

РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИМПРИНТИНГА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© *Е. Л. Паткин, И. О. Сучкова*

*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: Patkin@EP4686.spb.edu*

В обзоре обсуждается, каким образом такие эпигенетические модификации, как моноаллельное метилирование ДНК, ковалентные модификации гистонов, негистоновые белки, а также упаковка хроматина и его пространственная организация в ядре, участвуют в установлении и поддержании импринтинга у млекопитающих. Особое внимание уделено роли повторяющихся последовательностей ДНК как важных звеньев в цепи указанных эпигенетических модификаций. Выдвинуто предположение относительно важной роли доимплантационного периода развития, в том числе особенностей организации хромосом и их сегрегации, в установлении импринтинга.

Обсуждаются возможные направления дальнейших исследований механизмов импринтинга у млекопитающих.

Ключевые слова: импринтинг, метилирование, эпигенетика, повторяющиеся последовательности ДНК, хроматин, гетерохроматин, микроРНК, пространственная организация ядра.

Принятые сокращения: ППК — первичные половые клетки, ИКР — импринтингконтролирующий район, Dnmt — ДНК-метилтрансфераза, ДМР — дифференциально метилированный район, ДМД — дифференциально метилированный домен, СХО — сестринские хроматидные обмены, CTCF — СССТС-связывающийся фактор, SINE — короткие диспергированные ядерные элементы, LINE — длинные диспергированные ядерные элементы, PRC — Polycomb-репрессорирующие комплексы, HP1 — гетерохроматиновый белок 1, PEV — position effect variegation.

Геномный импринтинг представляет собой эпигенетическое маркирование гена, связанное с родительским происхождением и ведущее к моноаллельной экспрессии и асимметричному межпоколенческому наследованию (Jablonka, Lamb, 2001). Геномный импринтинг был обнаружен 20 лет назад в ходе экспериментов по трансплантации ядер у мышей (McGrath, Solter, 1984; Surani et al., 1984). На сегодняшний день известно около 80 импринтированных генов у мыши, человека и жвачных животных (URL: <http://www.mgu.har.mrc.ac.uk/imprinting/imp-tables.html>; Wilkins, Haig, 2003; Young et al., 2003) и подсчитано, что у млекопитающих должно существовать около 100—300 импринтированных генов (Reik, Walter, 2001a).

Согласно современным представлениям об импринтинге, импринт возникает в гаметогенезе, стабильно наследуется в митозе, стирается в первичных половых клетках (ППК) после установления пола эмбриона, благодаря чему импринтинг может быть обратим в последующих поколениях (Chaillet, 1994; Villar et al., 1995). По-видимому, именно существование импринтированных генов требует для нормального развития диплоидных зародышей обязательного наличия как материнского, так и отцовского геномов. В настоящее время считается, что особенно важен импринтинг для развития плацентарных млекопитающих (Frank et al., 2002; Nemberger et al., 2002; Lin et al., 2003), поскольку многие импринтированные гены играют важную роль в развитии и росте плода. Кроме того, оказалось, что часть таких ге-

нов влияет на поведение (Tilghman, 1999; Reik, Walter, 2001b; Wilkins, Haig, 2003; Young et al., 2003), хотя причина этого пока неизвестна и требует дальнейших исследований.

В ходе поиска механизмов импринтинга на уровне последовательности ДНК было показано, что с импринтированными генами связано увеличенное число CpG-островков (Paulsen et al., 2000), обуславливающих их дифференциальное метилирование (Neumann et al., 1995). Около или внутри таких островков часто обнаруживается кластеризованность прямых повторов (Delaval, Feil, 2004). Высказывалось предположение о том, что для импринтированных генов, по крайней мере у человека, характерно небольшое число коротких интронов (Hurst et al., 1996), однако, эта гипотеза была опровергнута после обнаружения гена *KCNQ1*, содержащего необычайно протяженные интроны (Shemer et al., 1997).

Исследования на трансгенных животных дали возможность идентифицировать участки ДНК, существенные для экспрессии импринтированных генов. Такие участки были названы импринтингконтролирующими районами (ИКР, ICR), активность которых регулируется при помощи эпигенетических модификаций. ИКР имеют длину до нескольких тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.) и обогащены CpG-динуклеотидами (многие из которых ответственны за CpG-островки). Отличительной чертой ИКР является их метилирование на одной из родительских аллелей, необходимое для осуществления дифференциальной экспрессии импринтированных генов.

В этом процессе, как становится ясно в последнее время, участвует ряд негистоновых белков и модификаций аминокислот в составе гистонов. Моноаллельное метилирование импринтированных генов происходит в основном в оогенезе, а для части генов — в сперматогенезе. После оплодотворения маркировка аллельного метилирования сохраняется в онтогенезе, обеспечивая импринтированную экспрессию таких генов.

Изучение импринтинга и вообще моноаллельно экспрессирующихся генов особенно важно в связи с тем, что функциональная гаплоидия элиминирует защитную функцию диплоидии против рецессивных мутаций (Murphy, Jirtle, 2003). Более того, сложные эпигенетические механизмы, регулирующие моноаллельную экспрессию импринтированных генов, подвержены дерегулированию на многих уровнях, поэтому импринтированные районы генома связаны с рядом различных отклонений в развитии, возникающих из-за нарушений в регуляции, изменения дозы генов или мутаций в них. Так как импринтированные гены кластеризованы и их экспрессия координированно регулируется специфическими для каждого импринтированного домена ИКР, единичные генетические или эпигенетические изменения этих ключевых районов могут вести к нарушению работы сразу многих генов, приводя ко многим заболеваниям (Walter, Paulsen, 2003). Так, с аберрантной экспрессией ряда импринтированных генов связаны такие заболевания человека, как синдромы Бэквита—Видемана, Прадера-Вилли и Ангельмана (Пузырев, Назаренко, 1997; Немцова, 2000; Конюхов, Платонов, 2001; Paulsen, Ferguson-Smith, 2001).

Несмотря на интенсивные исследования импринтинга в последнее время, все еще остается ряд нерешенных вопросов, касающихся природы импринтинга (Ferguson-Smith et al., 2003): каков механизм импринтинга, как транскрипционный аппарат клетки различает между собой две родительские гомологичные хромосомы, какова функция импринтинга, какого типа (с точки зрения особенностей кодируемого продукта) гены регулируются таким способом, какие специфические черты генома обеспечивают эту форму эпигенетического контроля? Остается также неясной относительная роль гаметогенеза и эмбриогенеза в установлении и поддержании картины импринтинга.

В настоящем обзоре рассмотрены регуляторные механизмы установления импринтинга и экспрессии импринтированных генов в рамках концепции, согласно которой регуляция эукариотического генома осуществляется на трех иерархических уровнях (Van Driel et al., 2003). Первый уровень — это линейная организация транскрипционных единиц и регуляторных последовательностей (рис. 1, I); здесь регулируемые в ходе развития гены организованы в кластеры, составляющие индивидуальные функциональные единицы. Второй уровень — уровень хроматина (рис. 1, II), который обеспечивает переключение между различными функциональными состояниями, например от состояния, подавляющего транскрипцию, к состоянию, активизирующему ее. Такое переключение, вероятно, происходит на уровне кластеров генов, включая изменения хроматиновой структуры, контролируемые в свою очередь взаимодействием между модификациями гистонов, метилированием ДНК и разнообразными репрессирующими и активирующими механизмами. Этот регуляторный уровень сочетается с контролирующими механизмами, включающими или выключающими отдельные гены в составе кластеров в

зависимости от состояния промотора. Наконец, третий уровень — это уровень ядра (рис. 1, III), который включает динамическую 3D пространственную организацию генома в клеточном ядре. При этом надо иметь в виду, что на каждом из этих иерархических уровней решающее значение могут иметь эпигенетические механизмы регуляции. Например, ядро структурно и функционально компартментализировано, и эпигенетическая регуляция генной экспрессии может включать перемещение локусов в ядре при изменении крупных хроматиновых структур.

