

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОМЕН ПАРАМУТАЦИИ У РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Обзор

© 2024 Д.А. Куликова^{1,2}, А.В. Беспалова¹, Е.С. Зеленцова¹,
М.Б. Евгеньев¹, С.Ю. Фуников^{1*}

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: sergeifunikov@mail.ru

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва, Россия

Поступила в редакцию 28.03.2024

После доработки 17.06.2024

Принята к публикации 27.06.2024

Феномен парамутации описывает взаимодействие между двумя аллелями, при котором один аллель инициирует наследуемые эпигенетические изменения в другом аллеле, не затрагивая последовательность ДНК. Эпигенетические преобразования вследствие парамутации сопровождаются изменением паттерна метилирования ДНК и/или гистонов, оказывая влияние на экспрессию генов. Исследования парамутации у растений и животных позволили заключить, что короткие некодирующие РНК являются главными эффекторными молекулами, необходимыми для инициации эпигенетического изменения геномных локусов. Благодаря тому, что различные классы коротких некодирующих РНК могут передаваться через поколения, эффект парамутации может наследоваться и сохраняться в популяции. В данном обзоре проведен систематический анализ описанных к настоящему времени примеров парамутации в различных живых системах и выделены общие и различные молекулярно-генетические аспекты парамутации в разных организмах, а также рассмотрена роль этого феномена в эволюции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эпигенетика, менделевское наследование, короткие некодирующие РНК, хроматин, экспрессия генов.

DOI: 10.31857/S0320972524080046 EDN: KEBFAB

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время пристальный интерес ученых вызывает относительно молодая область молекулярной биологии, эпигенетика, исследующая механизмы изменения активности генов, не затрагивающие последовательность ДНК. Долгое время считалось, что наследование признаков происходит только путем передачи генетического материала в поколениях, а условия окружающей среды служат способом тестирования генетических вариантов и их отбора. За последние 20 лет открытие механизмов, в результате которых про-

исходят изменения хроматина в ответ на физиологические и патологические факторы, превратили наши знания об эпигенетике из коллекции любопытных биологических явлений в самостоятельное направление биологических исследований. В области эпигенетики исследуются такие явления, как парамутация, геномный импринтинг, эффект положения, а также подавление экспрессии мобильных генетических элементов (МЭ). Данный обзор посвящен систематическому анализу накопленных сведений о механизмах парамутации, а также сравнению особенностей этого эпигенетического феномена у животных и растений.

Принятые сокращения: дцРНК – двухцепочечная РНК; МЭ – мобильные генетические элементы; нт – нуклеотид; рiРНК – короткие некодирующие РНК, ассоциированные с белком Рiwi; siРНК – короткие интерферирующие РНК; Pol – ДНК-зависимая РНК-полимераза; RdDM – РНК-направленное метилирование ДНК; RdRP – РНК-зависимая РНК-полимераза; TSE – эффект *транс*-сайленсинга.

* Адресат для корреспонденции.

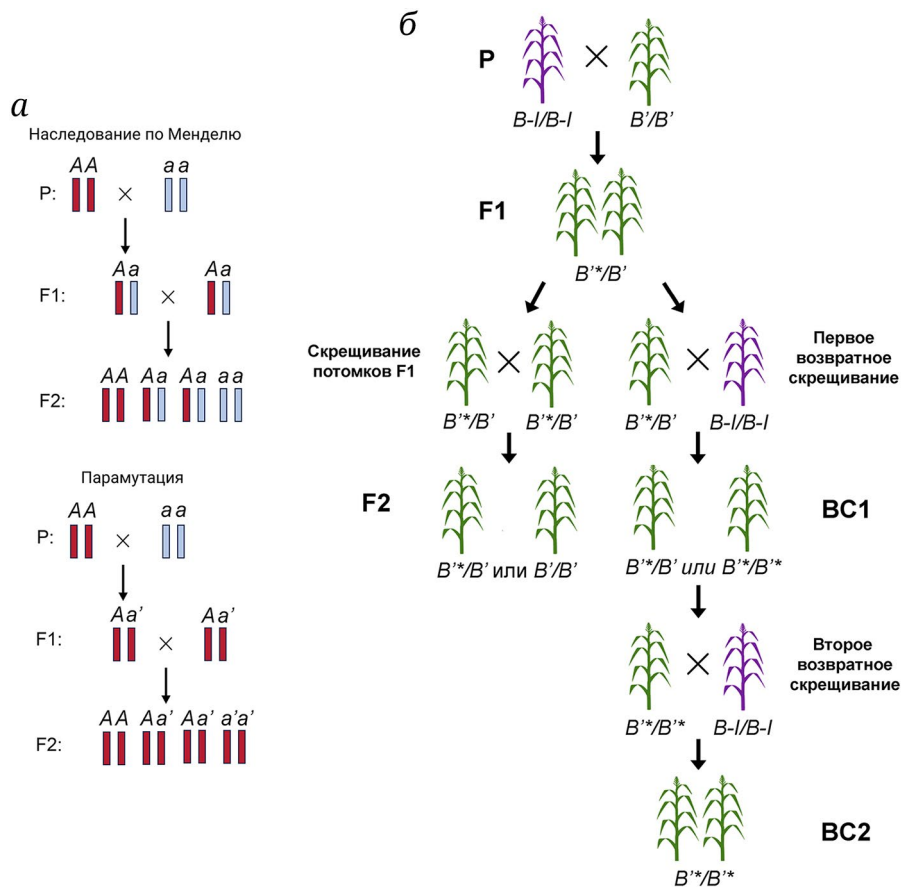


Рис. 1. Сравнение классического наследования признаков по Менделю и при парамутации на примере локуса *b1* у кукурузы. *а* – Классическое расщепление признаков в потомстве гибридов первого и второго поколений в соответствии с первым и вторым законами Менделя (сверху); возникновение в результате парамутации аллеля *a'*, который имеет фенотип «А», при этом фенотип «а» исчезает и больше не проявляется в поколениях (снизу). Красный цвет – фенотип «А», голубой цвет – фенотип «а». *б* – Взаимодействие аллелей *B-I* (фиолетовый фенотип) и *B'* (зеленый фенотип) приводит к формированию аллеля *B** и проявлению только «зеленого фенотипа» в потомстве первого поколения (F1). При дальнейшем скрещивании растений F1 между собой или при проведении возвратного скрещивания с гомозиготным родителем *B-I* все потомство будет также иметь «зеленый фенотип» независимо от генотипа родителей

Термином «парамутация» описывают взаимодействие между двумя аллелями, при котором один из аллелей (парамутагенный аллель) вызывает наследуемые эпигенетические модификации в другом аллеле (парамутабельный аллель) (рис. 1, *а*) [1–4]. Взаимодействие аллелей при парамутации не приводит к изменению последовательности ДНК, поэтому данный процесс приводит к нетипичному наследованию признаков у организмов. Парамутация является одной из форм неменделевского наследования. В этом случае при скрещивании гетерозиготных особей не происходит расщепление признаков, согласно второму закону Менделя, и все потомство обладает фенотипом одного из родителей – носителя парамутагенного аллеля (рис. 1, *а*). Эпигенетическое преобразование аллелей при парамутации приводит к транскрипционному сайленсингу геномных локусов. При этом парамутабельный аллель приобретает свойства парамутагенного

и может самостоятельно инициировать эпигенетическое преобразование гомологичного аллеля в следующих поколениях. Парамутагенный эффект может обладать чрезвычайной стабильностью и сохраняться на протяжении многих поколений, причем парамутированный аллель сохраняет приобретенные свойства даже при отсутствии в геноме исходного парамутагенного аллеля [1–4].

Таким образом, можно выделить три ключевые особенности парамутации: (1) изменение транскрипционной активности локуса не связано с изменением последовательности ДНК и осуществляется с помощью эпигенетических механизмов; (2) транскрипционная активность локуса вследствие парамутации передается следующим поколениям даже при отсутствии исходного парамутагенного аллеля в геноме; (3) геномный локус приобретает свойства исходного парамутагенного аллеля и способен также изменять активность

гомологичных последовательностей в следующих поколениях [1–4].

ПАРАМУТАЦИЯ У РАСТЕНИЙ

Исторически феномен парамутации впервые был открыт у растений. В 1915 г., проводя генетические опыты на садовом горохе *Pisum sativum*, Bateson и Pellew [5] обнаружили растения с уменьшенными листьями и побегами и назвали этот фенотип «rogue». При скрещивании растений с фенотипом «rogue» с растениями дикого типа во всех последующих поколениях проявлялся только фенотип «rogue». Однако в то время это открытие прошло незаметно и долгое время оставалось практически единственным примером неменделевского наследования признаков.

Впервые термин парамутация был предложен в 1950-х гг. Brink [6, 7] при описании взаимодействия аллелей, отвечающих за окраску стеблей, листьев и семян кукурузы. Позже парамутагенные локусы были обнаружены у других растений, например, у декоративного растения Энотера и у томата [8, 9]. Далее, в нашем обзоре парамутация у растений будет подробно рассмотрена у кукурузы, для которой наиболее полно изучены молекулярно-генетические особенности данного эпигенетического феномена.

У кукурузы описано 5 парамутагенных локусов: *r1* (*red1*, *coloured 1*), *b1* (*booster 1*), *pl1* (*purple plant 1*), *p1* (*pericarp color 1*) и локус *lpa1* (*low phytic acid 1*). Гены *r1*, *b1*, *pl1* и *p1* кодируют факторы транскрипции, участвующие в регуляции биосинтеза флавоноидов и антоцианов в растительных тканях, тогда как *lpa1* кодирует белок ZmMRP4 (*multidrug resistance-associated proteins 4*), участвующий в транспорте и запасании фитиновой кислоты в семенах растения [3, 10, 11]. Классический пример парамутации у кукурузы был описан в локусе *b1*, содержащем единственный ген, продукт которого определяет окраску стеблей растений. Для растений, гомозиготных по аллелю *B-I* (*Booster-Intense*), характерна высокая экспрессия гена *b1*, при которой стебли имеют темно-фиолетовую окраску. Другой аллель (*B'*) имеет слабую экспрессию *b1*, и растения, гомозиготные по этому аллелю, имеют окраску стеблей близкую к зеленой вследствие низкого содержания пигмента (рис. 1, б). При скрещивании растений *B-I* (фиолетовый фенотип) и *B'* (зеленый фенотип) все растения первого поколения будут иметь зеленый фенотип. У гетерозиготных растений *B-I/B'* аллель *B-I* преобразуется вследствие парамутации в новый аллель *B''*, который приобретает свойства аллеля *B'*. Новый парамутагенный аллель *B''*, как и исходный аллель *B'*, может приводить

к преобразованию аллеля *B-I* в *B''* в следующих поколениях (рис. 1, б) [12]. Аллель *B'* обладает полной пенетрантностью, а вызываемый им парамутагенный эффект на аллель *B-I* крайне стабилен. Так, на протяжении десятков лет наблюдения не обнаружено ни одного растения с реверсией генотипа к исходному состоянию *B-I* [12, 13].

РНК-направленное метилирование ДНК. В феномене парамутации у растений важную роль играет процесс РНК-направленного метилирования ДНК (от англ. RNA-directed DNA methylation, RdDM) [14]. Путь RdDM уникален для растений и является единственным путем, в ходе которого происходит метилирование ДНК *de novo* [15, 16]. В эволюции растений этот путь сформировался в основном для защиты генома от вирусных патогенов и перемещения МЭ [17]. Наиболее подробно путь RdDM изучен у *Arabidopsis thaliana*, поэтому в дальнейшем путь RdDM будет рассмотрен именно на примере этого растения. Необходимым условием для метилирования ДНК в пути RdDM является синтез коротких интерферирующих РНК (от англ. small interfering RNA, siРНК) из тех же геномных областей, которые впоследствии будут метилированы [18]. Этим он отличается от двух других путей метилирования ДНК у растений, осуществляемых продуктами генов *DDM1* (*Decrease in DNA Methylation 1*) и *DDM2* (*Decrease in DNA Methylation 2*). Эти пути не зависят от активности siРНК и служат для поддержания метилированных областей генома [19].

В зависимости от механизма образования siРНК из более длинных двухцепочечных РНК (дцРНК) предшественников выделяют канонический путь RdDM (осуществляется siРНК длиной 24 нуклеотида (нт.)) и неканонический путь RdDM (осуществляется 21–22-нуклеотидными siРНК) [20]. В обоих случаях в образовании и функции siРНК участвует белок Dicer, а также белки семейства Argonaute (Ago). Процесс образования дцРНК-предшественника является одним из ключевых различий между растениями и большинством животных [20]. У растений активна РНК-зависимая РНК-полимераза (от англ. RNA-dependent RNA Polymerase, RdRP), и образование дцРНК может происходить на матрице одноцепочечной РНК [20]. Ввиду утраты этого фермента в ходе эволюции у большинства животных дцРНК формируется в результате двунаправленной транскрипции геномных локусов или за счет образования шпилечных структур в одноцепочечной РНК с последующим процессингом до дцРНК [21]. Кроме того, ключевые роли в каноническом пути RdDM у растений играют РНК-полимеразы IV и V (Pol IV, Pol V), не встречающиеся у животных [22]. Они являются паралогами консервативной для всех живых организмов РНК-полимеразы II (Pol II)

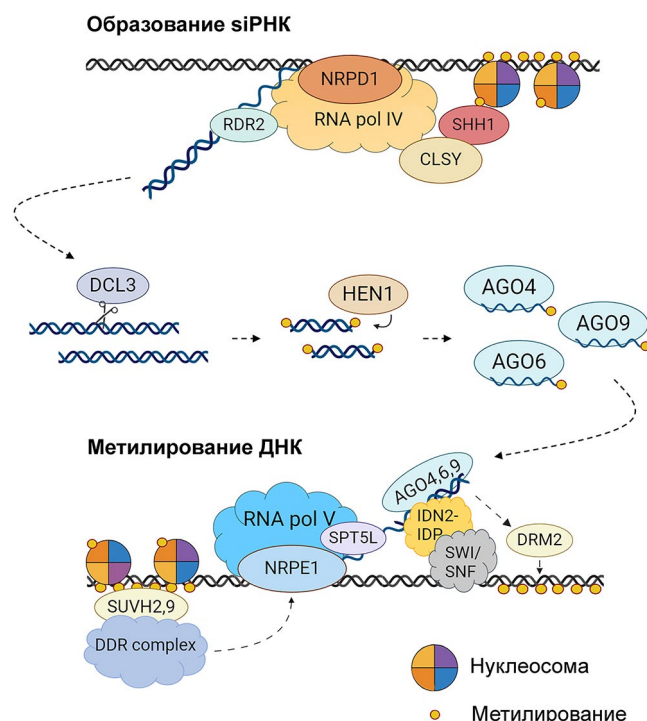


Рис. 2. Канонический путь РНК-направленного метилирования ДНК (путь RdDM) у растений. Канонический путь RdDM начинается с транскрипции предшественников siРНК из геномных локусов с помощью Pol IV. NRPD1 является самой большой субъединицей Pol IV. Привлечение Pol IV в геномные локусы осуществляется с помощью белков SHH1 и CLSY, которые распознают одновременно H3K4me0 (неметилированный лизин) и H3K9me2. Затем на матрице предшественников siРНК происходит синтез второй комплементарной цепи РНК с помощью RdRP, RDR2. Далее, белок DCL3 «нарезает» дцРНК на 24-нуклеотидные siРНК, которые подвергаются метилированию выступающих 3'-концевых рибонуклеотидов РНК-метилтрансферазой HEN1. На заключительном этапе образования гидовая цепь siРНК загружается в один из белков Ago (Ago4, Ago6 или Ago9) и связывается с комплементарной РНК-мишенью. Белок Ago, загруженный siРНК, взаимодействует с NRPE1, самой крупной субъединицей Pol V, и привлекает фактор SPT5L. Затем комплекс Pol V–Ago4–SPT5L привлекает в геномный локус метилтрансферазу DRM2, которая катализирует метилирование ДНК *de novo*. В привлечении Pol V к геномному локусу и его метилировании участвует комплекс DDR, в который входят факторы DRD1, DMS3 и RDM1, а также белки SUVH2 и SUVH9. Комплекс IDN2-IDP, связанный одновременно с ДНК и транскрибируемой РНК, привлекает АТФ-зависимый комплекс ремоделирования хроматина SWI-SNF в локус для облегчения метилирования ДНК

и возникли, по-видимому, в процессе дупликации кодирующего ее гена и специализации функций в пути RdDM [23]. Мутации данных белков не влияют на жизнеспособность и фертильность растений, благодаря чему появилась возможность для изучения процесса РНК-направленного метилирования ДНК [24, 25].

