation status during differentiation, *Cell Rep.*, **18**, 54-67, doi: 10.1016/j.celrep.2016.11.054.
78. Arez, M., Eckersley-Maslin, M., Klobučar, T., von Gilsa Lopes, J., Krueger, F., and Mupo, A. (2022) Imprinting fidelity in mouse iPSCs depends on sex of donor cell and medium formulation, *Nat. Commun.*, **13**, 5432, doi: 10.1038/s41467-022-33013-5.
79. Bar, S., Schachter, M., Eldar-Geva, T., and Benvenisty, N. (2017) Large-scale analysis of loss of imprinting in human pluripotent stem cells, *Cell Rep.*, **19**, 957-968, doi: 10.1016/j.celrep.2017.04.020.
80. Uyar, A., and Seli, E. (2014) The impact of assisted reproductive technologies on genomic imprinting and imprinting disorders, *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, **26**, 210-221, doi: 10.1097/GCO.0000000000000071.

GENOMIC IMPRINTING AND RANDOM MONOALLELIC EXPRESSION

Review

Y. V. Lobanova^{1,2} and S. V. Zhenilo^{1*}

¹ Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology", Russian Academy of Sciences,
119071 Moscow, Russia; e-mail: szhenilo@gmail.com

² Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia

In this review we consider mechanisms of monoallelic expression: genomic imprinting, in which gene transcription depends on the parental origin of the allele, and random monoallelic transcription. We summarize evidence for the regulation of activity in imprinted regions. Particular attention is paid to areas that control imprinting. Factors that may influence the variability of the imprintome are considered. The perspectives behind monoallelic expression studies are also discussed.

Keywords: imprinting, random monoallelic expression, DNA methylation, ZNF57, epigenetics