Линейная организация транскрипционных единиц и регуляторных последовательностей в импринтированных доменах

Особенности метилирования ДНК при импринтинге.

Нуклеотидные последовательности двух аллелей импринтированных генов, не считая обычных полиморфизмов, идентичны. Таким образом, маркировка импринтированных генов должна быть по своей природе эпигенетической. Эпигенетические изменения определяют обычно как модификации, вызывающие наследуемые изменения в генной экспрессии, не сопровождаемые изменениями последовательности ДНК. Одна из таких модификаций — метилирование ДНК в динуклеотидах цитозин-гуанин (CpG) — существуют практически у всех позвоночных, многих беспозвоночных и у многих видов растений (хотя у последних могут быть метилированы и другие нуклеотиды) (Robinson et al., 2004; Shiota 2004; Ванюшин, 2005). Даже у *Drosophila*, у которой, как считалось в течение многих лет, не происходит метилирования ДНК, недавно была установлена невысокая степень метилирования (Lyko et al., 1999). Как правило, ДНК транскрипционно неактивных генов метилирована в большей степени, чем активных, при этом деметилирование ДНК реактивирует генную экспрессию *in vivo* и *in vitro* (Shemer et al., 1996; Szyf, 1996). Один из механизмов выключения транскрипции с участием метилирования цитозинового оснований может быть основан на нарушении узнавания и связывания транскрипционных факторов (Bell, Felsenfeld, 2000; Hark et al., 2000; Maier et al., 2003). Другой возможный механизм основан на существовании специфически связывающихся с метилированными CpG динуклеотидами белков, которые взаимодействуют с репрессорами транскрипции и факторами ремоделирования хроматина (Bird, 2002; Li, 2002) (см. ниже).

У млекопитающих существует система ферментов, участвующих в поддержании и установлении специфического для определенных генов уровня метилирования ДНК. Такой уровень метилирования поддерживается при помощи ДНК-метилтрансферазы 1 (Dnmt1), которая реметирует новые нити ДНК при репликации, если матричная нить была метилирована (Bestor, 2000). Это свойство очень важно для поддержания клонального паттерна метилирования, что в свою очередь особенно существенно, например, в импринтинге. Кроме того, неметилированная ДНК может быть также метилирована *de novo* при помощи ферментов Dnmt3a, Dnmt3b, Dnmt3L, а возможно, и других (Bestor, 2000; Bourc'his et al., 2001; Lee, 2003).

Метилирование ДНК, как уже упоминалось, является эпигенетическим регулятором генной экспрессии и

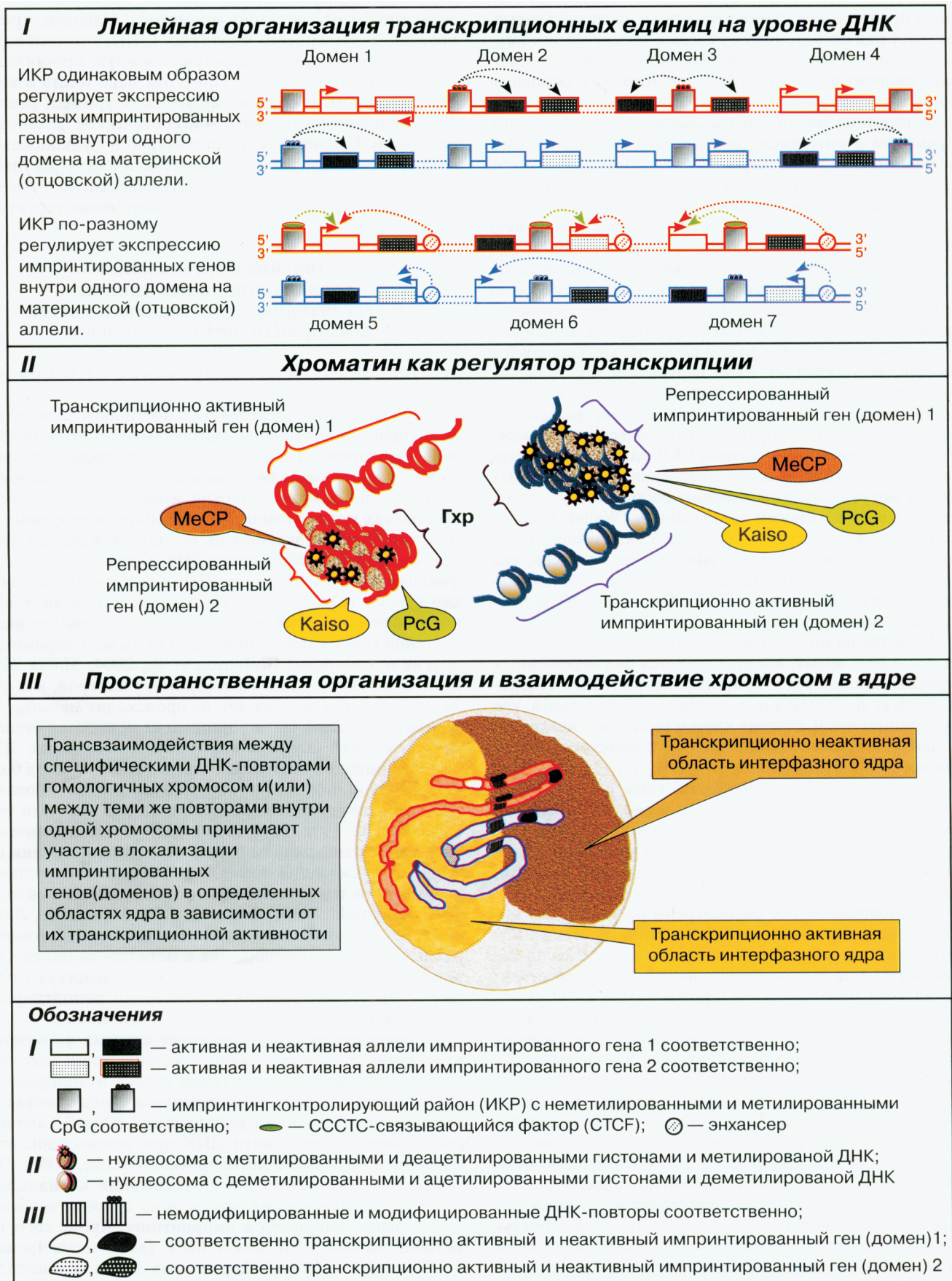


Рис. 1. Уровни (I–III) регуляции геномного импринтинга у млекопитающих.

Красным цветом обозначена материнская аллель (хромосома), синим — отцовская аллель (хромосома). Гхр — гетерохроматин. В цветных овалах указаны белки, участвующие в формировании репрессированного хроматина: PcG — белки Polycomb, MeCP — метил-CpG-связывающие белки, белок Kaiso.