На первом этапе канонического пути RdDM в геномных локусах, которые впоследствии будут метилированы, происходит транскрипция одноцепочечных коротких некодирующих РНК размером 30–45 нт. с помощью Pol IV, которые сразу превращаются в дцРНК с помощью RDR2, РНК-зависимой РНК-полимеразы у *A. thaliana* (рис. 2) [26]. Важно отметить, что привлечение Pol IV в геномные локусы осуществляется с помощью RdDM-ассоциированного белка SHH1 (SAWADEE homeodomain homolog 1), а также белков семейства CLSY (CLASSY) [27]. Комплекс данных белковых факторов распознает одновременно H3K4me0

(неметилированный лизин) и H3K9me2 и рекрутирует Pol IV в эти локусы (рис. 2), в то время как метилирование H3K4 блокирует привлечение Pol IV [28, 29]. Далее, белок DCL3 (Dicer-like 3) «нарезает» дцРНК-предшественники на 23–24-нуклеотидные siРНК, преимущественно имеющие неспаренные нуклеотиды на 3'-концах [30, 31]. На заключительном этапе образования siРНК подвергается метилированию концевых рибонуклеотидов по 2'-ОН группе рибозы в результате действия РНК-метилтрансферазы HEN1 [32].

В неканоническом пути RdDM транскрипция одноцепочечных коротких некодирующих РНК из геномных локусов осуществляется Pol II [33]. Далее, на матрице образованных транскриптов происходит синтез второй цепи РНК с помощью другой RdRP у *A. thaliana* – RDR6 [33]. Затем активность Dicer-подобных белков DCL1, DCL2 и DCL4 приводит к образованию более коротких siРНК длиной 21–22 нт. из дцРНК-предшественников [34].

Далее, оба пути RdDM проходят одинаково. Гидовая цепь siРНК загружается в белок Ago и связывается с комплементарной РНК-мишенью (рис. 2). У растений имеются 10 белков семейства Ago (Ago1–Ago10) [35]. Из них только Ago4, Ago6 и Ago9 участвуют в RdDM-пути [35, 36].

Для реализации второго этапа канонического и неканонического путей RdDM необходима транскрипция инактивируемого геномного локуса с помощью другой РНК-полимеразы (Pol V). Ее активность приводит к образованию более длинных транскриптов (~200 нт.). Pol V служит платформой для привлечения всех остальных белковых факторов, участвующих в метилировании ДНК (рис. 2) [37]. При этом белок Ago4, загруженный siРНК, взаимодействует с NRPE1 – самой крупной субъединицей Pol V [36]. Далее, Ago4 привлекает дополнительный фактор SPT5L (Suppressor of Ty insertion 5 – like), который связывается с Ago4 с помощью WG/GW-богатого домена [38]. Наконец, комплекс Pol V–Ago4–SPT5L привлекает в геномный локус метилтрансферазу DRM2 (domains rearranged methyltransferase 2), которая катализирует метилирование ДНК (рис. 2) [17, 39, 40]. Для рекрутирования Pol V необходим комплекс белков, который называется DDR по первым буквам входящих в него белков: DRD1 (Defective in RNA-directed DNA methylation 1) [41], DMS3 (Defective in Meristem Silencing 3) [42] и RDM1 (RNA-directed DNA methylation 1) [43]. Комплекс DDR необходим для ассоциации Pol V со своими мишенями по всему геному [44]. Кроме того, в привлечении Pol V в метилируемые локусы принимают участие дополнительные факторы – белки SUVH2 и SUVH9 [45]. Они привлекают гистоновые метилтрансферазы SUVH4/KYP, SUVH5 и SUVH6, осуществляющие метилирование соседних гистонов (рис. 2) [46]. Важную роль в метилировании ДНК также играет комплекс белков IDN1 (Involved in *de novo* 1), IDN2 (Involved in *de novo* 2) и IDP (IDN paralogue). Эти белки одновременно связывают геномную ДНК и транскрибируемую РНК [47–49]. IDN2 взаимодействует с АТФ-зависимым комплексом ремоделирования хроматина SWI–SNF (SWItch–Sucrose Non-Fermentable). Этот комплекс необходим для изменения положения нуклеосом и облегчения метилирования ДНК (рис. 2) [50]. С помощью описанного механизма у растений осуществляется метилирование ДНК *de novo*. Однако до сих пор неизвестно, как происходит первичное «нацеливание» RdDM-пути на неметилированный парамутабельный аллель и привлечение в локус Pol IV и Pol V [51].

Цис-детерминанты парамутации. Особый интерес представляет разнообразие проявления феномена парамутации. В классическом примере парамутации в локусе гена *b1* у кукурузы проис-

ходит стабильная модификация парамутабельного аллеля, которая наследуется в последующих поколениях и вызывает вторичную парамутацию, как и исходный парамутагенный аллель. Следует отметить, что у растений существуют и другие парамутагенные аллели, которые различаются как в отношении частоты парамутации (от 9 до 100%), так и стабильностью приобретенного парамутагенного состояния [52, 53]. Например, в линии табака *Spr12F*, содержащей ген стрептомицин-фосфотрансферазы (*spt*), парамутация гомологичных локусов происходит с частотой ~60% [52]. Кроме того, существуют нейтральные аллели, устойчивые к воздействию парамутагенного аллеля [54, 55], и аллели, в которых парамутация происходит спонтанно [12, 56]. Например, в классической системе парамутации аллеля *b1* у кукурузы спонтанное преобразование аллеля *B-I* в *B'* может происходить с частотой от 0,1 до 10% [12, 56].

На такое разнообразие в поведении локусов, участвующих в парамутации, могут влиять как различия в генетическом фоне родительских организмов, так и структурные особенности, *цис*-детерминанты, парамутагенных и парамутабельных аллелей. *Цис*-детерминанты парамутации – это тандемные и инвертированные повторяющиеся последовательности ДНК, а также связанные с этими повторами эпигенетические метки, влияющие на проявление и стабильность парамутагенного эффекта [57–59].

Для осуществления парамутагенного эффекта в локусе *b1* кукурузы необходимы множественные тандемные повторы длиной 853 п.нт., которые находятся на расстоянии ~100 т.п.нт. выше старта транскрипции гена *b1* (рис. 3) [60–62]. В 2006 г. Alleman et al. [26] установили, что с обеих цепей тандемных повторов осуществляется транскрипция, которая приводит к образованию дцРНК. Исследователи показали, что у кукурузы мутация MOP1 (Mediator of paramutation 1), ортолога РНК-зависимой РНК-полимеразы RDR2 у *A. thaliana*, приводит к нарушению образования дцРНК с тандемных повторов и самого локуса *b1* [26, 60]. Таким образом, MOP1 является необходимым фактором для осуществления парамутации. Эффективность парамутагенного эффекта также зависит от количества тандемных повторов и их структуры (рис. 3). Аллель *B'* с пятью или семью копиями повторов обладает 100%-ной парамутагенностью (показано на конструкции *b-5R'*), аллель *B'* с тремя копиями обладает пониженной парамутагенностью (конструкция *b-3R'*), а аллель, несущий одну копию повтора, вообще не вызывает парамутагенный эффект и является нейтральным (конструкция *b-N*; рис. 3) [60–62]. Примечательно, что для парамутагенного эффекта необходима только 5'-концевая GC-богатая последовательность

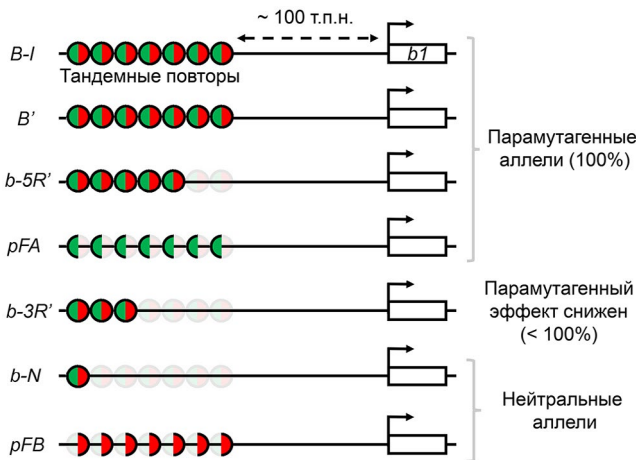


Рис. 3. Сравнительное строение разных типов аллелей локуса *b1* у кукурузы. На расстоянии ~100 т.п.н. от старта транскрипции гена *b1* расположены тандемные повторы длиной 853 п.н. (обозначены красно-зелеными кругами, где красный цвет обозначает 3'-концевую часть повтора, а зеленый цвет – 5'-концевую часть). От количества повторов и их структуры зависит эффективность парамутагенного эффекта в локусе *b1*

повтора (конструкция *pFA*), тогда как 3'-концевая последовательность (*pFB*) вообще не обладает парамутагенным эффектом и является нейтральной (рис. 3) [60–62]. Важно отметить, что для парамутации необходимо присутствие тандемных повторов в обоих аллелях – *B'* (парамутагенном) и *B-I* (парамутабельном) [60]. Тандемные повторы локуса *b1* не только являются *цис*-детерминантой парамутации, но также действуют как энхансер для парамутабельного аллеля и усиливают его транскрипционную активность [57, 60, 63].

Роль RdDM-пути в парамутации. Установлено, что белки MOP1 и MOP2 (Mediator of paramutation 2) являются необходимыми факторами для обеспечения парамутагенного эффекта в локусе *Pl'*, а также образовании коротких РНК длиной 24 нт. [64–69]. Кроме того, уровни H3K9me2 в локусах *b1* и *p1* коррелируют с соответствующими различиями в уровнях пигментации растений [57, 70]. Эти результаты подтверждают то, что парамутация осуществляется с помощью RdDM-пути.

Интересные наблюдения были сделаны при проведении экспериментов с использованием трансгенных конструкций, экспрессирующих siРНК к тандемным повторам (конструкция *b1IR*) и промотору гена *b1* (конструкция *a1pIR*), и растений с мутациями *mor1* и *mor2* [71]. Мутация *mor1* затрагивает первый этап RdDM-пути, когда с помощью Pol IV сначала синтезируется одноцепочечный транскрипт, а затем с помощью MOP1 происходит образование двухцепочечного предшественника siРНК [72]. Ген *mor2* кодирует фактор NRP(D/E)2a – вторую по величине субъ-

единицу, входящую в состав как Pol IV, так и в Pol V [26, 65, 71]. Таким образом, мутация *mor2* нарушает работу всего RdDM-пути, без которого парамутация невозможна. Ранее было показано, что сайленсинг *b1* отсутствует у обоих мутантов – *mor1* и *mor2* [73]. Sloan et al. [71] показали, что у растений, несущих конструкцию *a1pIR*, наблюдается сайленсинг *b1* при мутации *mor1*, но не мутации *mor2*. Получается, что трансген, продуцирующий siРНК к промотору *b1* может заменить работу Pol IV, участвующую в образовании дцРНК, но не заменяет работу Pol V, необходимую для метилирования локуса в пути RdDM.

Однако результаты экспериментов с использованием конструкции *b1IR*, из которой образуются siРНК к тандемным повторам, оказались неожиданными. Введение в геном конструкции *b1IR* приводило к сайленсингу *b1* у гомозиготных мутантов по обоим генам – *mor1* и *mor2*. С одной стороны, этот результат показывает, что образование siРНК из эндогенных тандемных повторов в растениях линии *B'* может не зависеть от активности Pol IV. Ввиду того, что транскрипция тандемных повторов чувствительна к α-аманитину, который ингибирует активность Pol II, но не влияет на активность Pol IV или Pol V, исследователи полагают, что транскрипция тандемных повторов осуществляется именно Pol II [71, 74]. С другой стороны, остается непонятно, каким образом сайленсируется сам ген *b1* при мутации *mor2*, нарушающей путь RdDM. Эти наблюдения привели к появлению гипотезы о том, что для сайленсинга *b1* требуется дополнительная РНК-полимераза, которая не содержит в своем составе субъединицы NRP(D/E)2a. Этой РНК-полимеразой может быть Pol II- или Pol V-подобный комплекс, содержащий другой NRP(D/E)2a-подобный неизвестный белок [69, 71].