выступает в качестве важной молекулярной метки, лежащей в основе поддержания клеточной памяти (Wolffe, Matzke, 1999; Bird, 2002; Саложин и др., 2005), в том числе родитель-специфической экспрессии генов, подверженных геномному импринтингу (Reik, Walter, 2001a). Для обеспечения дифференциальной экспрессии импринтированных генов определенное эпигенетическое маркирование должно различать отцовские и материнские аллели. Для всех импринтированных генов, изученных к настоящему времени, характерно наличие дифференциально метилированных районов (ДМР, DMR) (Recillas-Targa, 2002), которые также называют дифференциально метилированными доменами (ДМД, DMD) и часто рассматривают как идентичные ИКР (Constancia et al., 1998). ДМР представляют собой дискретные участки ДНК, метилированные либо только на отцовской, либо на материнской хромосоме (Delaval, Feil, 2004). Такие районы могут быть локализованы как внутри гена, так и за его пределами, являются достаточно протяженными, характеризуются наличием специализированного центра дифференциального метилирования ДНК, отличаются гиперчувствительностью к нуклеазам (Szabo et al., 1998; Pauler et al., 2005). Несколько ДМД было изучено достаточно подробно, включая ДМД2 гена *Igf2r*, ДМД генов *Snrpn* и *H19*. Так, ДМД2 гена *Igf2r* локализован во втором интроне *Igf2r*, величина его около 3 т.п.н., он содержит 28 CpG-динуклеотидов (Stoger et al., 1993). CpG-динуклеотиды ДМД2 метилированы на материнской аллели и не метилированы на отцовской. ДМД гена *Snrpn* включает в себя промоторные последовательности, весь первый экзон и первый интрон гена и составляет около 6 т.п.н. (Shemer et al., 1997; Blaydes et al., 1999). Подобно ДМД2 гена *Igf2r* ДМД гена *Snrpn* сильно метилирован на материнской аллели и не метилирован на отцовской. В противоположность этому ДМД гена *H19* (около 2 т.п.н. величиной) находится на 5'-конце промоторной последовательности, его CpG-динуклеотиды метилируются исключительно в сперматогенезе (Tremblay et al., 1997). Нельзя исключать того, что противоположный характер метилирования аллелей импринтированных генов в одном домене может быть связан с локализацией ДМД на 5'- либо на 3'-конце антипараллельных нитей ДНК, как было показано для генов *H19* и *Igf2* (Engel et al., 2004). На роль ДМД в поддержании импринтинга указывают также результаты экспериментов, показавшие, что делеция ДМД эндогенных импринтированных локусов приводит к исчезновению эпигенетических различий между материнскими и отцовскими аллелями (Thorvaldsen et al., 1998; Yang et al., 1998; Wagner, 2001). Было также установлено, что дефицит метилирования ведет к aberrантной регуляции существенной части эндогенных генов (Walsh et al., 1998; Walsh, Bestor, 1999; Bird, 2002), включая импринтированные (Jackson-Grusby et al., 2001). Еще одним существенным свидетельством роли метилирования в установлении правильной картины импринтинга явилось его нарушение при клонировании. Так, проводили исследование роли импринтированных генов при часто возникающих во время клонирования чрезмерном росте плода и гипертрофии плаценты. При этом наблюдалось неправильное репрограммирование двух (*H19* и *Igf2*) из восьми изученных (*H19*, *Igf2*, *Igf2r*, *Air*, *Peg1/Mest*, *Peg3* и *Nuronalin*) импринтированных генов, заключавшееся в нарушении нормального уровня метилирования в ДМР этих генов у плода (Ogawa et al., 2003). Все вышесказанное указывает на важность исследова-

ния особенностей установления картины метилирования импринтированных генов в целом и их ДМД, в первую очередь в ходе гаметогенеза и раннего эмбриогенеза. В этой связи надо учитывать существенные различия в формировании половых клеток у самцов и самок.

Стирание, установление и поддержание импринтинга являются динамическими процессами, которые должны правильно репрограммироваться при каждом репродуктивном цикле. Первичные половые (зародышевые) клетки (ППК, primordial germ cells — PGCs) возникают как небольшая популяция, обычно на самых ранних стадиях эмбриогенеза в различных частях эмбриона у разных видов. У большинства видов зародышевые клетки затем мигрируют сквозь ткани эмбриона, чтобы вместе со вспомогательными соматическими клетками образовать функциональную гонаду (Wylie, 2000; McLaren, 2002; Hubbard, Pera, 2003). Исследования на мышах указывают на то, что стирание импринта происходит в период вхождения первичных зародышевых клеток в гонаду (Kato et al., 1999; Hajkova et al., 2002; Lee et al., 2002; Szabo et al., 2002). Новый пол-специфический импринт устанавливается на более поздних стадиях гаметогенеза, различаясь при этом по времени его установления между двумя зародышевыми линиями.

В женских зародышевых клетках паттерн метилирования приобретает постнатально, после завершения пахитенной фазы мейоза, во время фазы роста ооцита (Brandeis et al., 1993; Stoger et al., 1993; Walsh et al., 1998; Kono et al., 2000; Lucifero et al., 2002). В противоположность этому у самцов геномное метилирование начинается перед рождением в просперматогониях и завершается после рождения перед концом пахитены (Walsh et al., 1998; Ueda et al., 2000; Lees-Murdock et al., 2003). Установление новой картины метилирования генома в дифференцирующихся гаметах осуществляется в ооцитах при помощи метилтрансфераз Dnmt3a, Dnmt3b и Dnmt3-подобной Dnmt3L (Bourc'his et al., 2001; Hata et al., 2002). В мужском гаметогенезе экспрессируются Dnmt3a и Dnmt3L (Hata et al., 2002), причем наблюдается взаимодействие этих двух метилтрансфераз, что необходимо для метилирования de novo во время пренатальной стадии сперматогенеза (La Salle et al., 2004). В оогенезе для таких импринтированных генов, как *Snrpn*, *Igf2r*, *Peg1* и *Peg3*, локализованных в различных хромосомных районах, метилирование происходит для каждого из исследованных генов асинхронно во время постнатальной фазы роста ооцитов, совпадая во времени с накоплением транскриптов *Dnmt3a*, *Dnmt3b* и *Dnmt3L* (Lucifero et al., 2004). Авторы предполагают, что такое ген-специфичное «расписание» метилирования обусловлено именно локализацией в различных импринтированных локусах и, возможно, определяется специфическим хроматиновым окружением (см. также ниже). Эти данные подтверждают ранние предположения о метилировании de novo в гаметогенезе, но его механизм может быть в определенной степени различным для различных импринтированных генов в зависимости, например, от хромосомного контекста.

После оплодотворения происходит деметилирование генома (Monk et al., 1987; Howlet, Reik, 1991; Паткин, Сорокин, 1992; Kafri et al., 1992). При этом сильно метилированный отцовский геном претерпевает активное деметилирование в мужском пронуклеусе, хотя механизм такого деметилирования остается неизвестным (Mayer et al., 2000; Oswald et al., 2000). Материнский же геном де-

метилируется пассивно в ходе последующих делений дробления (Howlett, Reik, 1991; Kafri et al., 1992; Rougier et al., 1998), видимо, за счет дефицита метилазы поддержания Dnmt1, поскольку ее активность падает в ходе делений дробления и перестает выявляться после имплантации (Mertineit et al., 1998). Была также описана ооцит-специфичная изоформа DNMT1 (DNMT1_o), отличная по аминокислотному составу от соматической изоформы DNMT1 (Carlson et al., 1992; Mertineit et al., 1998). На стадии бластоцисты большая часть генома гипометилирована, но некоторые последовательности, такие как импринтированные гены, IAP-ретропозоны и, возможно, другие повторяющиеся последовательности, сохраняют свое гаметическое маркирование (Olek, Walter, 1997; Shemer et al., 1997; Tremblay et al., 1997; Reik, Walter, 2001b; Lane et al., 2003). Надо, однако, учитывать данные относительно деметилирования импринтированных генов после оплодотворения, указывающие на важную роль доимплантационного периода развития в установлении картины импринтинга импринтированных генов. Оказалось, что ДМР1 и ДМР2 отцовской аллели гена *Igf2* деметилируются не в ППК, а после оплодотворения, на стадии зиготы, путем активного деметилирования (Oswald et al., 2000; Lopes et al., 2003), а также в ходе нескольких делений дробления с участием пассивного деметилирования (Lopes et al., 2003). Эти данные согласуются с предположениями о том, что для большей части отцовских импринтированных генов репрограммирование их уровня метилирования происходит в ранних зародышах (Reik, Walter, 2001b). Кроме того, при описании динамики метилирования импринтированных генов следует учитывать и некоторые данные по организации хроматина метафазных хромосом (Patkin et al., 1994) и картине метилирования хромосомной ДНК у доимплантационных зародышей (Patkin, 1997; Patkin et al., 1998; Rougier et al., 1998). В этих работах было показано, что сестринские хроматиды всех хромосом набора различаются между собой по уровню метилирования и что, кроме того, наблюдается повышенный уровень сестринских хроматидных обменов (СХО) в сравнении с таковым в дефинитивных клетках. Таким образом, кластеры гомологичных аллелей перед расхождением сестринских хроматид в митозе должны различаться по уровню их метилирования. Как следствие этого в дочерних клетках может оказаться, что либо обе аллели (оба кластера) гомологичных импринтированных генов не метилированы, либо наоборот, метилированы. Это в свою очередь может объяснить потерю импринтинга за счет биаллельной экспрессии в первом случае либо, наоборот, инактивации обеих аллелей импринтированных генов — во втором. Потеря же импринтинга может служить причиной развития ряда патологий, связанных с его потерей (Mutter, 1997; Walter, Paulsen, 2003). В пользу предположения относительно роли асимметричности метилирования сестринских хроматид у доимплантационных зародышей (до формирования популяции ППК) в установлении картины импринтинга указывают известные данные о прародительском эффекте, проявляющемся в отклонении от менделевского расщепления при наследовании мутантных (эпимутантных) импринтированных генов (Naumova et al., 1998; Pravtcheva, Wise, 2003). Такого рода отклонения чаще всего приписывают пренатальной гибели зародышей с aberrантно импринтированными генами (Naumova et al., 1998), которые, как указано выше, необходимы для нормального развития. Кроме того,

можно предположить, что СХО между дифференциально метилированными хроматидами у доимплантационных зародышей до выделения линий стволовых клеток могут участвовать в установлении тканеспецифичной картины импринтинга, но это требует дальнейших исследований.

Пока остаются неясными причины, по которым в ходе гаметогенеза CpG-последовательности в импринтированных генах дифференциально притягивают метильные группы в зависимости от пола. Для объяснения этого были предложены две модели (Sleutels, Barlow, 2001). Согласно одной из них, предполагается наличие специализированной последовательности, которая либо отталкивает, либо притягивает ферменты, метилирующие CpG-динуклеотиды *de novo* в гаметах определенного пола. Согласно второй модели, должны существовать прямые повторы, действительно найденные в ряде импринтированных генов, способные притягивать аппарат метилирования в гаметах благодаря образованию необычных вторичных структур.

Повторяющиеся последовательности ДНК и импринтированные гены. Повторяющиеся последовательности ДНК и метилирование цитозина характерны для большинства эукариотических геномов и часто оказываются связанными друг с другом, хотя механизмы такой взаимосвязи далеки от ясности. Так, например, у млекопитающих высокий уровень копийности трансгена вызывал метилирование трансгена и одновременно выключение его транскрипции (Garrick et al., 1998). Была выдвинута гипотеза о том, что существуют определенные последовательности ДНК, которые могут служить в качестве аттрактантов аппарата метилирования (Turker, 1999), и такими аттрактантами являются повторяющиеся элементы ДНК (Selker, 1999; Martienssen, Colot, 2001). При этом некоторые классы повторяющихся элементов, существующих даже временно в качестве дифференциально метилированных районов, могут оказывать эпигенетическое влияние на соседние и отдаленные последовательности и гены. Действительно, по крайней мере некоторые импринтированные гены содержат дифференциально метилированные tandemные повторы и ретровирус-подобные последовательности по соседству со многими импринтированными генами или ИКР (Neumann et al., 1995; Charlier et al., 2001). Интересно отметить в этой связи, что ген *Peg10*, происходящий от ретротранспозона, сам по себе импринтирован (Ono et al., 2001). В более широком аспекте надо отметить, что взаимодействие между повторяющимися последовательностями ДНК, локализованными вне ИКР, может запускать формирование и перенос неактивных генетических состояний и модификаций на участки генома, локализованные на гомологичных (и не только) хромосомах, индуцируя родительское метилирование в ИКР импринтированных генов (Herman et al., 2003) (см. ниже).

Первые доказательства наличия цисдействующих контролирующих элементов импринтинга были получены при исследовании импринтированного трансгена *RSVlgrnyc* (Chaillet et al., 1995). Так, при делеции кластера прямых повторов в районе $S\alpha$ этого импринтированного гена трансген становился метилированным при передаче как от отца, так и от матери, и импринтирование терялось. Кроме того, делеции повторов в ДМР трансгена *H19* и *Igf2r* (Wutz et al., 1997) и в ДМР эндогенного импринтированного гена *Snrpn* мыши (Yang et al., 1998) приводили к нарушению правильной картины имприн-

тинга. Была также обнаружена коррелятивная связь между импринтингом и наличием повторов для импринтированных генов *U2af1rs1* (Pearsall et al., 1996), *Snrpn* (Gabriel et al., 1998), *Rasgrf1* (Shibata et al., 1998; Pearsall et al., 1999; Yoon et al., 2002). При этом для гена *Rasgrf1* была показана необходимость таких повторов, локализованных непосредственно за ДМР, для правильного установления дифференциального паттерна метилирования и экспрессии. Кроме того, наличие прямых повторов коррелировало с импринтированным характером экспрессии гена *Impact* у мышей в отличие от его человеческого ортолога, у которого такие повторы отсутствовали (Okamura et al., 2000). Такого рода данные указывают на роль прямых повторов в составе GC-богатых последовательностей в качестве ключевого элемента, обуславливающего формирование и регуляцию ДМР, связанного с импринтингом (Neumann et al., 1995).