При исследовании роли тандемных повторов в механизме парамутации были получены факты, которые не укладываются в предполагаемую классическую картину этого процесса. Так у кукурузы был обнаружен белок СВВР (CXC domain b1-repeat binding protein), который специфично связывался с последовательностью тандемных повторов [75]. При введении в геном кукурузы трансгенной конструкции, содержащей ген *СВВР* под убиквитинным промотором, парамутабельный аллель *B-I* спонтанно становился парамутагенным, причем эффект сохранялся у потомков, не имеющих исходный трансген [75]. Это исследование позволяет предположить существование еще одного класса белков, которые участвуют в сайленсинге генов. Однако остается неясно, связан ли СВВР с механизмом RdDM или действует независимо от него и не требует участия siРНК-опосредованного сайленсинга.

Эпигенетический сайленсинг локуса *b1* у кукурузы представляет собой классический пример феномена парамутации, в котором сайленсинг определенного локуса является результатом метилирования ДНК и гистона H3 в позиции K9, направленного короткими некодирующими РНК – siРНК. Важным условием для осуществления парамутагенного эффекта служат структурные особенности локусов, а именно *цис*-регуляторные детерминанты, которые, как и последовательность самого гена *b1*, метилированы и являются источником образования siРНК. Однако механика самого процесса, а также взаимосвязь между компонентами биохимического пути RdDM до конца не ясны и требуют дальнейшего изучения.

На какой стадии развития происходит эпигенетическое преобразование парамутабельного локуса точно неизвестно. В процессе сперматогенеза у растений образуются два спермия и одна вегетативная клетка. В спермиях хроматин находится в конденсированном состоянии, и экспрессия генов ограничена. Однако в вегетативной клетке хроматин находится в дерепрессированном состоянии, при котором происходит активное образование siРНК, которые затем передаются в спермии [76, 77]. Тот же процесс происходит между женской яйцеклеткой и двумя синергидными клетками в женском гаметофите [78], а затем – между зародышем и эндоспермом в молодом семени [79, 80]. Предполагается, что изменение эпигенетического статуса парамутабельного аллеля происходит именно на этих стадиях развития молодого растения.

ПАРАМУТАЦИЯ У ЖИВОТНЫХ

Эпигенетические взаимодействия аллелей и характер наследования признаков, подобный классическим примерам парамутации у растений, у животных встречается значительно реже. Подобные случаи были описаны у мышей, а также показаны на моделях беспозвоночных животных – дрозофилах и нематоде *Caenorhabditis elegans*. Механизм эпигенетической трансформации аллелей при парамутации у животных отличается от растений особенностями образования коротких некодирующих РНК, участвующих в этом процессе, а также механизмом метилирования гистонов, но общая модель парамутации сходна между этими двумя царствами живых организмов. Примеры естественных аллелей, которые проявляют парамутагенные свойства у животных, малочисленны. В основном исследования парамутации проводятся на трансгенных животных с искусственно сконструированными парамутагенными локусами.

Молекулярные основы парамутации у дрозофил. В отличие от растений, в основе парамутации у дрозофил лежит биохимический путь образования piРНК (короткие некодирующие РНК, ассоциированные с белком Piwi) и механизм котранскрипционного сайленсинга с помощью комплекса piРНК–Piwi [81]. Продукция piРНК у дрозофил в основном происходит в репродуктивных органах вследствие того, что белки семейства Piwi, необходимые для образования и функционирования piРНК, экспрессируются преимущественно в гонадах [82]. Предшественниками piРНК являются длинные одноцепочечные транскрипты из специальных локусов в геноме – piРНК-кластеров, обогащенных активными и дивергированными копиями различных МЭ [83, 84]. В отличие от образования siРНК, биогенез piРНК происходит без участия эндонуклеазы Dicer [85]. Транскрипты piРНК-кластеров транспортируются в цитоплазму, где «нарезаются» на последовательности длиной 23–29 нт. эндонуклеазой Zuc/MitoPLD, а затем в составе комплекса с белком Piwi перемещаются в ядро и осуществляют котранскрипционный сайленсинг [84].

У *Drosophila melanogaster* один из первых случаев парамутации был описан при изучении эффекта *транс*-сайленсинга, в основе которого лежит piРНК-опосредованное подавление экспрессии гомологичных последовательностей РНК (*Trans-Silencing Effect*, TSE) [86]. Исследователи под руководством Ronsserey [2, 87, 88] получили ряд трансгенных линий, в геном которых внесли повторы *P-lacZ-white* с помощью транспозона *P-element*. Среди полученных линий, несущих одинаковый трансген *P-lacZ-white*, две линии (*T-1* и *BX2*) демонстрировали различное проявление TSE. Линия *T-1* проявляла выраженный эффект TSE гомологичного трансгена *P-lacZ-white*, тогда как линия *BX2* не обладала способностью к репрессии. Кроме того, как оказалось, способность подавлять экспрессию обладает материнским эффектом наследования [87]. Материнское наследование имеет важнейшее значение для приспособленности организма и фертильности потомства у дрозофил [89]. Через цитоплазму ооцита передаются белки и транскрипты, необходимые для раннего эмбрионального развития.

В 2012 г. De Vanssay et al. [90, 91] провели скрещивание гетерозиготных самок линии *T-1* с самцами линии *BX2*. В выведенном потомстве у самок, которые наследовали локус *BX2* и цитоплазму *T-1*, но не сам локус *T-1*, происходило образование piРНК из трансгена *P-lacZ-white* и наблюдался эффект TSE (рис. 4, а). Эффект TSE обладал полной пенетрантностью и сохранялся более чем в 80 поколениях. Кроме того, локус *P-lacZ-white* в линии *BX2**, как и аллель *T-1*, проявляет TSE

и может подавлять экспрессию гомологичных аллелей. Подавление экспрессии *P-lacZ-white* наблюдали также и при скрещивании линии *BX2** с «наивной» линией *BX2* (рис. 4, а). При реципрокном скрещивании, когда не происходит наследования цитоплазмы линии *T-1*, сайленсинга *P-lacZ-white* не наблюдали. Из этого можно заключить, что аллель *BX2** приобрел свойства парамутагенного аллеля после наследования материнских факторов от линии *T-1*. Кроме того, оба аллеля, *T-1* и *BX2**, проявляют парамутагенный эффект исключительно при наследовании по материнской линии [90, 91]. Следует отметить, что линия *T-1* выведена из линии *BX2* после воздействия рентгеновского излучения и содержит множественные хромосомные инверсии и транслокации [87, 90]. При этом обе линии содержат одинаковое число tandemных повторов трансгена *P-lacZ-white*, расположенных в середине хромосомы 2R [88]. Таким образом, линия *T-1* является примером спонтанной трансформации локуса *P-lacZ-white* в piРНК-продуцирующий локус.

У самок *BX2** из локуса *P-lacZ-white* наблюдается продукция не только piРНК длиной 23–28 нт, но также siРНК длиной 21 нт. [90]. Исследователи протестировали влияние гомозиготной мутации белка Dicer-2, необходимого для процессинга siРНК у *D. melanogaster*, а также мутацию белка Aub, участвующего в посттранскрипционном сайленсинге в биохимическом пути piРНК, на TSE в линии *BX2**. Потеря функции Dicer-2 не повлияла на способность к транс-сайленсингу в линии *BX2** после скрещивания с линией *T-1*, тогда как мутация Aub полностью устраняла TSE у самок *BX2** [90, 92]. Таким образом, исследователи доказали, что эффект TSE и парамутагенные свойства локуса *P-lacZ-white* в линии *BX2** зависят от продукции piРНК, но не от продукции siРНК.

Одним из механизмов piРНК-опосредованного сайленсинга МЭ является котранскрипционное подавление их экспрессии, при которой белок Piwi, загруженный антисмысловыми по отношению к последовательности МЭ молекулами piРНК, вызывает метилирование гистона H3 (H3K9me3) на транскрибирующихся последовательностях МЭ [93]. Это приводит к нарушению связывания РНК-полимеразы II и ингибированию транскрипции МЭ [94]. В работах на *D. melanogaster* и *Drosophila virilis* установлено, что piРНК могут являться эпигенетическим сигналом, который передается через ооцит матери и стимулирует образование piРНК у потомства вследствие внесения метки H3K9me3 в гомологичные локусы [95, 96].

Модель парамутации у дрозофил предполагает передачу piРНК по материнской линии, которые затем поступают в примордиальные половые клетки эмбрионов и усиливают продукцию piРНК

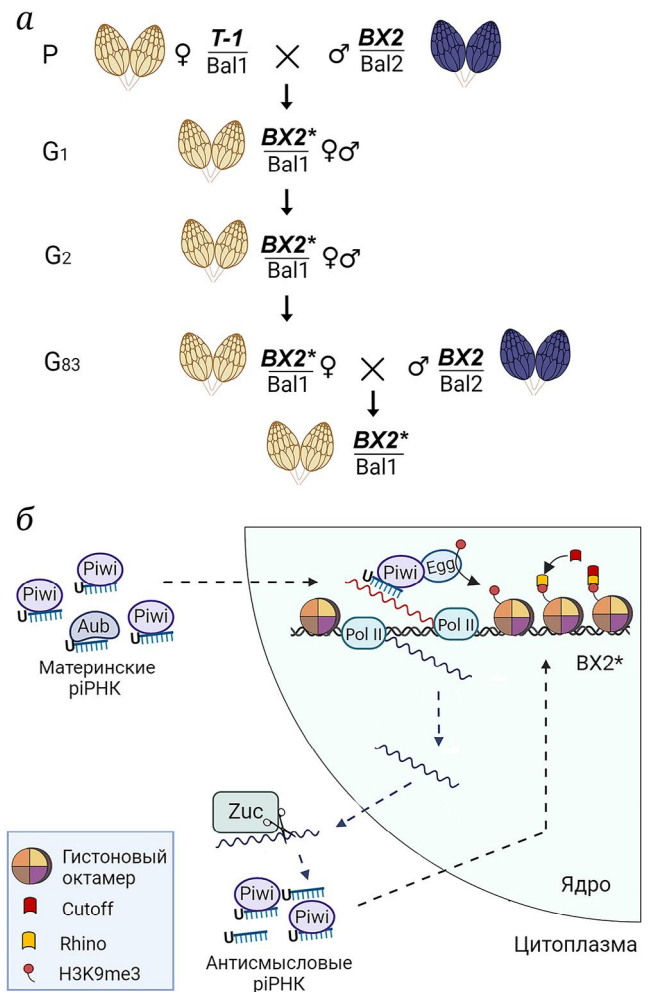


Рис. 4. Парамутация у *D. melanogaster* при скрещивании линий *T-1* и *BX2*. а – Линии *T-1* и *BX2* несут трансгенные конструкции, содержащие по 7 tandemных повторов *P-lacZ*. При этом в линии *BX2* репортерный ген *lacZ* экспрессируется (синий цвет проявляется при инкубации яичников в растворе с X-gal). В линии *T-1* экспрессия трансгена подавлена, поэтому яичники не окрашены. Р – родительские линии; G – поколение; Bal1 и Bal2 – балансерные хромосомы. б – Предполагаемый механизм piРНК-опосредованного преобразования локуса *BX2* в piРНК-кластер при парамутации. PiРНК, происходящие из локуса *T-1*, загружаются в белок Piwi. Затем комплексы Piwi-piРНК наследуются по материнской линии и связываются с новообразующимися транскриптами из локуса *BX2* и привлекают гистонметилтрансферазу SetDB1/Egg, которая метилирует H3K9. В этом заключается котранскрипционный сайленсинг локуса. После эпигенетической модификации локуса с H3K9me3 связывается комплекс Rhino-Cutoff и инициирует образование piРНК-кластера. После экспорта из ядра в цитоплазму транскрипты piРНК-кластеров подвергаются эндонуклеотическому расщеплению с помощью Zuc/MitoPLD. Все piРНК, полученные в результате нуклеазной активности Zuc, характеризуются выраженным нуклеотидным предпочтением в виде уридина на 5'-конце молекул piРНК. Далее, молекулы piРНК загружаются в комплекс с белком Piwi, который осуществляет котранскрипционный сайленсинг локуса *BX2**, а также передается следующему поколению через цитоплазму ооцита

из гомологичных локусов [91, 95, 96]. Предполагали, что комплекс Piwi-рiРНК поступает в ядро, связывается с транскрибирующимися последовательностями локуса и привлекает метилгистонтрансферазу SetDB1/Egg для метилирования H3K9. Затем локус узнается белком Rhino – одним из белков семейства HP1 (Heterochromatin Protein 1), который необходим для активации рiРНК-кластеров в герминативных клетках дрозофил [97]. Эта гипотеза нашла подтверждение в работе Le Thomas et al. [96] в 2014 г. (рис. 4, б). Эксперименты, проведенные исследователями на линиях *BX2** и *BX2*, показали увеличение метилирования H3K9 и связывание Rhino в локусе *P-lacZ-white* при парамутации, а также связывание белка Cutoff, дополнительного фактора транскрипции рiРНК-кластеров в герминативных клетках *D. melanogaster* (рис. 4, б) [96].

В редких случаях в ходе эпигенетического сайленсинга МЭ и формирования рiРНК-кластера *de novo* метилирование гистона H3K9 может распространяться за пределы инсерции МЭ и затрагивать расположенные рядом гены. Это приводит к эпигенетическому сайленсингу генов, а также может приводить к образованию рiРНК-кластеров, в состав которых будут включены белок-кодирующие гены [98–100]. У *D. virilis* рiРНК-опосредованное подавление локуса *cdi* (center divider) является примером подобной «непреднамеренной» регуляции. Впервые генные рiРНК у *D. virilis* были описаны в ходе полногеномного анализа рiРНК-продуцирующих локусов [101]. Несколько обнаруженных рiРНК-кластеров, одним из которых является локус *cdi*, обладают полиморфизмом в отношении экспрессии рiРНК в герминативной ткани. В другой работе Le Thomas et al. [95] были проведены реципрокные скрещивания между линиями, отличающимися по экспрессии *cdi*-гомологичных рiРНК (в данной работе рiРНК-кластер, включающий ген *cdi*, назван «рiРНК-кластер #1»). Это исследование позволило установить, что материнское наследование генных рiРНК приводит к эпигенетической трансформации генного локуса дикого типа и активации экспрессии рiРНК в следующем поколении [95]. Дальнейшие исследования, проведенные Erwin et al. [99], показали, что экспрессия *cdi*-гомологичных рiРНК сохраняется даже в потомстве от возвратного скрещивания с исходной линией, в которой отсутствовал исходный рiРНК-продуцирующий локус *cdi*. Эти наблюдения позволили предположить, что аллель *cdi* является парамутагенным. Чтобы это доказать, Dorador et al. [102] провели скрещивания двух линий *D. virilis*, отличающихся продукцией комплементарных рiРНК к гену *cdi*. В линии *cdi^A* наблюдалось образование рiРНК, комплементарных к *cdi*, а в линии *cdi^I* – образование рiРНК к *cdi* отсут-

ствовало. Важно отметить, что экспрессия самого гена *cdi* в герминативных клетках яичников была подавлена в линии *cdi^A*, но не в линии *cdi^I*. Это позволило определять эффект эпигенетической регуляции локуса *cdi* с помощью оценки экспрессии гена методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Исследователи показали, что экспрессия гена *cdi* снижена не только в гетерозиготных гибридах *cdi^A/c di^I* первого поколения, но также в гибридах от возвратного скрещивания с генотипом *c di^I/c di^I*, у которых отсутствует исходный парамутагенный аллель *c di^A* [102]. Таким образом, локус *c di^A* проявляет парамутагенный эффект и на сегодняшний день является единственным известным примером естественного парамутагенного локуса у животных.