Надо отметить, что имеются данные противоположного рода. Так, делеция прямых G-богатых повторов импринтированного эндогенного домена *Igf2/H19* (Reed et al., 2001), а также отсутствие такого повтора в трансгене *H19* (Stadnick et al., 1999) не влияли на характер экспрессии *H19*, из чего авторы делают вывод о том, что прямой повтор не важен для импринтинга *H19*. С другой стороны, на роль повторов в регуляции импринтинга указывают и опубликованные недавно данные (Engel et al., 2004); авторы исследовали ДМД, регулирующий реципрокный импринтинг сцепленных генов *H19* (транскрибируется с материнской аллели) и *Igf2* (транскрибируется с отцовской аллели). Данный ДМД является чувствительным к метилированию инсулятором (инсулятор — это последовательность ДНК, которая непосредственно не влияет на активность промотора *per se*, но блокирует активацию промотора энхансером, находясь между ними), локализованным между этими генами, и при наследовании от матери он гипометилирован, приводя к экспрессии *H19*, а при наследовании от отца — гиперметилирован, приводя к экспрессии *Igf2*. Эти же авторы (Engel et al., 2004) получили точковые мутации в ДМР, уменьшив количество CpG в составе GC-богатого небольшого повтора в этом ДМР. При этом материнское наследование мутаций сохраняло экспрессию *H19* и импринтинг *Igf2* в соответствии с предполагаемой ролью ДМР как инсулятора. И наоборот, отцовское наследование этих мутаций нарушало поддержание уровня метилирования ДМР, приводя к биаллельной экспрессии мутированной аллели *H19 in vivo* и одновременно к уменьшению экспрессии гена *Igf2*. Таким образом, авторы показали, что зависимое от пола родителя поддержание метилирования и формирование ДМР гена *H19* являются антагонистическими и связаны с наличием небольших GC-богатых повторов.

Из приведенных данных следует, что небольшие GC-богатые повторы в составе кластеров импринтированных генов так или иначе связаны с формированием и функцией ДМР. Каким образом повторы могут приводить к формированию ДМР в импринтированных генах и их кластерах, пока неясно. Согласно одной из наиболее распространенных гипотез, метилирование функционирует в качестве «выключателя» (silencer) паразитических последовательностей (Bestor, Tusko, 1996; Bestor, 1998). При этом повторы как часть транспозонов могут быть ответственны за привлечение аппарата метилирования к последовательностям ДНК в составе потенциальных ДМР (Barlow, 1993). В пользу данной гипотезы говорит

то, что импринтированные гены могут происходить от ретропозонов, как, например, гены *Ins1*, *U2af1rs1* и *Peg10* (Giddings et al., 1994; Nabetani et al., 1997; Ono et al., 2001). На уровне ДНК такие повторы, возможно, прямо влияют на генную экспрессию через формирование гетерохроматиновых районов или(и) нестандартной конформации ДНК (Pearsall et al., 1999; Гайццоки, Паткин, 2000). Не исключено, что определенные повторяющиеся последовательности привлекают трансдействующие факторы лишь в одну из зародышевых линий и тем самым индуцируют пол-специфическое метилирование (Delaval, Feil, 2004). Так, белок «цинковый палец» CTCF (CCCTC-связывающийся фактор) связывается с четырьмя GC-богатыми повторами в ДМР генов *H19/Igf2* на материнской аллели (Bell, Felsenfeld, 2000; Hark et al., 2000), тогда как на отцовской аллели эти повторы притягивают метильные группы (Bartolomei et al., 1993; Davis et al., 1999).

Кроме исследования роли простых нетранскрибируемых повторов в импринтинге большое внимание уделяется потенциальной связи импринтинга и коротких (SINE) и длинных (LINE) диспергированных ядерных элементов генома. Это обусловлено, во-первых, их транспозон- и ретротранспозон-подобной природой, во-вторых, возможной функцией метилирования в качестве системы защиты от такого рода «паразитических» элементов и, в-третьих, обнаруженной обогащенностью LINE элементами X-хромосомы млекопитающих (Bailey et al., 2000), которая, как известно, подвергается импринтингу в клетках внезародышевых оболочек (Avner, Heard, 2001). LINEs являются в основном усеченными производными транспозонов, имеют размер 6—7 т.п.н. (Smith et al., 1995) и концентрируются большей частью в хромосомных G-сегментах (Holmquist, 1989) и в L1- и L2-изохорах (Pavlicek et al., 2001). SINEs (их длина менее 350 п.н.) локализованы преимущественно в хромосомных R-сегментах (Holmquist, 1989) и H3- и H4-изохорах (Pavlicek et al., 2001).

Обнаружено, что у мышей (Boyle et al., 1990) и человека (Korenberg, Rykowski, 1988) инактивация генов коррелирует с высокой плотностью LINEs. Это наблюдение привело к выдвигению гипотезы о том, что LINEs является своего рода «промежуточными станциями» (Lyop, 1998), которые способствуют распространению процесса инактивации на все кластеры генов, локализованных на X-хромосоме, путем формирования гетерохроматина, что и было в дальнейшем подтверждено (Bailey et al., 2000). Высокая плотность элементов LINE-1 около инактивированных генов, локализованных на X-хромосоме, привела к предположению о том, что и моноаллельно экспрессирующиеся гены также могут быть фланкированы повторяющимися последовательностями с высокой плотностью (Allen et al., 2003). Действительно, оказалось, что для районов, фланкирующих моноаллельно экспрессирующиеся аутомные гены, характерны высокая плотность последовательностей LINE-1, меньшее число усеченных LINE-1-элементов и еще меньшее число CpG-островков и SINE-элементов в сравнении с биаллельными генами (Allen et al., 2003). Для импринтированных генов характерно значительно уменьшенное количество SINEs в сравнении с биаллельно экспрессирующимися генами (Ke et al., 2002), хотя некоторые авторы указывают, что в импринтированных генах вообще нет SINEs (Greally, 2002). Так, у человека было обнаружено уменьшенное число SINE-Alu-повторов как при отцовском, так и при материнском наследовании активных аллелей импринтированных генов (Greally, 2002).

Тогда как у мыши уменьшение числа SINEs наблюдалось только при отцовском наследовании активной импринтированной аллели, в случае же аллелей, экспрессирующихся при материнской передаче, значительно снижалось число только SINE-B2 при одновременном увеличении количества SINE-B4 и SINE-ID-элементов (Ke et al., 2002). Недавно показано (Sandovici et al., 2005), что существует корреляция между импринтированностью генов и уровнем метилирования генов *ICF2/H19* и *ICF2R* и количественными различиями в уровне метилирования Alu-повторов, но лежащих не в районах локализации импринтированных доменов, а в субтеломерных и прицентромерных районах. Эти данные указывают на хотя еще неясную, но определенную роль эпигенетических модификаций повторов в гетерохроматиновых районах в регуляции импринтинга, возможно связанную с пространственной организацией ядра (см. ниже).

Исследование еще одного типа повторяющейся ретровирус-подобной последовательности IAP показало, что ее метилирование осуществляется при участии тех же метилтрансфераз (*Dnmt3a*, *Dnmt3b* и *Dnmt3L*), что ответственны за формирование ДМР импринтированных генов *Snrpn*, *Igf2r*, *Peg1* и *Peg3* во время роста ооцитов (Lucifero et al., 2004). Таким образом, последовательности со свойствами «чужой» ДНК могут узнаваться компонентами системы метилирования, осуществляющими аллель-специфическое метилирование, возможно, давая начало импринтингу. В пользу такого предположения говорят данные о том, что экспрессия аллели локуса *ago-uti* (yellow) у мыши зависит от родительского происхождения, что связано с наличием соседнего ретровирусного элемента IAP, подобно тому что наблюдается при импринтинге (Morgan et al., 1999). Кроме того, оказалось, что в данной системе может наблюдаться некоторое варьирование фенотипа у потомков, несущих IAP. В дальнейшем было показано, что подобная картина варьирования экспрессивности и неполной пенетрантности может наблюдаться для гена *axin-fused* (*Axin^{Fu}*), который не является импринтированным (Morgan et al., 2003). Оказалось, что такое варьирование обусловлено наличием внутри *Axin^{Fu}* ретротранспозона с изменчивым паттерном метилирования (Rakyan et al., 2003; Seitz et al., 2003). Возможно, что такая вариабельность экспрессии обусловлена тем, что для различных генов различна степень повторяемости и уровня метилирования таких IAP-элементов, но это требует дальнейшего изучения. В связи с возможной ролью в установлении импринтинга интересно отметить различия в характере деметилирования *Line1*- и IAP-семейств повторов во время доимплантационного развития и в ППК. Так, *Line1*-элементы существенно деметилировались в обоих случаях, тогда как IAP-элементы были в основном резистентны к деметилированию, особенно в доимплантационный период (Lane et al., 2003). Такое отсутствие деметилирования IAP может быть необходимо для предотвращения ретротранспозиции этого элемента, которое может вызывать эпимутации (абберрантное эпигенетическое состояние). Нарушение картины метилирования IAP может вести к межгенерационному наследованию эпигенетического состояния IAP-элементов, что в свою очередь может приводить к наследуемым эпимутациям соседних генов, влияя на их транскрипционное состояние (Morgan et al., 1999).

Таким образом, существует тесная связь между цисрегуляцией дифференциальной транскрипции материнских и отцовских аллелей импринтированных генов,

формированием ДМР, локализацией и повторяемостью *LINE*-, *SINE*- и *IAP*-элементов. В связи с указанными наблюдениями обсуждается вопрос о причинно-следственной связи между неслучайным накоплением мобильных элементов и эпигенетической регуляцией генной экспрессии (Fazzari, Grealley, 2004). Однако, как и в случае простых повторов, рассмотренных ранее, механизм такой регуляции требует дальнейших исследований, например с помощью введения в геном различных повторов. В любом случае наиболее вероятно, что различные типы повторов участвуют в импринтинге через формирование особой, вероятно гетерохроматиновой (гетерохроматин-подобной), структуры хроматина и(или) пространственной организации ядра.

Роль структуры хроматина в регуляции импринтинга

Как уже указывалось, импринтированные гены организованы в хромосомные домены, поэтому становится понятной потенциальная роль структуры хроматина в регуляции импринтинга, а именно в выключении транскрипции на одной из хромосом. На сегодняшний день исследование этого вопроса только начинается, и многие положения, скорее, носят характер гипотез. Полученные в последнее время данные указывают на участие в регуляции импринтинга наряду с кодом ДНК так называемого гистонового кода, т. е. гетерогенного набора индивидуализированных нуклеосом, которые клетка воспринимает как читаемый код генома для клеточного аппарата, осуществляющего различные процессы (Strahl, Allis, 2000). Такой код формируется за счет постсинтетических комбинаций N-терминальных модификаций аминокислотных «хвостов» гистонов, таких как ацетилирование (Ogryzko, 2001), метилирование (Rea et al., 2000) и фосфорилирование (Novak, Corces, 2004). Локализация таких «хвостов» вне относительно компактных хроматиновых нитей делает их легко доступными для ковалентных посттрансляционных модификаций, которые могут либо менять локальную плотность зарядов в окружении хроматиновой нити, либо действовать как субстрат для связывания факторов, ремоделирующих хроматин, и(или) транскрипционных факторов, тем самым регулируя генную экспрессию (Turner, 1998; Strahl, Allis, 2000).

Метилирование ДНК, скорее всего, играет ключевую роль во взаимодействии обоих типов кодов в составе хроматина и, возможно, в организации пространственной структуры ядра (см. ниже). Модели репрессии транскрипции с участием метилирования ДНК, как сейчас считают, могут быть подразделены на две категории (Bird, 2002; Richards, Elgin, 2002). Согласно одной из них, метильные группы препятствуют связыванию регуляторного белка с соответствующей последовательностью ДНК, при этом основная роль отводится негистоновым белкам (Richards, 2002; Hashimshony et al., 2003). Это предположение основано на существовании многих факторов, специфически связывающихся с CpG-содержащими последовательностями, связывание которых нарушается при метилировании CpG-динуклеотидов. Наиболее убедительно такого рода механизм был показан в исследовании роли уже упомянутого белка CTCF в импринтинге *H19/Igf2* локуса у мышей (Bell, Felsenfeld 2000; Hark et al., 2000; Szabo et al., 2000; Holmgren et al., 2001). Согласно этим данным, CTCF может выступать в качестве

ве инсультатора в кластере *H19/Igf2*, снимая действие отдаленных энхансеров. При этом полученная от матери аллель гена *Igf2* инактивирована благодаря связыванию CTCF с ИКР и блокированию взаимодействия между промотором гена и нижележащим энхансером. В отцовском же локусе эти CpG-богатые сайты метилированы и CTCF не связывается, что позволяет энхансеру активировать экспрессию *Igf2*. В недавних исследованиях механизм взаимодействия между CTCF и метилированием ДНК в ИКР был исследован более подробно. Для предотвращения связывания CTCF были получены две точечные мутации в ИКР (Pant et al., 2003; Schoenherr et al., 2003). Прохождение через женскую зародышевую линию в этом случае приводило к aberrантному метилированию материнской аллели. Гипотеза относительно возможности CTCF предотвращать метилирование ДНК в женской зародышевой линии была подтверждена в исследовании с использованием подхода, основанного на выключении экспрессии CTCF с помощью трансгенноза интерферирующей РНК (RNAi) (Cluster et al., 2004). Надо также отметить данные относительно функционирования CTCF в мужской зародышевой линии (Loukinov et al., 2002). Авторы выделили из клеток семенников и охарактеризовали ген, паралогичный гену CTCF, с аналогичной экзонной структурой кодирования 11-го домена «циповый палец» и тем же потенциалом связывания с ДНК, но с отличными аминными и карбоксильными окончаниями. Авторы дали этому гену название *BORIS* (Brother of the Regulator of Imprinted Sites). *BORIS* экспрессируется только в ходе развития мужских половых клеток в семенниках, причем взаимно исключаящим способом с CTCF. Стирание метилирования в ходе развития мужской зародышевой линии было связано с разительным увеличением экспрессии гена *BORIS* и соответственно с уменьшением экспрессии гена CTCF. С учетом наличия в белке *BORIS* того же домена, что и в CTCF, который отвечает за узнавание метильной метки ДНК, этот белок является, как считают авторы, возможным кандидатом на роль пока неуловимого фактора эпигенетического репрограммирования в мужской зародышевой линии. Таким образом, данные относительно функционирования CTCF и *BORIS* в оогенезе и сперматогенезе соответственно важны для объяснения одной из наиболее трудноразрешимых загадок импринтинга, а именно механизма установления различий между отцовскими и материнскими аллелями в гаметогенезе. Следует отметить, что CTCF как мультифункциональный белок может принимать участие не только в дифференциальном маркировании аллелей импринтированных генов, но и, по-видимому, играть роль в регуляции их ткане- и пол-специфической экспрессии за счет дифференциального прочтения «метки» (Arnaud, 2003; Hikichi et al., 2003). Согласно другой модели, в репрессии транскрипции участвуют белки также негистоновой природы, которые скорее привлекаются, а не отталкиваются метильными CpG-группами. Такие белки могут служить лигандами для метил-CpG-связывающихся белков группы MeCP (MBD1, MBD2, MBD3, MeCP2 и MeCP1), содержащих район, гомологичный метил-CpG-связывающему домену (MBD) белка MeCP2 (Cross et al., 1997; Nan et al., 1997; Hendrich, Bird, 1998; Bird, Wolffe, 1999). MeCP2 и другие метил-CpG-связывающиеся белки действуют как корепрессоры транскрипции (Bird, Wolffe, 1999). Так, было обнаружено, что MeCP2 вместе с метил-CpG формирует комплекс с гистоновой деацетилазой HDAC (Nan

et al., 1998; Bird, 1999), ведя к репрессии транскрипции. Другой белок из этой группы — MBD1 — формирует стабильный комплекс с метилазой SETDB1, специфичной к лизину 9 гистона H3 (H3—K9), и такой комплекс поддерживается в ходе клеточных делений в гетерохроматиновом состоянии (Sarraf, Stancheva, 2004), также ингибируя экспрессию генов. При этом надо отметить, что различный характер метилирования гистонов связан с различными функциями хроматина, а именно: метилирование H3—K4 связано с активными генами, а метилирование H3—K9 — с неактивными генами (Lachner, Jenuwein, 2002; Hashimshony et al., 2003).