Важно отметить, что ген *c di* расположен в субтеломерном районе 2-й хромосомы. У дрозофил структура теломер, как известно, поддерживается ретроэлементами *TART*, *HeT-A* и *TAHRE* [103]. Предыдущие исследования показали, что в герминативных клетках линии *c di^A* экспрессия *TART*, а также рiРНК комплементарных *TART* значительно выше, чем в линии *c di^I* [99]. Можно предположить, что образование рiРНК-кластера, захватывающего область гена *c di*, в линии *c di^A* вызвано повышенной экспрессией молекул рiРНК, комплементарных *TART*. Учитывая, что область гена *c di* фланкирована последовательностями *TART* в обеих линиях [102], трансформация локуса в линии *c di^I* в результате парамутации, вероятно, детерминирована структурой парамутабельного локуса, гомологичного ретроэлементу *TART*. Возможно, что именно локализация повторяющихся элементов генома в структурах парамутагенных и парамутабельных локусов у растений и животных является необходимым условием для эпигенетической трансформации локусов и повышения эффективности парамутации.

Материнское наследование рiРНК и котранскрипционный сайленсинг играют решающую роль в обеспечении парамутагенного эффекта у дрозофил. Кроме того, в результате парамутации инсерции МЭ могут быть преобразованы в рiРНК-кластеры, необходимые для образования дополнительных рiРНК и подавления дальнейшего распространения МЭ в геноме [104, 105]. Однако для приобретения парамутагенных свойств необходимым условием является формирование рiРНК-кластера *de novo* в парамутабельном локусе. Какие факторы детерминируют связывание Rhino и определяют границы рiРНК-кластеров в геноме дрозофил, до сих пор неизвестно.

Пространственные взаимодействия хроматина и парамутация. Недавнее исследование, проведенное на *D. melanogaster*, показывает, что парамутагенный эффект может зависеть от про-

пространственной структуры генома и сближения определенных геномных локусов внутри ядерных компартментов и может происходить без участия коротких некодирующих РНК [106].

У *D. melanogaster* элементы PRE (Polycomb group response elements) представляют собой цис-регуляторные элементы генома, которые привлекают к хроматину белки группы Polycomb (PcG) и Trithorax (TrxG) [107]. По своему действию на структуру хроматина и экспрессию генов белки PcG и TrxG являются антагонистами. Белки PcG поддерживают репрессивное состояние хроматина и обычно связаны с сайленсингом генов, тогда как белки TrxG определяют активную экспрессию генных локусов [107]. Регуляторный мотив *Fab-7*, который включает инсуляторный элемент и PRE, расположен на хромосоме 3R, где он контролирует экспрессию *Abdominal-B* (*Abd-B*), гомеозисного гена, кодирующего один из белков комплекса Bithorax [108]. Ранее обнаружено, что PcG-зависимая репрессия в *Fab-7*-трангенах, содержащих PRE, зависит от присутствия в геноме эндогенного локуса *Fab-7*, даже если этот локус расположен на другой хромосоме [108]. Это наблюдение позволило предположить, что белки PcG и инсуляторные элементы определяют пространственное взаимодействие трангенной и эндогенной копии *Fab-7* и могут модулировать функции репрессии и активации генов [108].

Исследуя взаимодействия *Fab7* и PcG, Ciabrelli et al. [106] получили линию мух *Fab2L*, содержащую трансен в хромосоме 2L. Трансен содержал репортерные гены *lacZ* и *mini-white* под контролем *Fab-7*. У мух линии *Fab2L* окраска глаз отличается среди особей вследствие антагонизма функций PcG и TrxG, связанных с трансенной и эндогенной копиями *Fab7*. Кроме того, фенотипические различия между особями коррелируют с уровнями экспрессии генов *mini-white* и *lacZ*, а также с наличием репрессирующей метки H3K27me3 в районах старта транскрипции генов [106]. Чтобы определить механизм наследования данных «эпиаллелей», исследователи получили две сублинии, *Fab2L^{white}* и *Fab2L^{red}*, демонстрирующие преимущественно белую (репрессированное состояние хроматина) и красную (активированное состояние хроматина) окраску глаз соответственно. Было установлено, что эпиаллели с большей частотой передавались потомству от матери, чем от отца. Кроме того, при скрещивании самок данных сублиний с самцами исходной линии *Fab2L* состояние аллелей *Fab2L^{white}* и *Fab2L^{red}* сохранялось на протяжении десяти поколений [106]. Таким образом, наследование эпиаллелей *Fab2L^{white}* и *Fab2L^{red}* проявляет частичный эффект родительского происхождения (parent-of-origin) и по характеру наследования признаков сходно с парамутацией.

Данный механизм, по всей видимости, не требует образования коротких некодирующих РНК, а метилирование локусов определяется именно пространственной структурой хроматина.

Парамутация у нематоды *C. elegans*. Парамутагенный эффект у нематоды *C. elegans* также основан на функции коротких некодирующих РНК, обеспечивающих узнавание парамутабельного локуса и его эпигенетическую трансформацию путем привлечения гистонметилтрансфераз для метилирования H3K9 [2]. Однако биогенез и механизм действия коротких некодирующих РНК у *C. elegans* имеет ряд важных отличительных особенностей, о которых необходимо упомянуть.

PiPHK у *C. elegans* имеют длину 21 нт. и U на 5'-конце и называются 21U-РНК (рис. 5). С 21U-РНК связывается белок PRG-1 – ортолог белка Piwi *D. melanogaster* [109–112]. Как только происходит узнавание транскрипта с помощью 21U-РНК, связанных с PRG-1, мРНК-мишень сначала разрезается с помощью эндонуклеазы RDE-8, а затем подвергается нематричному присоединению уридинов и гуанинов на 3'-конец мРНК с помощью белка RDE-3 [113, 114]. После добавления поли(U/G) к транскрипту привлекается РНК-зависимая РНК-полимераза RRF-1, которая синтезирует вторичные короткие РНК, называемые 22G-РНК, на матрице мРНК. Далее, 22G-РНК загружаются в белки Argonaute подсемейства WAGO (группа специфичных для нематод белков Ago) и осуществляют котранскрипционный и посттранскрипционный сайленсинг чужеродных последовательностей (рис. 5) [113, 115]. В частности, белок WAGO-9 в комплексе с 22G-РНК связывается с новообразующейся РНК и привлекает в геномный локус гистонметилтрансферазы, которые вносят репрессирующие гистоновые метки H3K9me3, H3K27me3, H3K23me3 [116–118].

Для распознавания мишени с помощью 21U-РНК не требуется их полная комплементарность. Существенной для связывания 21U-РНК является лишь область со 2 по 8 нт. с 5'-конца (seed region) и комплементарность в позиции с 14 по 19 нт., обеспечивающая дополнительную стабильность комплекса 21U-РНК–РНК-мишень [119, 120]. Учитывая, что связывание 21U-РНК с транскриптом-мишенью не требует полной комплементарности, сайленсингу с помощью 21U-РНК могут быть подвержены не только чужеродные последовательности, но и транскрипты собственных генов организма. Защита генов нематод от piPHK-опосредованного сайленсинга также обеспечивается с помощью siPHK, но загруженных в другой Argonaute – CSR-1 (рис. 5) [121, 122]. Подобно PRG-1, белок CSR-1 способен связываться с транскриптами и привлекать к ним RdRP EGO1. В результате активности EGO-1 образуются ком-

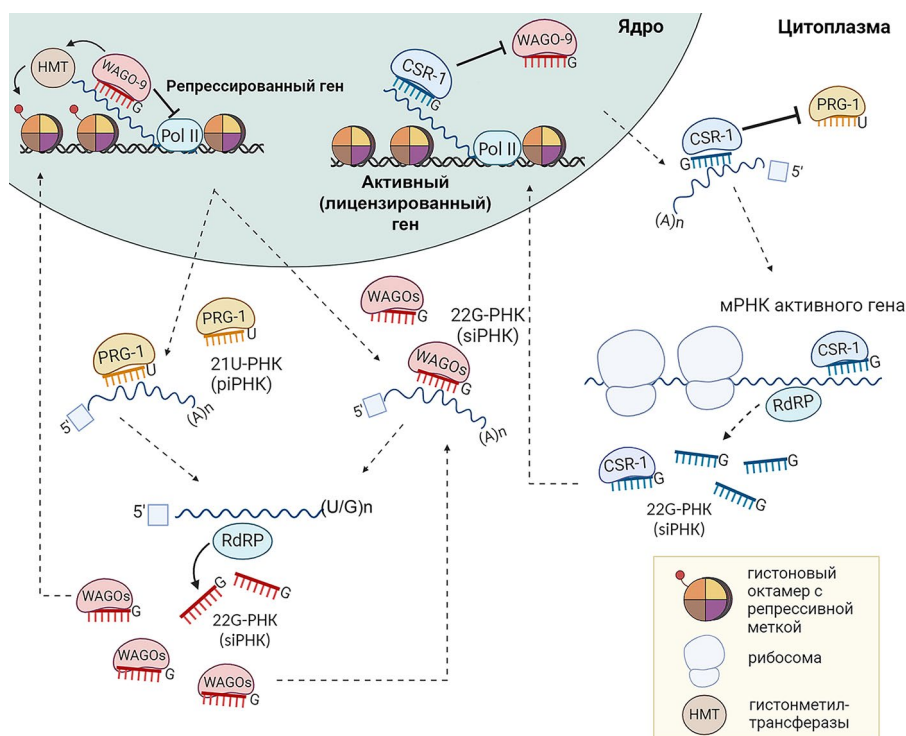


Рис. 5. Биогенез коротких некодирующих РНК и механизм распознавания «свой-чужой» у *C. elegans*. В клетках зародышевой линии кластеры генов рiРНК продуцируют 21U-РНК, которые загружаются в PRG-1. Комплекс 21U-РНК-PRG-1 инициирует образование 22G-РНК из мРНК с помощью РНК-зависимой РНК-полимеразы, предположительно, RRF-1. Предполагается, что мРНК, поступающие из ядра в цитоплазму, последовательно проверяются на соответствие последовательности с CSR-1-связанными 22G-РНК и PRG-1-связанными 21U-РНК и служат матрицами для образования дополнительных 22G-РНК. После образования 22G-РНК на матрице мРНК данные siРНК загружаются в белок WAGO-9, поступают в ядро и узнают комплементарный транскрипт, инициируя привлечение гистонметилтрансфераз. Комплекс 22G-РНК-CSR-1 препятствует связыванию siРНК, загруженных в WAGO-9. Молекулы коротких некодирующих РНК в составе PRG-1 или CSR-1 инициируют либо подавление экспрессии чужеродной последовательности, либо обеспечивают разрешение на транскрипцию (лицензированный ген) собственной мРНК

плементарные 22G-РНК, которые загружаются в CSR-1 [123]. Большинство 22G-РНК, связанных с CSR-1, образуется с помощью RdRP EGO-1 в цитозоле на матрице транслируемых мРНК [123]. Активность комплекса CSR-1-22G-РНК не приводит к сайленсингу, а, наоборот, обеспечивает защиту транскрипта от узнавания 21U-РНК [121, 122]. Таким образом, в отличие от рiРНК дрозофилы, большинство 21U-РНК не имеет полностью комплементарных мишеней в геноме, и основной их функцией является распознавание «своего» и «чужого» для сайленсинга новых геномных инсерций МЭ или вирусных дцРНК. Еще одной важной отличительной особенностью нематод является то, что с помощью 21U-РНК осуществляется только инициация подавления чужеродных последовательностей, в то время как за поддержание репрессированного состояния геномных локусов отвечают 22G-РНК (рис. 5) [124, 125].

У *C. elegans* два пола – самцы (X0) и гермафродиты (XX), которые являются самками, обладающими способностью к сперматогенезу [126]. При изучении механизмов РНК-интерференции было

замечено, что аллель отцовского происхождения (внесенная в геном трансгенная конструкция), не имеющий гомологов в геноме гермафродита, подвержен доминантному сайленсингу. Причем сайленсинг этого аллеля может быть предотвращен путем инъекции одноцепочечных РНК, соответствующих кодирующей области отсутствующего гена, в гонады гермафродита перед скрещиванием [127]. Эти наблюдения позволили предположить существование эпигенетического переключателя, чувствительного к предшествующей экспрессии гена [112].

В 2015 г. Sapetschnig et al. [128] показали развитие каскадного эффекта сайленсинга трансгена у нематод, который сохранялся и наследовался даже при удалении исходной инициаторной трансгенной конструкции (рис. 6). В геном была вставлена трансгенная конструкция *piRNA sensor*, содержащая последовательность *gfp* и последовательность, гомологичную эндогенным рiРНК (21U-РНК). РiРНК, образующиеся из этого локуса, инициируют образование 22G-РНК вблизи локуса-мишени рiРНК. После этого образование

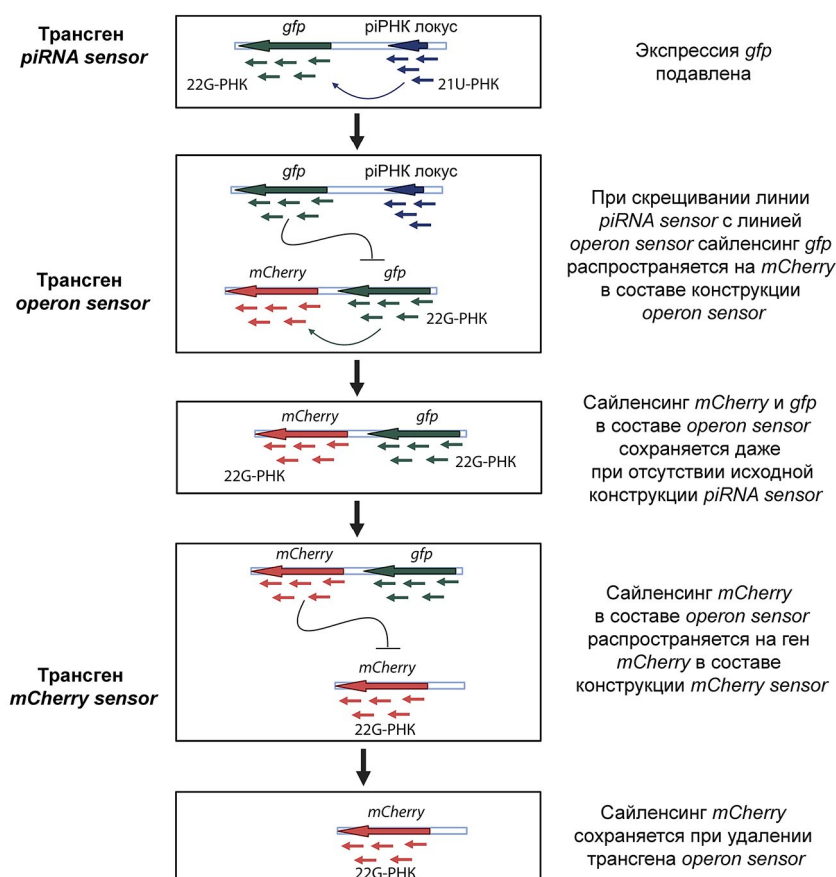


Рис. 6. Пример каскадной парамутации у нематоды *C. elegans*

22G-РНК начинает распространяться в направлении от 3'- к 5'-концу по всей длине транскрипта, сайленсируя *gfp*. Оказалось также, что подавление экспрессии *gfp* коррелирует с количеством комплементарных 22G-РНК. На следующем этапе исследователи скрестили полученную линию *piRNA sensor* с линией, содержащей трансген *operon*, в состав которой входят гены *mCherry* и *gfp*. У гибридного потомства наблюдали не только подавление экспрессии *gfp*, но также и подавление *mCherry*. Эти данные указывают на то, что для сайленсинга *gfp* в составе новой конструкции необходима передача только 22G-РНК, но не 21U-РНК, так как в этой конструкции отсутствует последовательность, гомологичная эндогенным 21U-РНК. Таким образом, piРНК необходимы для инициации сайленсинга, а поддержание эффекта осуществляют только 22G-РНК. Эффект сайленсинга *mCherry* сохраняется более 10 поколений (более длительный эффект исследователи не оценивали), даже если убрать исходный трансген *piRNA sensor*. Далее, исследователи скрестили линию *operon* с линией, содержащей трансген *mCherry::H2A* (*mCherry sensor*). Сайленсинг *mCherry* в составе трансгена *mCherry::H2A* сохранялся даже при отсутствии трансгена *operon* (рис. 6) [128]. Таким образом, стабильно наследуемый сай-

ленсинг трансгенов, продемонстрированный в работе Sapetschnig et al. [128], описывает эпигенетические взаимодействия аллелей, требующие образования двух различных классов коротких некодирующих РНК, и является примером парамутации у *C. elegans*. Общий механизм парамутации у *C. elegans* имеет сходство с механизмами парамутации у растений (локус *b1*) и дрозофил (система *T-1* и *BX2*, а также локус *cdi*). Ключевую роль в эпигенетической регуляции играют короткие некодирующие РНК, но, в отличие от растений, у животных именно piРНК иницируют парамутагенную трансформацию локусов, тогда как у растений эту функцию выполняют siРНК.

Парамутация у мышей. Среди позвоночных животных только для мышей были описаны случаи неменделевского наследования признаков, которые можно объяснить феноменом парамутации. Однако механизмы, лежащие в основе парамутации у мышей, до конца не понятны и имеют ряд существенных расхождений с системами парамутации у растений и беспозвоночных животных.

Парамутация у мышей описана Rassoulzadegan et al. [129] в 2006 г. на примере локуса *Kit* в линии *Kit^{tm1Alf}*. Ген *Kit* кодирует рецептор тирозинкиназы, участвующий в процессах кроветворения, синтеза меланина и дифференцировки

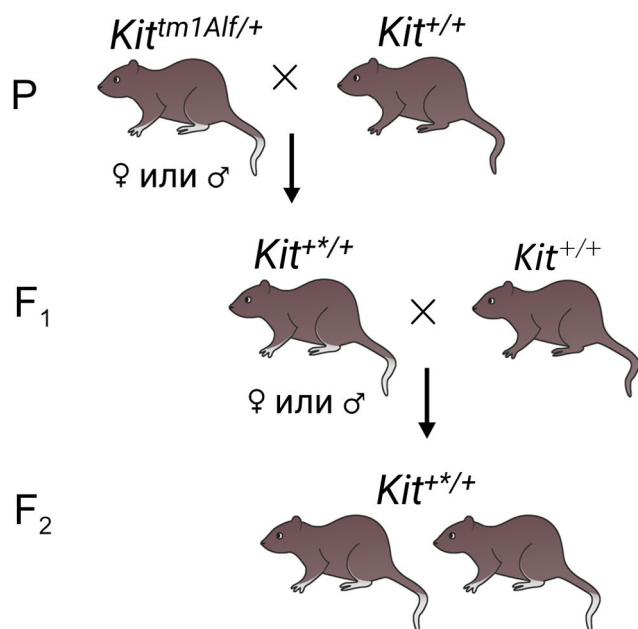


Рис. 7. Парамутация в локусе *Kit* у мышей. Схема скрещивания, демонстрирующая модификацию в аллеле дикого типа и приводящая к фенотипу «белого хвоста»

половых клеток. Нарушающая синтез белка *Kit*, мутация *tm1Alf*, вызванная инсерцией трансгенной конструкции *lacZ-neo* сразу за старт-кодоном, была получена в 1996 г. для изучения функции этого белка в эмбриогенезе [130]. Поскольку наличие белка *Kit* необходимо для кроветворения, гомозиготы *Kit^{tm1Alf}* умирают сразу после рождения. Гетерозиготы выживают, но сниженный уровень белка *Kit* нарушает развитие меланоцитов, и у таких животных появляются белая окраска лапок и кончика хвоста (фенотип «белого хвоста») [129]. При скрещивании таких мышей между собой или с мышами дикого типа в потомстве у большинства особей наблюдали фенотип «белого хвоста» даже при отсутствии аллеля, несущего генетическую конструкцию (рис. 7). Потомство, гомозиготное по дикому аллелю, но демонстрирующее измененный фенотип, было названо *Kit**. Такое наследование наблюдается независимо от пола родительских особей и сохраняется по меньшей мере в шести поколениях от возвратных скрещиваний с мышами дикого типа [129].

Для изучения молекулярной основы парамутации у животных *Kit^{tm1Alf/Kit*}* и *Kit** были исследованы профили метилирования ДНК и гистонов (метки H3K4me2 и H3K9me2) в CpG-богатой области промотора *Kit* [129]. Проведенные эксперименты показали, что между животными дикого типа, гетерозиготными особями *Kit^{tm1Alf/Kit*}*, а также мышами линии *Kit** нет существенных различий ни в метилировании цитозина, ни в метилировании гистонов [129, 131]. Дальнейшие исследования

выявили пониженный уровень полиаденилирования мРНК *Kit* у гетерозиготных мышей *Kit^{tm1Alf/+}* и мышей *Kit**. Кроме того, у мышей *Kit^{tm1Alf/+}* было обнаружено накопление неполиаденилированной мРНК *Kit* аномально коротких размеров в герминативных клетках семенников и сперматозоидах. В сперматозоидах линии *Kit^{tm1Alf/+}* также наблюдали повышенный уровень экспрессии мРНК *Kit* в сравнении с особями дикого типа [129].

Исходя из этих наблюдений, исследователи предположили, что через гаметы могут передаваться молекулы РНК, которые инициируют процесс деградации мРНК *Kit*, и именно это определяет фенотип *Kit**. Чтобы проверить это предположение, они инъецировали РНК, выделенную из спермы гомо- и гетерозиготных мышей, в яйцеклетку и обнаружили, что фенотип «белого хвоста» чаще встречался у особей, которым на эмбриональной стадии вводили РНК от гетерозигот [129]. Хотя фенотип «белого хвоста» также наблюдали после контрольных инъекций РНК от мышей дикого типа, этот фенотип редко передавался потомству. На следующем этапе исследователи решили подтвердить, что именно снижение экспрессии *Kit* определяет фенотип «белого хвоста». Для этого они провели дополнительную серию инъекций двух микроРНК, miR-221 и miR-222, для которых транскрипт гена *Kit* был определен как потенциальная мишень, по данным компьютерного анализа [129, 131]. После инъекции данных микроРНК фенотип «белого хвоста» проявлялся с высокой частотой у мышей дикого типа и, что наиболее важно, наследовался потомками. Таким образом, воздействие микроРНК на мРНК *Kit* в раннем эмбриогенезе является достаточным для индуцирования постоянного и наследуемого эпигенетического изменения экспрессии гена *Kit*. Авторы также подчеркивают, что парамутагенный эффект наблюдался при замене *lacZ-neo* на другие конструкции [129, 31]. Однако остается не ясно, наблюдается ли экспрессия aberrантных транскриптов *Kit* и их накопление в сперматозоидах при замене конструкции. Важно отметить, что фенотип «белого хвоста» никогда не наблюдали при точечной мутации гена *Kit* [132].

Исследователями под руководством Rassoulzadegan [133, 134] были описаны еще два случая парамутации у мышей, вызванные инъекциями микроРНК в эмбрионы, причем в обоих случаях инъекции микроРНК приводили к увеличению экспрессии целевого гена, а не к его подавлению. Так, микроинъекции miR-1 приводили к повышению экспрессии ее мишени *Cdk9* и гипертрофии сердца [134]. В свою очередь, инъекция miR-124 приводила к увеличению экспрессии *Sox9*, что сопровождалось развитием близнецов, а новорожденные мышата имели аномально большой вес [133].

Оба фенотипа, полученные при микроинъекциях miR-1 и miR-124, передавались в нескольких поколениях, после чего наблюдалось возвращение фенотипа к исходному состоянию. Позднее эти же исследователи показали, что на фоне мутации метилтрансферазы Dnmt2, которая метилирует преимущественно тРНК у млекопитающих, не наблюдалось фенотипа «белого хвоста» у мышей *Kit^{tm1Alf}* и не развивался соответствующий фенотип после микроинъекций miR-124 [135]. Это наблюдение указывает на важность метилирования РНК в проявлении парамутагенных эффектов у мышей.

По всей видимости, описанные механизмы парамутации у мышей имеют принципиальные отличия от классической системы парамутации, описанной у кукурузы на примере локуса *b1*, и известных моделей парамутации у беспозвоночных. Сайленсинг в данном случае происходит на посттранскрипционном, а не на котранскрипционном уровне и не сопровождается изменением профиля метилирования ДНК и H3K9. С другой стороны, ввиду того, что авторы изучили профиль метилирования только промоторной области гена *Kit*, исключать влияние хроматина полностью нельзя. Важно отметить, что даже если микроРНК способны подавлять экспрессию мРНК *Kit*, взаимосвязь между микроРНК и парамутацией в трансгенных линиях *Kit^{tm1Alf}* не была установлена. Основной функцией микроРНК является подавление экспрессии мРНК вследствие ее прямой дегградации или репрессии на уровне трансляции данной мРНК-мишени [136]. Следует отметить, что, хотя примеры увеличения синтеза белка вследствие связывания микроРНК с мРНК-мишенью описаны для различных типов клеток, в общем они довольно редки [137, 138]. Ввиду того, что даже одна микроРНК может регулировать экспрессию многих мРНК-мишеней, а одна мРНК может являться мишенью одновременно нескольких микроРНК, микроРНК формируют целые регуляторные сети в клетках [136]. Можно предположить, что описанная Rassoulzadegan et al. [129] регуляция экспрессии генов с помощью инъекций микроРНК осуществляется не напрямую, а приводит к изменению ряда сигнальных и регуляторных путей, влияющих на фенотип. Участие микроРНК в осуществлении парамутагенного эффекта имеет огромный интерес и нуждается в дальнейшем изучении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Парамутация представляет собой фундаментальный механизм эпигенетической регуляции экспрессии генов и наследственности. Принимая во внимание совокупность *цис*-регуляторных фак-

торов и эффекторных молекулы, осуществляющие парамутацию в различных живых системах, общим эпигенетическим эффектом парамутации можно считать метилирование ДНК и/или гистона H3 парамутабельного аллеля, опосредованные действием различных классов коротких некодирующих РНК. При этом особенности функционирования данных механизмов у разных живых организмов во многом определяют форму передачи наследственной информации при парамутации. Подобная передача эпигенетической информации потомству может играть решающую роль, например, для адаптации организмов к изменившимся условиям окружающей среды. Явления, подобные парамутации, также могут являться причиной наблюдаемой иногда низкой пенетрантности и неменделевского наследования аллелей, ассоциированных с некоторыми заболеваниями человека. Например, развитие ряда наследственных злокачественных новообразований, для которых не было установлено выраженного менделевского наследования, возможно, является результатом эпигенетической модификации, подобной парамутации, передающейся в поколениях [139]. При проведении обширных скрининговых исследований часто удается выявить взаимосвязь между наследуемым геном и родителем, от которого он был унаследован [140–142]. Однако доказать, что подобное наследование произошло в результате эпигенетических процессов, таких как парамутация или геномный импринтинг, крайне трудно без использования модельных систем.

Парамутация тесно связана с сайленсингом генов и, возможно, поэтому в природе встречается редко. Большинство парамутагенных аллелей, описанных до настоящего времени у животных, представляют собой искусственные генетические конструкции. Складывается ощущение, что «естественные» природные аллели каким-то образом защищены от сайленсинга, которому подвержена трансгенная конструкция. С другой стороны, парамутабельные аллели у растений, например, аллель *B-I* у кукурузы, представляют собой пример природного аллеля, который очень чувствителен к сайленсингу. С чем может быть связана столь разная чувствительность природных и искусственно сконструированных аллелей к подавлению экспрессии генов при парамутации? Молекулярные механизмы, предназначенные для поддержания структуры гетерохроматина и регуляции активности эндогенных вирусов, могут «непреднамеренно» воздействовать на структуру эухроматиновых генных локусов и подавлять их экспрессию. Таким образом, парамутагенные и парамутабельные аллели постоянно находятся под давлением естественного отбора и редко сохраняются в популяции. С другой стороны, парамута-

ция может происходить чаще, чем принято считать, но обнаружить парамутагенный эффект не всегда удастся ввиду отсутствия фенотипического проявления многих признаков. Эпигенетическое преобразование генных локусов при парамутации требует кооперативного и последовательного участия сразу нескольких сложных клеточных механизмов, включающих образование коротких некодирующих РНК, котранскрипционный сайленсинг и метилирование ДНК и/или гистонов. Кроме того, у дрозофил преобразование парамутабельного аллеля в парамутагенный, по-видимому, требует образование рiРНК-кластера *de novo* в парамутабельном локусе. Каким образом определенные геномные локусы приобретают способность к парамутагенной трансформации, в том числе к производству рiРНК, остается одним из важных нерешенных вопросов.