Был также описан не родственный этой группе белок Kaiso, который связывается с метилированной ДНК и ведет к зависящей от метилирования репрессии генов (Prokhortchouk et al., 2001). В пользу участия белка MeCP2 в регуляции импринтинга говорят данные о потере импринтинга генов *Dlx5* и *Dlx6* у мышей с мутацией гена *MeCP2* как следствие нарушения репрессии транскрипции материнских аллелей этих генов путем образования в данном локусе структуры «активного», а не «молчащего» хроматина (Horike et al., 2005). Выключение транскрипции может осуществляться при участии еще одной группы белков, входящих в группу Polycomb (PcG). Белки данной группы организованы в Polycomb-репрессирующие комплексы (PRCs), играющие важную роль в поддержании генов в репрессированном состоянии (Lund, Van Lohuizen, 2004). PRC2-комплекс (раннеэмбриональный PRC) содержит гистоновую метилтрансферазу, добавляющую метильные группы к лизинам в положениях K9 и K27 гистона H3. Комплекс PRC2 может также взаимодействовать с гистоновыми деацетилазами (Otte, Kwaks, 2003). Недавно было показано, что белок Eed (embryonic ectoderm development), относящийся к группе Polycomb, необходим для аллельной генной репрессии в домене *Kcnq1* и нескольких других импринтированных доменах (Mager et al., 2003). В лаборатории R. Feil было показано, что в раннем развитии внезародышевых оболочек имеют место триметилирование лизина H2—K27 и диметилирование лизина H3—K9 вдоль репрессированного отцовского домена *Kcnq1* с участием комплекса Polycomb (Umlauf et al., 2004). Важно отметить, что при этом импринтинг *Kcnq1* во внезародышевых оболочках (но не в самом зародыше) не зависел, как можно было ожидать, от метилирования ДНК промотора, а определялся указанным выше метилированием гистона H3, но в то же время метилирование ДНК было необходимо для импринтинга кластера генов, экспрессирующихся в эмбрионе *per se* (Lewis et al., 2004). Эти данные указывают на важную роль модификаций гистонов, причем различных для различных положений аминокислот в составе гистонов. Возможно, определенную роль в поддержании импринтинга, по крайней мере в ходе ранней дифференцировки, играют антисмысловые некодирующие РНК. При этом в клетке имеет место взаимодействие как гистоновых, так и негистоновых белков с метилированной ДНК, необходимое для поддержания, если и не для первоначального установления, картины импринтинга.

Наличие большого количества метил-CpG-связывающихся белков со свойствами репрессоров экспрессии указывает на них как на важные посредники между сигналом метилирования и функцией, хотя и с неясным пока механизмом действия. Нельзя исключить, что в этом процессе имеет место уменьшение числа нуклеосом в промоторах подобно показанному для активных регу-

ляторных элементов в геноме дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Lee et al., 2004). Эти наблюдения указывают на еще одно важное направление исследований механизма импринтинга на уровне хроматина. Появились прямые свидетельства взаимосвязи между структурой хроматина, включая формирование гетерохроматина, и метилированием ДНК. Так, в опухолевых клетках человека в отсутствие метилтрансферазы DNMT1 наблюдали значительную дезорганизацию ядерной архитектуры и измененную картину модификации гистона H3, проявляющуюся в увеличении по сравнению с нормальными клетками степени ацетилирования и уменьшении диметилирования и триметилирования лизина 9 (Espada et al., 2004). При этом происходила потеря взаимодействия гистоновых деацетилаз и гетерохроматинового белка 1 (HP1) с гистонами H3 и перичентромерными повторяющимися последовательностями (сателлит 2), т. е. DNMT1 участвует в правильной организации больших гетерохроматиновых районов. Показано, что в указанном комплексном взаимодействии участвуют белки PCNA, DMAP1, HDAC1/2 и Rb (Shiota, 2004), участвующие в выключении эухроматиновых локусов. Эти данные указывают на еще одного участника взаимодействия между метилированием ДНК и организацией транскрипционно активного или молчащего хроматина в обеспечении паттерна клеточной памяти экспрессирующихся генов (Shiota, 2004). Действительно, несколько свойств гетерохроматина указывает на него как на потенциального участника процессов, требующих стабильного поддержания экспрессионных состояний в течение длительных периодов (Patkin, 2002; Grewall Moazed, 2003; Spector, 2003), что как раз и необходимо для поддержания импринтинга. Во-первых, гетерохроматиновое состояние эпигенетически стабильно наследуется в ходе многих клеточных делений, что имеет место во многих процессах, связанных с развитием, и может меняться под воздействием внешней среды. Во-вторых, механизм сборки гетерохроматина и распространения гетерохроматина от сайтов нуклеации на окружающие районы ДНК обеспечивает возможность перехода от последовательность-специфического генетического контроля к последовательность-независимому эпигенетическому контролю. Для разных видов живых организмов от дрожжей до млекопитающих показано, что центральную роль в формировании гетерохроматина играют метилированная ДНК, гистоны и их посттрансляционные модификации (Patkin, 2002; Fransz et al., 2003). Почти у всех организмов гетерохроматиновое состояние связано с гипоацетилированием гистонов (Moazed, 2001). Участвует в гетерохроматинизации и ряд трансфакторов, а также энзимов, прямо модифицирующих гистоны (Gasser, Cockell, 2001; Carmen et al., 2002; Noppe et al., 2002). Важно отметить, что модификации гистонов гетерохроматина имеют свойство изменять генную активность не только одного определенного гена, но и распространяться в обе стороны от первоначального сайта модификации гистонов, что было показано на примере промотора гена *Dnnt* (Schlissel, 2004). В контексте данной статьи важно понимание того, каким образом аппарат гетерохроматинизации находит определенный хромосомный домен. Кроме хорошо известной роли в нуклеации гетерохроматина таких специфических регуляторных сайтов, как сайленсеры и сиквенс-специфические ДНК-связывающиеся белки (Rea et al., 2000; Gasser, Cockell, 2001; Le et al., 2004), в данном процессе также важны повторяющиеся элементы