Наше понимание механизма парамутации у животных и растений неразрывно связано с исследованиями в области эпигенетической регуляции экспрессии генов, механики процессов поддержания и регуляции структуры хроматина.

Расширение наших знаний в этих областях молекулярной биологии будет являться фундаментом для понимания роли парамутации в эволюции и адаптации живых систем к изменяющимся условиям внешней среды.

Вклад авторов. С.Ф. Фуников – концепция обзора и редактирование; Д.А. Куликова и А.В. Беспалова – написание текста; Е.С. Зеленцова и М.Б. Евгеньев – редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 22-74-10050).

Благодарности. Мы выражаем благодарность за информацию из библиотеки Виртуального музея ИБР РАН, поддержанного разделом Государственного задания ИБР РАН 2024 года № 0088-2024-0010.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hollick, J. B. (2017) Paramutation and related phenomena in diverse species, *Nat. Rev. Genet.*, **18**, 5-23, <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.115>.
- Ronsseray, S. (2015) Paramutation phenomena in non-vertebrate animals, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **44**, 39-46, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.009>.
- Pilu, R. (2015) Paramutation phenomena in plants, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **44**, 2-10, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.015>.
- Chandler, V. L. (2007) Paramutation: from maize to mice, *Cell*, **128**, 641-645, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.007>.
- Bateson, W., and Pellew, C. (1915) On the genetics of "Rogues" among culinary peas (*Pisum sativum*), *J. Genetics*, **5**, 13-36, <https://doi.org/10.1007/BF02982150>.
- Brink, R. A. (1958) Paramutation at the R locus in maize, *Cold Spring Harb. Symp. Quantitat. Biol.*, **23**, 379-391, <https://doi.org/10.1101/sqb.1958.023.01.036>.
- Brink, R. A. (1956) A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible, *Genetics*, **41**, 872-889, <https://doi.org/10.1093/genetics/41.6.872>.
- Hagemann, R. (1969) Somatic conversion (paramutation) at the sulfurea locus of *Lycopersicon esculentum* Mill. III. studies with trisomics, *Can. J. Genet. Cytol.*, **11**, 346-358, <https://doi.org/10.1139/g69-043>.
- Renner, O. (1959) Somatic conversion in the heredity of the *Cruciata* character in *Oenothera*, *Heredity*, **13**, 283-288, <https://doi.org/10.1038/hdy.1959.35>.
- Pilu, R., Panzeri, D., Cassani, E., Cerino Badone, F., Landoni, M., and Nielsen, E. (2009) A paramutation phenomenon is involved in the genetics of maize low phytic acid1-241 (*lpa1-241*) trait, *Heredity (Edinb)*, **102**, 236-245, <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.96>.
- Shi, J., Wang, H., Schellin, K., Li, B., Faller, M., Stoop, J. M., Meeley, R. B., Ertl, D. S., Ranch, J. P., and Glassman, K. (2007) Embryo-specific silencing of a transporter reduces phytic acid content of maize and soybean seeds, *Nat. Biotechnol.*, **25**, 930-937, <https://doi.org/10.1038/nbt1322>.
- Coe, E. H. (1966) The properties, origin, and mechanism of conversion-type inheritance at the B locus in maize, *Genetics*, **53**, 1035-1063, <https://doi.org/10.1093/genetics/53.6.1035>.
- Patterson, G. I., Kubo, K. M., Shroyer, T., and Chandler, V. L. (1995) Sequences required for paramutation of the maize *b* gene map to a region containing the promoter and upstream sequences, *Genetics*, **140**, 1389-1406, <https://doi.org/10.1093/genetics/140.4.1389>.
- Matzke, M. A., and Mosher, R. A. (2014) RNA-directed DNA methylation: an epigenetic pathway of increasing complexity, *Nat. Rev. Genet.*, **15**, 394-408, <https://doi.org/10.1038/nrg3683>.

15. Zhong, X., Du, J., Hale, C. J., Gallego-Bartolome, J., Feng, S., Vashisht, A. A., Chory, J., Wohlschlegel, J. A., Patel, D. J., and Jacobsen, S. E. (2014) Molecular mechanism of action of plant DRM *de novo* DNA methyltransferases, *Cell*, **157**, 1050-1060, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.056>.
16. Mette, M. F., Aufsatz, W., van der Winden, J., Matzke, M. A., and Matzke, A. J. (2000) Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA, *EMBO J.*, **19**, 5194-5201, <https://doi.org/10.1093/emboj/19.19.5194>.
17. Erdmann, R. M., and Picard, C. L. (2020) RNA-directed DNA methylation, *PLoS Genet.*, **16**, e1009034, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009034>.
18. Chow, H. T., and Mosher, R. A. (2023) Small RNA-mediated DNA methylation during plant reproduction, *Plant Cell*, **35**, 1787-1800, <https://doi.org/10.1093/plcell/koad010>.
19. Akinmusola, R. Y., Wilkins, C. A., and Doughty, J. (2023) DDM1-mediated TE silencing in plants, *Plants (Basel)*, **12**, <https://doi.org/10.3390/plants12030437>.
20. Cuerda-Gil, D., and Slotkin, R. K. (2016) Non-canonical RNA-directed DNA methylation, *Nat. Plants*, **2**, 16163, <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.163>.
21. Svoboda, P. (2014) Renaissance of mammalian endogenous RNAi, *FEBS Lett.*, **588**, 2550-2556, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.05.030>.
22. Lahmy, S., Bies-Etheve, N., and Lagrange, T. (2010) Plant-specific multisubunit RNA polymerase in gene silencing, *Epigenetics*, **5**, 4-8, <https://doi.org/10.4161/epi.5.1.10435>.
23. Tucker, S. L., Reece, J., Ream, T. S., and Pikaard, C. S. (2010) Evolutionary history of plant multisubunit RNA polymerases IV and V: subunit origins via genome-wide and segmental gene duplications, retrotransposition, and lineage-specific subfunctionalization, *Cold Spring Harb. Symp. Quantitat. Biol.*, **75**, 285-297, <https://doi.org/10.1101/sqb.2010.75.037>.
24. Onodera, Y., Haag, J. R., Ream, T., Costa Nunes, P., Pontes, O., and Pikaard, C. S. (2005) Plant nuclear RNA polymerase IV mediates siRNA and DNA methylation-dependent heterochromatin formation, *Cell*, **120**, 613-622, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.007>.
25. Kanno, T., Huettel, B., Mette, M. F., Aufsatz, W., Jaligot, E., Daxinger, L., Kreil, D. P., Matzke, M., and Matzke, A. J. (2005) Atypical RNA polymerase subunits required for RNA-directed DNA methylation, *Nat. Genet.*, **37**, 761-765, <https://doi.org/10.1038/ng1580>.
26. Alleman, M., Sidorenko, L., McGinnis, K., Seshadri, V., Dorweiler, J. E., White, J., Sikkink, K., and Chandler, V. L. (2006) An RNA-dependent RNA polymerase is required for paramutation in maize, *Nature*, **442**, 295-298, <https://doi.org/10.1038/nature04884>.
27. Zhou, M., Palanca, A. M. S., and Law, J. A. (2018) Locus-specific control of the *de novo* DNA methylation pathway in *Arabidopsis* by the CLASSY family, *Nat. Genet.*, **50**, 865-873, <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0115-y>.
28. Law, J. A., Du, J., Hale, C. J., Feng, S., Krajewski, K., Palanca, A. M., Strahl, B. D., Patel, D. J., and Jacobsen, S. E. (2013) Polymerase IV occupancy at RNA-directed DNA methylation sites requires SHH1, *Nature*, **498**, 385-389, <https://doi.org/10.1038/nature12178>.
29. Zhang, H., He, X., and Zhu, J. K. (2013) RNA-directed DNA methylation in plants: where to start? *RNA Biol.*, **10**, 1593-1596, <https://doi.org/10.4161/rna.26312>.
30. Loffer, A., Singh, J., Fukudome, A., Mishra, V., Wang, F., and Pikaard, C. S. (2022) A DCL3 dicing code within Pol IV-RDR2 transcripts diversifies the siRNA pool guiding RNA-directed DNA methylation, *eLife*, **11**, <https://doi.org/10.7554/eLife.73260>.
31. Wang, Q., Xue, Y., Zhang, L., Zhong, Z., Feng, S., Wang, C., Xiao, L., Yang, Z., Harris, C. J., Wu, Z., Zhai, J., Yang, M., Li, S., Jacobsen, S. E., and Du, J. (2021) Mechanism of siRNA production by a plant Dicer-RNA complex in dicing-competent conformation, *Science*, **374**, 1152-1157, <https://doi.org/10.1126/science.abl4546>.
32. Yang, Z., Ebright, Y. W., Yu, B., and Chen, X. (2006) HEN1 recognizes 21-24 nt small RNA duplexes and deposits a methyl group onto the 2' OH of the 3' terminal nucleotide, *Nucleic Acids Res.*, **34**, 667-675, <https://doi.org/10.1093/nar/gkj474>.
33. Panda, K., and Slotkin, R. K. (2013) Proposed mechanism for the initiation of transposable element silencing by the RDR6-directed DNA methylation pathway, *Plant Signal. Behav.*, **8**, <https://doi.org/10.4161/psb.25206>.
34. Xie, M., and Yu, B. (2015) siRNA-directed DNA methylation in plants, *Curr. Genomics*, **16**, 23-31, <https://doi.org/10.2174/1389202915666141128002211>.
35. Vaucheret, H. (2008) Plant argonautes, *Trends Plant Sci.*, **13**, 350-358, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.04.007>.
36. Havecker, E. R., Wallbridge, L. M., Hardcastle, T. J., Bush, M. S., Kelly, K. A., Dunn, R. M., Schwach, F., Doonan, J. H., and Baulcombe, D. C. (2010) The *Arabidopsis* RNA-directed DNA methylation argonautes functionally diverge based on their expression and interaction with target loci, *Plant Cell*, **22**, 321-334, <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072199>.

37. Wierzbicki, A. T., Haag, J. R., and Pikaard, C. S. (2008) Noncoding transcription by RNA polymerase Pol IVb/Pol V mediates transcriptional silencing of overlapping and adjacent genes, *Cell*, **135**, 635-648, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.035>.
38. El-Shami, M., Pontier, D., Lahmy, S., Braun, L., Picart, C., Vega, D., Hakimi, M. A., Jacobsen, S. E., Cooke, R., and Lagrange, T. (2007) Reiterated WG/GW motifs form functionally and evolutionarily conserved ARGONAUTE-binding platforms in RNAi-related components, *Genes Dev.*, **21**, 2539-2544, <https://doi.org/10.1101/gad.451207>.
39. Köllen, K., Dietz, L., Bies-Etheve, N., Lagrange, T., Grasser, M., and Grasser, K. D. (2015) The zinc-finger protein SPT4 interacts with SPT5L/KTF1 and modulates transcriptional silencing in *Arabidopsis*, *FEBS Lett.*, **589**, 3254-3257, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.09.017>.
40. Rowley, M. J., Avrutsky, M. I., Sifuentes, C. J., Pereira, L., and Wierzbicki, A. T. (2011) Independent chromatin binding of ARGONAUTE4 and SPT5L/KTF1 mediates transcriptional gene silencing, *PLoS Genet.*, **7**, e1002120, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002120>.
41. Kanno, T., Mette, M. F., Kreil, D. P., Aufsatz, W., Matzke, M., and Matzke, A. J. (2004) Involvement of putative SNF2 chromatin remodeling protein DRD1 in RNA-directed DNA methylation, *Curr. Biol.*, **14**, 801-805, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.04.037>.
42. Kanno, T., Bucher, E., Daxinger, L., Huettel, B., Böhmendorfer, G., Gregor, W., Kreil, D. P., Matzke, M., and Matzke, A. J. (2008) A structural-maintenance-of-chromosomes hinge domain-containing protein is required for RNA-directed DNA methylation, *Nat. Genet.*, **40**, 670-675, <https://doi.org/10.1038/ng.119>.
43. Law, J. A., Ausin, I., Johnson, L. M., Vashisht, A. A., Zhu, J. K., Wohlschlegel, J. A., and Jacobsen, S. E. (2010) A protein complex required for polymerase V transcripts and RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis*, *Curr. Biol.*, **20**, 951-956, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.03.062>.
44. Zhong, X., Hale, C. J., Law, J. A., Johnson, L. M., Feng, S., Tu, A., and Jacobsen, S. E. (2012) DDR complex facilitates global association of RNA polymerase V to promoters and evolutionarily young transposons, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **19**, 870-875, <https://doi.org/10.1038/nsmb.2354>.
45. Kuhlmann, M., and Mette, M. F. (2012) Developmentally non-redundant SET domain proteins SUVH2 and SUVH9 are required for transcriptional gene silencing in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Mol. Biol.*, **79**, 623-633, <https://doi.org/10.1007/s11103-012-9934-x>.
46. Johnson, L. M., Law, J. A., Khattar, A., Henderson, I. R., and Jacobsen, S. E. (2008) SRA-domain proteins required for DRM2-mediated *de novo* DNA methylation, *PLoS Genet.*, **4**, e1000280, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000280>.
47. Ausin, I., Greenberg, M. V., Simanshu, D. K., Hale, C. J., Vashisht, A. A., Simon, S. A., Lee, T. F., Feng, S., España, S. D., Meyers, B. C., Wohlschlegel, J. A., Patel, D. J., and Jacobsen, S. E. (2012) INVOLVED IN *DE NOVO* 2-containing complex involved in RNA-directed DNA methylation in *Arabidopsis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 8374-8381, <https://doi.org/10.1073/pnas.1206638109>.
48. Ausin, I., Mockler, T. C., Chory, J., and Jacobsen, S. E. (2009) IDN1 and IDN2 are required for *de novo* DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 1325-1327, <https://doi.org/10.1038/nsmb.1690>.
49. Xie, M., Ren, G., Costa-Nunes, P., Pontes, O., and Yu, B. (2012) A subgroup of SGS3-like proteins act redundantly in RNA-directed DNA methylation, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 4422-4431, <https://doi.org/10.1093/nar/gks034>.
50. Zhu, Y., Rowley, M. J., Böhmendorfer, G., and Wierzbicki, A. T. (2013) A SWI/SNF chromatin-remodeling complex acts in noncoding RNA-mediated transcriptional silencing, *Mol. Cell*, **49**, 298-309, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.11.011>.
51. Sigman, M. J., and Slotkin, R. K. (2016) The first rule of plant transposable element silencing: location, location, location, *Plant Cell*, **28**, 304-313, <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00869>.
52. English, J. J., and Jones, J. D. (1998) Epigenetic instability and *trans*-silencing interactions associated with an SPT::Ac T-DNA locus in tobacco, *Genetics*, **148**, 457-469, <https://doi.org/10.1093/genetics/148.1.457>.
53. Gouil, Q., and Baulcombe, D. C. (2018) Paramutation-like features of multiple natural epialleles in tomato, *BMC Genomics*, **19**, 203, <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4590-4>.
54. Chopra, S., Athma, P., Li, X. G., and Peterson, T. (1998) A maize Myb homolog is encoded by a multicopy gene complex, *Mol. Gen. Genet.*, **260**, 372-380, <https://doi.org/10.1007/s004380050906>.
55. Springer, N. M., and McGinnis, K. M. (2015) Paramutation in evolution, population genetics and breeding, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **44**, 33-38, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.010>.
56. Coe, E. H. (1959) A regular and continuing conversion-type phenomenon at the B locus in maize, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **45**, 828-832, <https://doi.org/10.1073/pnas.45.6.828>.
57. Haring, M., Bader, R., Louwers, M., Schwabe, A., van Driel, R., and Stam, M. (2010) The role of DNA methylation, nucleosome occupancy and histone modifications in paramutation, *Plant J.*, **63**, 366-378, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.04245.x>.
58. Hövel, I., Pearson, N. A., and Stam, M. (2015) *Cis*-acting determinants of paramutation, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **44**, 22-32, <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.012>.

59. Walker, E. L., and Panavas, T. (2001) Structural features and methylation patterns associated with paramutation at the *r1* locus of *Zea mays*, *Genetics*, **159**, 1201-1215, <https://doi.org/10.1093/genetics/159.3.1201>.
60. Belele, C. L., Sidorenko, L., Stam, M., Bader, R., Arteaga-Vazquez, M. A., and Chandler, V. L. (2013) Specific tandem repeats are sufficient for paramutation-induced *trans*-generational silencing, *PLoS Genetics*, **9**, e1003773, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003773>.
61. Stam, M., Belele, C., Dorweiler, J. E., and Chandler, V. L. (2002) Differential chromatin structure within a tandem array 100 kb upstream of the maize *b1* locus is associated with paramutation, *Genes Dev.*, **16**, 1906-1918, <https://doi.org/10.1101/gad.1006702>.
62. Stam, M., Belele, C., Ramakrishna, W., Dorweiler, J. E., Bennetzen, J. L., and Chandler, V. L. (2002) The regulatory regions required for B' paramutation and expression are located far upstream of the maize *b1* transcribed sequences, *Genetics*, **162**, 917-930, <https://doi.org/10.1093/genetics/162.2.917>.
63. Louwers, M., Bader, R., Haring, M., van Driel, R., de Laat, W., and Stam, M. (2009) Tissue- and expression level-specific chromatin looping at maize *b1* epialleles, *Plant Cell*, **21**, 832-842, <https://doi.org/10.1105/tpc.108.064329>.
64. Dorweiler, J. E., Carey, C. C., Kubo, K. M., Hollick, J. B., Kermicle, J. L., and Chandler, V. L. (2000) Mediator of paramutation1 is required for establishment and maintenance of paramutation at multiple maize loci, *Plant Cell*, **12**, 2101-2118, <https://doi.org/10.1105/tpc.12.11.2101>.
65. Erhard, K. F., Jr., Stonaker, J. L., Parkinson, S. E., Lim, J. P., Hale, C. J., and Hollick, J. B. (2009) RNA polymerase IV functions in paramutation in *Zea mays*, *Science*, **323**, 1201-1205, <https://doi.org/10.1126/science.1164508>.
66. Hale, C. J., Erhard, K. F., Jr., Lisch, D., and Hollick, J. B. (2009) Production and processing of siRNA precursor transcripts from the highly repetitive maize genome, *PLoS Genet.*, **5**, e1000598, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000598>.
67. Hollick, J. B., and Chandler, V. L. (2001) Genetic factors required to maintain repression of a paramutagenic maize *pl1* allele, *Genetics*, **157**, 369-378, <https://doi.org/10.1093/genetics/157.1.369>.
68. Nobuta, K., Lu, C., Shrivastava, R., Pillay, M., De Paoli, E., Accerbi, M., Arteaga-Vazquez, M., Sidorenko, L., Jeong, D. H., Yen, Y., Green, P. J., Chandler, V. L., and Meyers, B. C. (2008) Distinct size distribution of endogenous siRNAs in maize: Evidence from deep sequencing in the *mop1-1* mutant, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 14958-14963, <https://doi.org/10.1073/pnas.0808066105>.
69. Sidorenko, L., Dorweiler, J. E., Cigan, A. M., Arteaga-Vazquez, M., Vyas, M., Kermicle, J., Jurcin, D., Brzeski, J., Cai, Y., and Chandler, V. L. (2009) A dominant mutation in mediator of paramutation2, one of three second-largest subunits of a plant-specific RNA polymerase, disrupts multiple siRNA silencing processes, *PLoS Genet.*, **5**, e1000725, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000725>.
70. Sekhon, R. S., Wang, P. H., Sidorenko, L., Chandler, V. L., and Chopra, S. (2012) Maize Unstable factor for *orange1* is required for maintaining silencing associated with paramutation at the pericarp *color1* and *booster1* loci, *PLoS Genet.*, **8**, e1002980, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002980>.
71. Sloan, A. E., Sidorenko, L., and McGinnis, K. M. (2014) Diverse gene-silencing mechanisms with distinct requirements for RNA polymerase subunits in *Zea mays*, *Genetics*, **198**, 1031-1042, <https://doi.org/10.1534/genetics.114.168518>.
72. El-Sappah, A. H., Yan, K., Huang, Q., Islam, M. M., Li, Q., Wang, Y., Khan, M. S., Zhao, X., Mir, R. R., Li, J., El-Tarabily, K. A., and Abbas, M. (2021) Comprehensive mechanism of gene silencing and its role in plant growth and development, *Front. Plant Sci.*, **12**, 705249, <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.705249>.
73. Arteaga-Vazquez, M., Sidorenko, L., Rabanal, F. A., Shrivastava, R., Nobuta, K., Green, P. J., Meyers, B. C., and Chandler, V. L. (2010) RNA-mediated *trans*-communication can establish paramutation at the *b1* locus in maize, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 12986-12991, <https://doi.org/10.1073/pnas.1007972107>.
74. Haag, J. R., Ream, T. S., Marasco, M., Nicora, C. D., Norbeck, A. D., Pasa-Tolic, L., and Pikaard, C. S. (2012) *In vitro* transcription activities of Pol IV, Pol V, and RDR2 reveal coupling of Pol IV and RDR2 for dsRNA synthesis in plant RNA silencing, *Mol. Cell*, **48**, 811-818, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.027>.
75. Brzeska, K., Brzeski, J., Smith, J., and Chandler, V. L. (2010) Transgenic expression of CBBP, a CXC domain protein, establishes paramutation in maize, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 5516-5521, <https://doi.org/10.1073/pnas.1001576107>.
76. Creasey, K. M., and Martienssen, R. A. (2010) Germline reprogramming of heterochromatin in plants, *Cold Spring Harbor Symp. Quantitat. Biol.*, **75**, 269-274, <https://doi.org/10.1101/sqb.2010.75.064>.
77. Slotkin, R. K., Vaughn, M., Borges, F., Tanurdzić, M., Becker, J. D., Feijó, J. A., and Martienssen, R. A. (2009) Epigenetic reprogramming and small RNA silencing of transposable elements in pollen, *Cell*, **136**, 461-472, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.12.038>.
78. Olmedo-Monfil, V., Durán-Figueroa, N., Arteaga-Vázquez, M., Demesa-Arévalo, E., Autran, D., Grimanelli, D., Slotkin, R. K., Martienssen, R. A., and Vielle-Calzada, J. P. (2010) Control of female gamete formation by a small RNA pathway in *Arabidopsis*, *Nature*, **464**, 628-632, <https://doi.org/10.1038/nature08828>.

79. Hsieh, T. F., Ibarra, C. A., Silva, P., Zemach, A., Eshed-Williams, L., Fischer, R. L., and Zilberman, D. (2009) Genome-wide demethylation of *Arabidopsis* endosperm, *Science*, **324**, 1451-1454, <https://doi.org/10.1126/science.1172417>.
80. Mosher, R. A., Melnyk, C. W., Kelly, K. A., Dunn, R. M., Studholme, D. J., and Baulcombe, D. C. (2009) Uniparental expression of PolIV-dependent siRNAs in developing endosperm of *Arabidopsis*, *Nature*, **460**, 283-286, <https://doi.org/10.1038/nature08084>.
81. Siomi, H., and Siomi, M. C. (2011) Stress signaling etches heritable marks on chromatin, *Cell*, **145**, 1005-1007, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.009>.
82. Höck, J., and Meister, G. (2008) The Argonaute protein family, *Genome Biol.*, **9**, 210, <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-2-210>.
83. Brennecke, J., Aravin, A. A., Stark, A., Dus, M., Kellis, M., Sachidanandam, R., and Hannon, G. J. (2007) Discrete small RNA-generating loci as master regulators of transposon activity in *Drosophila*, *Cell*, **128**, 1089-1103, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.01.043>.
84. Czech, B., Munafò, M., Ciabrelli, F., Eastwood, E. L., Fabry, M. H., Kneuss, E., and Hannon, G. J. (2018) piRNA-guided genome defense: from biogenesis to silencing, *Annu. Rev. Genet.*, **52**, 131-157, <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120417-031441>.
85. Vagin, V. V., Sigova, A., Li, C., Seitz, H., Gvozdev, V., and Zamore, P. D. (2006) A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline, *Science*, **313**, 320-324, <https://doi.org/10.1126/science.1129333>.
86. Roche, S. E., and Rio, D. C. (1998) Trans-silencing by P elements inserted in subtelomeric heterochromatin involves the *Drosophila* Polycomb group gene, Enhancer of zeste, *Genetics*, **149**, 1839-1855, <https://doi.org/10.1093/genetics/149.4.1839>.
87. Josse, T., Teyssset, L., Todeschini, A. L., Sidor, C. M., Anxolabéhère, D., and Ronsseray, S. (2007) Telomeric trans-silencing: an epigenetic repression combining RNA silencing and heterochromatin formation, *PLoS Genet.*, **3**, 1633-1643, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030158>.
88. Ronsseray, S., Boivin, A., and Anxolabéhère, D. (2001) P-Element repression in *Drosophila melanogaster* by variegating clusters of P-lacZ-white transgenes, *Genetics*, **159**, 1631-1642, <https://doi.org/10.1093/genetics/159.4.1631>.
89. Kidwell, M. G., Kidwell, J. F., and Sved, J. A. (1977) Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: A syndrome of aberrant traits including mutation, sterility and male recombination, *Genetics*, **86**, 813-833, <https://doi.org/10.1093/genetics/86.4.813>.
90. De Vanssay, A., Bougé, A. L., Boivin, A., Hermant, C., Teyssset, L., Delmarre, V., Antoniewski, C., and Ronsseray, S. (2012) Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus, *Nature*, **490**, 112-115, <https://doi.org/10.1038/nature11416>.
91. De Vanssay, A., Bougé, A. L., Boivin, A., Hermant, C., Teyssset, L., Delmarre, V., Antoniewski, C., and Ronsseray, S. (2013) piRNAs and epigenetic conversion in *Drosophila*, *Fly*, **7**, 237-241, <https://doi.org/10.4161/fly.26522>.
92. Hermant, C., Boivin, A., Teyssset, L., Delmarre, V., Asif-Laidin, A., van den Beek, M., Antoniewski, C., and Ronsseray, S. (2015) Paramutation in *Drosophila* requires both nuclear and cytoplasmic actors of the piRNA pathway and induces cis-spreading of piRNA production, *Genetics*, **201**, 1381-1396, <https://doi.org/10.1534/genetics.115.180307>.
93. Sienski, G., Dönertas, D., and Brennecke, J. (2012) Transcriptional silencing of transposons by Piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression, *Cell*, **151**, 964-980, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.040>.
94. Le Thomas, A., Rogers, A. K., Webster, A., Marinov, G. K., Liao, S. E., Perkins, E. M., Hur, J. K., Aravin, A. A., and Tóth, K. F. (2013) Piwi induces piRNA-guided transcriptional silencing and establishment of a repressive chromatin state, *Genes Dev.*, **27**, 390-399, <https://doi.org/10.1101/gad.209841.112>.
95. Le Thomas, A., Marinov, G. K., and Aravin, A. A. (2014) A transgenerational process defines piRNA biogenesis in *Drosophila virilis*, *Cell Rep.*, **8**, 1617-1623, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.013>.
96. Le Thomas, A., Stuwe, E., Li, S., Du, J., Marinov, G., Rozhkov, N., Chen, Y. C., Luo, Y., Sachidanandam, R., Toth, K. F., Patel, D., and Aravin, A. A. (2014) Transgenerationally inherited piRNAs trigger piRNA biogenesis by changing the chromatin of piRNA clusters and inducing precursor processing, *Genes Dev.*, **28**, 1667-1680, <https://doi.org/10.1101/gad.245514.114>.
97. Mohn, F., Sienski, G., Handler, D., and Brennecke, J. (2014) The rhino-deadlock-cutoff complex licenses noncanonical transcription of dual-strand piRNA clusters in *Drosophila*, *Cell*, **157**, 1364-1379, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.031>.
98. Blumenstiel, J. P., Erwin, A. A., and Hemmer, L. W. (2016) What drives positive selection in the *Drosophila* piRNA machinery? The genomic autoimmunity hypothesis, *Yale J. Biol. Med.*, **89**, 499-512.
99. Erwin, A. A., Galdos, M. A., Wickersheim, M. L., Harrison, C. C., Marr, K. D., Colicchio, J. M., and Blumenstiel, J. P. (2015) piRNAs are associated with diverse transgenerational effects on gene and transposon expression in a hybrid dysgenic syndrome of *D. virilis*, *PLoS Genet.*, **11**, e1005332, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005332>.

100. Tsuji, J., Thomson, T., Brown, C., Ghosh, S., Theurkauf, W. E., Weng, Z., and Schwartz, L. M. (2021) Somatic piRNAs and transposons are differentially expressed coincident with skeletal muscle atrophy and programmed cell death, *Front. Genet.*, **12**, 775369, <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.775369>.
101. Rozhkov, N. V., Aravin, A. A., Zelentsova, E. S., Schostak, N. G., Sachidanandam, R., McCombie, W. R., Hannon, G. J., and Evgen'ev, M. B. (2010) Small RNA-based silencing strategies for transposons in the process of invading *Drosophila* species, *RNA*, **16**, 1634-1645, <https://doi.org/10.1261/rna.2217810>.
102. Dorador, A. P., Dalikova, M., Cerbin, S., Stillman, C. M., Zych, M. G., Hawley, R. S., Miller, D. E., Ray, D. A., Funikov, S. Y., Evgen'ev, M. B., and Blumenstiel, J. P. (2022) Paramutation-like epigenetic conversion by piRNA at the telomere of *Drosophila virilis*, *Biology*, **11**, <https://doi.org/10.3390/biology11101480>.
103. Kalmykova, A. I., and Sokolova, O. A. (2023) Retrotransposons and telomeres, *Biochemistry (Moscow)*, **88**, 1739-1753, <https://doi.org/10.1134/s0006297923110068>.
104. Scarpa, A., and Kofler, R. (2023) The impact of paramutations on the invasion dynamics of transposable elements, *Genetics*, **225**, <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad181>.
105. Shpiz, S., Ryazansky, S., Olovnikov, I., Abramov, Y., and Kalmykova, A. (2014) Euchromatic transposon insertions trigger production of novel Pi- and endo-siRNAs at the target sites in the drosophila germline, *PLoS Genet.*, **10**, e1004138, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004138>.
106. Ciabrelli, F., Comoglio, F., Fellous, S., Bonev, B., Ninova, M., Szabo, Q., Xuéreb, A., Klopp, C., Aravin, A., Paro, R., Bantignies, F., and Cavalli, G. (2017) Stable polycomb-dependent transgenerational inheritance of chromatin states in *Drosophila*, *Nat. Genet.*, **49**, 876-886, <https://doi.org/10.1038/ng.3848>.
107. Steffen, P. A., and Ringrose, L. (2014) What are memories made of? How Polycomb and Trithorax proteins mediate epigenetic memory, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**, 340-356, <https://doi.org/10.1038/nrm3789>.
108. Bantignies, F., Grimaud, C., Lavrov, S., Gabut, M., and Cavalli, G. (2003) Inheritance of Polycomb-dependent chromosomal interactions in *Drosophila*, *Genes Dev.*, **17**, 2406-2420, <https://doi.org/10.1101/gad.269503>.
109. Ashe, A., Sapetschnig, A., Weick, E. M., Mitchell, J., Bagijn, M. P., Cording, A. C., Doebley, A. L., Goldstein, L. D., Lehrbach, N. J., Le Pen, J., Pintacuda, G., Sakaguchi, A., Sarkies, P., Ahmed, S., and Miska, E. A. (2012) piRNAs can trigger a multigenerational epigenetic memory in the germline of *C. elegans*, *Cell*, **150**, 88-99, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.018>.
110. Bagijn, M. P., Goldstein, L. D., Sapetschnig, A., Weick, E. M., Bouasker, S., Lehrbach, N. J., Simard, M. J., and Miska, E. A. (2012) Function, targets, and evolution of *Caenorhabditis elegans* piRNAs, *Science*, **337**, 574-578, <https://doi.org/10.1126/science.1220952>.
111. Lee, H. C., Gu, W., Shirayama, M., Youngman, E., Conte, D., Jr., and Mello, C. C. (2012) *C. elegans* piRNAs mediate the genome-wide surveillance of germline transcripts, *Cell*, **150**, 78-87, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.016>.
112. Shirayama, M., Seth, M., Lee, H. C., Gu, W., Ishidate, T., Conte, D., Jr., and Mello, C. C. (2012) piRNAs initiate an epigenetic memory of nonself RNA in the *C. elegans* germline, *Cell*, **150**, 65-77, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.015>.
113. Shukla, A., Yan, J., Pagano, D. J., Dodson, A. E., Fei, Y., Gorham, J., Seidman, J. G., Wickens, M., and Kennedy, S. (2020) poly(UG)-tailed RNAs in genome protection and epigenetic inheritance, *Nature*, **582**, 283-288, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2323-8>.
114. Tsai, H. Y., Chen, C. C., Conte, D., Jr., Moresco, J. J., Chaves, D. A., Mitani, S., Yates, J. R., 3rd, Tsai, M. D., and Mello, C. C. (2015) A ribonuclease coordinates siRNA amplification and mRNA cleavage during RNAi, *Cell*, **160**, 407-419, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.010>.
115. Yigit, E., Batista, P. J., Bei, Y., Pang, K. M., Chen, C. C., Tolia, N. H., Joshua-Tor, L., Mitani, S., Simard, M. J., and Mello, C. C. (2006) Analysis of the *C. elegans* Argonaute family reveals that distinct Argonautes act sequentially during RNAi, *Cell*, **127**, 747-757, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.033>.
116. Buckley, B. A., Burkhart, K. B., Gu, S. G., Spracklin, G., Kershner, A., Fritz, H., Kimble, J., Fire, A., and Kennedy, S. (2012) A nuclear Argonaute promotes multigenerational epigenetic inheritance and germline immortality, *Nature*, **489**, 447-451, <https://doi.org/10.1038/nature11352>.
117. Mao, H., Zhu, C., Zong, D., Weng, C., Yang, X., Huang, H., Liu, D., Feng, X., and Guang, S. (2015) The Nrde pathway mediates small-RNA-directed histone H3 lysine 27 trimethylation in *Caenorhabditis elegans*, *Curr. Biol.*, **25**, 2398-2403, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.051>.
118. Schwartz-Orbach, L., Zhang, C., Sidoli, S., Amin, R., Kaur, D., Zhebrun, A., Ni, J., and Gu, S. G. (2020) *Caenorhabditis elegans* nuclear RNAi factor SET-32 deposits the transgenerational histone modification, H3K23me3, *eLife*, **9**, e54309, <https://doi.org/10.7554/eLife.54309>.
119. Shen, E. Z., Chen, H., Ozturk, A. R., Tu, S., Shirayama, M., Tang, W., Ding, Y. H., Dai, S. Y., Weng, Z., and Mello, C. C. (2018) Identification of piRNA binding sites reveals the Argonaute regulatory landscape of the *C. elegans* germline, *Cell*, **172**, 937-951.e918, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.002>.

120. Zhang, D., Tu, S., Stubna, M., Wu, W. S., Huang, W. C., Weng, Z., and Lee, H. C. (2018) The piRNA targeting rules and the resistance to piRNA silencing in endogenous genes, *Science*, **359**, 587-592, <https://doi.org/10.1126/science.aao2840>.
121. Seth, M., Shirayama, M., Gu, W., Ishidate, T., Conte, D., Jr., and Mello, C. C. (2013) The *C. elegans* CSR-1 argonaute pathway counteracts epigenetic silencing to promote germline gene expression, *Dev. Cell*, **27**, 656-663, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.11.014>.
122. Wedeles, C. J., Wu, M. Z., and Claycomb, J. M. (2013) Protection of germline gene expression by the *C. elegans* Argonaute CSR-1, *Dev. Cell*, **27**, 664-671, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.11.016>.
123. Singh, M., Cornes, E., Li, B., Quarato, P., Bourdon, L., Dingli, F., Loew, D., Proccacia, S., and Cecere, G. (2021) Translation and codon usage regulate Argonaute slicer activity to trigger small RNA biogenesis, *Nat. Commun.*, **12**, 3492, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23615-w>.
124. Gu, W., Shirayama, M., Conte, D., Jr., Vasale, J., Batista, P. J., Claycomb, J. M., Moresco, J. J., Youngman, E. M., Keys, J., Stoltz, M. J., Chen, C. C., Chaves, D. A., Duan, S., Kasschau, K. D., Fahlgren, N., Yates, J. R., 3rd, Mitani, S., Carrington, J. C., and Mello, C. C. (2009) Distinct argonaute-mediated 22G-RNA pathways direct genome surveillance in the *C. elegans* germline, *Mol. Cell*, **36**, 231-244, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.09.020>.
125. Pak, J., and Fire, A. (2007) Distinct populations of primary and secondary effectors during RNAi in *C. elegans*, *Science*, **315**, 241-244, <https://doi.org/10.1126/science.1132839>.
126. Goodwin, E. B., and Ellis, R. E. (2002) Turning clustering loops: sex determination in *Caenorhabditis elegans*, *Curr. Biol.*, **12**, R111-120, [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(02\)00675-9](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(02)00675-9).
127. Johnson, C. L., and Spence, A. M. (2011) Epigenetic licensing of germline gene expression by maternal RNA in *C. elegans*, *Science*, **333**, 1311-1314, <https://doi.org/10.1126/science.1208178>.
128. Sapetschnig, A., Sarkies, P., Lehrbach, N. J., and Miska, E. A. (2015) Tertiary siRNAs mediate paramutation in *C. elegans*, *PLoS Genet.*, **11**, e1005078, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005078>.
129. Rassoulzadegan, M., Grandjean, V., Gounon, P., Vincent, S., Gillot, I., and Cuzin, F. (2006) RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse, *Nature*, **441**, 469-474, <https://doi.org/10.1038/nature04674>.
130. Bernex, F., De Sepulveda, P., Kress, C., Elbaz, C., Delouis, C., and Panthier, J. J. (1996) Spatial and temporal patterns of c-kit-expressing cells in WlacZ/+ and WlacZ/WlacZ mouse embryos, *Development*, **122**, 3023-3033, <https://doi.org/10.1242/dev.122.10.3023>.
131. Yuan, S., Oliver, D., Schuster, A., Zheng, H., and Yan, W. (2015) Breeding scheme and maternal small RNAs affect the efficiency of transgenerational inheritance of a paramutation in mice, *Sci. Rep.*, **5**, 9266, <https://doi.org/10.1038/srep09266>.
132. Nocka, K., Tan, J. C., Chiu, E., Chu, T. Y., Ray, P., Traktman, P., and Besmer, P. (1990) Molecular bases of dominant negative and loss of function mutations at the murine c-kit/white spotting locus: W37, Wv, W41 and W, *EMBO J.*, **9**, 1805-1813, <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08305.x>.
133. Grandjean, V., Gounon, P., Wagner, N., Martin, L., Wagner, K. D., Bernex, F., Cuzin, F., and Rassoulzadegan, M. (2009) The miR-124-Sox9 paramutation: RNA-mediated epigenetic control of embryonic and adult growth, *Development*, **136**, 3647-3655, <https://doi.org/10.1242/dev.041061>.
134. Wagner, K. D., Wagner, N., Ghanbarian, H., Grandjean, V., Gounon, P., Cuzin, F., and Rassoulzadegan, M. (2008) RNA induction and inheritance of epigenetic cardiac hypertrophy in the mouse, *Dev. Cell*, **14**, 962-969, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.03.009>.
135. Kiani, J., Grandjean, V., Liebers, R., Tuorto, F., Ghanbarian, H., Lyko, F., Cuzin, F., and Rassoulzadegan, M. (2013) RNA-mediated epigenetic heredity requires the cytosine methyltransferase Dnmt2, *PLoS Genet.*, **9**, e1003498, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003498>.
136. Bartel, D. P. (2018) Metazoan microRNAs, *Cell*, **173**, 20-51, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.006>.
137. Truesdell, S. S., Mortensen, R. D., Seo, M., Schroeder, J. C., Lee, J. H., LeTonqueze, O., and Vasudevan, S. (2012) MicroRNA-mediated mRNA translation activation in quiescent cells and oocytes involves recruitment of a nuclear microRNP, *Sci. Rep.*, **2**, 842, <https://doi.org/10.1038/srep00842>.
138. Vasudevan, S., Tong, Y., and Steitz, J. A. (2007) Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation, *Science*, **318**, 1931-1934, <https://doi.org/10.1126/science.1149460>.
139. Cuzin, F., Grandjean, V., and Rassoulzadegan, M. (2008) Inherited variation at the epigenetic level: paramutation from the plant to the mouse, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **18**, 193-196, <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.12.004>.
140. Czene, K., Lichtenstein, P., and Hemminki, K. (2002) Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish family-cancer database, *Int. J. Cancer*, **99**, 260-266, <https://doi.org/10.1002/ijc.10332>.
141. Lesch, B. J., Tothova, Z., Morgan, E. A., Liao, Z., Bronson, R. T., Ebert, B. L., and Page, D. C. (2019) Intergenerational epigenetic inheritance of cancer susceptibility in mammals, *eLife*, **8**, e39380, <https://doi.org/10.7554/eLife.39380>.
142. You, J. S., and Jones, P. A. (2012) Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell*, **22**, 9-20, <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.06.008>.

EPIGENETIC PHENOMENON OF PARAMUTATION IN PLANTS AND ANIMALS

Review

**D. A. Kulikova^{1,2}, A. V. Beshpalova¹, E. S. Zelentsova¹,
M. B. Evgen'ev¹, and S. Yu. Funikov^{1*}**

¹ *Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
119991 Moscow, Russia; e-mail: sergeifunikov@mail.ru*

² *Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, 119334 Moscow, Russia*

The phenomenon of paramutation describes the interaction between two alleles, in which one allele initiates inherited epigenetic conversion of another allele without affecting the DNA sequence. Epigenetic transformations due to paramutation are accompanied by a change in the DNA and/or histone methylation patterns, affecting gene expression. Studies of paramutation in plants and animals have identified small non-coding RNAs as the main effector molecules required for the initiation of epigenetic changes in gene loci. Due to the fact that small non-coding RNAs can be transmitted across generations, the paramutation effect can be inherited and maintained in a population. In this review, we will systematically analyse the examples of paramutation in different living systems described so far, highlighting common and different molecular and genetic aspects of paramutation between organisms, and consider the role of this phenomenon in evolution.

Keywords: epigenetics, non-Mendelian inheritance, small non-coding RNAs, chromatin, gene expression