ДНК и некодирующие РНК (Henikoff, 2000; Hsieh, Fire, 2000). В частности, транспозоны и сателлитные повторы, составляющие значительную часть последовательностей ДНК гетерохроматина, являются, как сейчас установлено, предпочтительными мишенями для привлечения аппарата гетерохроматинизации, приводя к инактивации в cis положении соседних и близлежащих генов (Grewall, Moazed, 2003), а также, возможно участвуя в трансвзаимодействиях между хромосомами (см. ниже). На роль гетерохроматинизации в регуляции активности генов в одном из гомологов указывают, хотя и косвенно, данные Савельева и соавторов (Saveliev et al., 2003). Авторы показали, что даже относительно короткие экспансии триплетных повторов CGG и GAA, обнаруживаемые у человека при мышечной дистрофии и атаксии Фридрикса, у мышей ведут к варьированию экспрессии репортерных трансгенов по механизму, подобному классическому, наблюдаемому при PEV (position effect variegation). Мы также наблюдали формирование эктопического гетерохроматина рядом со встроенным в геном клеток эмбриональной тератокарциномы чужеродной сателлитной ДНК (Suchkova et al., 2004). У мышей, трансгенных по этой же последовательности, наблюдался импринтированный характер ее наследования (Сучкова и др., 2004). При этом конкретный механизм такого феномена неизвестен, хотя общепринятым является признание роли именно повторяющейся природы повторов и транспозонов в формировании гетерохроматина (Selker, 1999; Hsieh, Fire, 2000). В инициации гетерохроматинизации в районах повторяющейся ДНК участвуют, как недавно было показано, интерферирующие молекулы РНК (RNAi) (Hall et al., 2002; Grewal, Moazed, 2003; Martienssen, 2003). Интересно в этой связи недавнее обнаружение микроРНК в импринтированном кластере *Dlk1—Gtl2* (Lin et al., 2003; Seitz et al., 2003), хотя точная роль такой РНК еще требует разяснения. Эти микроРНК являются антисмысловыми к ретропозон-подобному гену, экспрессирующемуся с отцовской аллели. Подобное наблюдение относительно роли взаимосвязи между смысловыми (ген *SNURF-SNRPN*) и антисмысловыми (ген *UBE3A*) РНК в регуляции импринтинга было сделано при исследовании синдрома Ангельмана у человека (Runte et al., 2004). Происходит ли в этих случаях гетерохроматинизация (либо микрогетерохроматинизация) дифференциально на отцовских и на материнских аллелях, еще предстоит выяснить. Таким образом, структура хроматина в значительной степени определяет экспрессию, в том числе дифференциальную, для различных аллелей импринтированных генов. Структура хроматина высшего порядка кроме участия в регуляции транскрипции определяет доступность ДНК процессам репликации, рекомбинации и репарации, тем самым являясь критически важной для нормальной клеточной жизнедеятельности.

Пространственная организация и взаимодействие хромосом в ядре

Все большее число данных (Osborn et al., 2004; Parada et al., 2004; Pederson, 2004) указывает на то, что локализация генов в интерфазном ядре не случайна, а определяется как архитектурой ядра, так и взаимодействием хромосом, точный механизм которого далек от ясности. Так, активные гены локализуются в активных ядерных

компартаментах, где сосредоточены РНК-полимеразы и факторы сплайсинга (Cook, 1999), вследствие чего положение в ядре любых генов, в том числе и импринтированных, может значительно влиять на их экспрессию. Действительно, было обнаружено, что транскрипция импринтированного гена *Igf2* зависела от его локализации в различных хроматиновых петлях в пространстве ядра, определяющих его активность (Murrell et al., 2004). Такая зависимость для различных (не только импринтированных) генов, возможно, обуславливает наблюдаемый иногда мозаицизм, связанный с тем, что PEV, теломерный и центромерный позиционные эффекты могут вести к нормальной экспрессии генов в одних клетках и инактивации генов в других (Henikoff, 1992). Возможен и обратный эффект за счет того, что транскрипционные факторы, связываясь с энхансерами, поддерживают гены в активном состоянии, предотвращая формирование структуры репрессирующего транскрипцию хроматина (Walters et al., 1996). Транскрипционная активность гена может также определять время его репликации либо рано, либо поздно в S-фазе в зависимости от ацетилирования гистонов (Vogelauer et al., 2002). За некоторым исключением, большинство транскрипционно активных генов реплицируется в ранней S-фазе, а транскрипционно молчащих — в поздней. Это наблюдение также справедливо как для активных, так и для молчащих импринтированных аллелей (Kitsberg et al., 1993; Knoll et al., 1994), хотя и в этом случае обнаруживаются исключения (Cerrato et al., 2003).

Очень интересными являются данные о наличии трансвзаимодействий между аллелями различных гомологичных импринтированных генов (La Salle, Lalande, 1996; Shemer et al., 1996; Hu et al., 1997; Duvillie et al., 1998) и между двумя X-хромосомами (Marahrens et al., 1998). Было предположено, что такого рода взаимодействие осуществляется за счет гомологичного спаривания районов импринтированных аутомомных генов (La Salle, Lalande, 1996) и X-хромосом (Marahrens, 1999). Эта модель нашла свое подтверждение в 3D FISH-анализе, показавшем гомологичную ассоциацию двух копий импринтированных кластеров генов PWS/AS и *Ins2/Igf2/19* (La Salle, Lalande, 1996). Более того, в клетках пациентов с синдромом Прадера-Вилли—Ангельмана наблюдалось уменьшение по сравнению с нормой частоты соматической конъюгации импринтированных локусов (La Salle, Lalande, 1996), обусловленное, по мнению авторов, наличием LINE-последовательностей, осуществляющих такого рода гомологичное спаривание. Подобное наблюдение было сделано в работе Риссельманна и Хаафа (Risselmann, Naaf, 1999), показавших преимущественную ассоциацию гомологичных кластеров импринтированных генов в ядрах клеток у мышей. Физическое спаривание гомологичных последовательностей ДНК, как предполагают, является тем механизмом, при участии которого повторяющиеся последовательности ДНК и РНК индуцируют формирование «молчащего» хроматина (Selker, 1999; Matzke et al., 2001).

Еще один тип межхромосомных взаимодействий, регулирующих экспрессию импринтированных генов, был описан Герман с соавторами (Herman et al., 2003). Авторы заменяли повторы, находящиеся рядом с ДМР импринтированного гена *Rasgrfl* на отцовской аллели и отвечающие за экспрессию с данной аллели, районом ДМД2, отвечающего за метилирование и экспрессию с материнской аллели другого импринтированного гена *Igf2r*. В этом случае метилирование и экспрессия отцов-

ской копии гена *Rasgrfl* происходили нормально, но отцовская передача такой модифицированной аллели индуцировала метилирование и экспрессию неметилированной и молчащей материнской аллели дикого типа. Будучи активированной, материнская аллель дикого типа *Rasgrfl* сохраняла свое активированное состояние и в следующих поколениях независимо от отцовской аллели. Таким образом, этим авторам (Herman et al., 2003) удалось воспроизвести у мышей явление парамутации. Термин «парамутация» был впервые использован для описания достаточно загадочного явления, впервые обнаруженного у растений. При этом физическое взаимодействие «парамутабельной» аллели с «парамутагенной» аллелью изменяло фенотип, обусловленный «парамутабельной» аллелью на фенотип, обусловленный «парамутагенной» аллелью, и это изменение сохранялось после мейотической сегрегации (Hollick et al., 1997). В некоторых случаях затронутая парамутабельная аллель может вести себя как парамутагенная аллель в следующих поколениях, что получило название вторичной парамутации (Patterson et al., 1993). Подобное явление, описанное у *Drosophila*, получило название трансекции (Pirrotta et al., 1999). Таким образом, оказалось, что само по себе загадочное явление может быть связано с импринтингом. Возможно, что при установлении конечной картины геномного импринтинга после формирования зиготы может иметь место феномен, подобный трансекции, основанный на описанной выше физической конъюгации хромосом в районах, содержащих кластеры импринтированных генов.

В контексте упорядоченной неслучайной локализации в ядре хромосом и хромосомных доменов, в частности импринтированных генов, лежат данные о неслучайной сегрегации хромосом при митозе стволовых клеток. Было показано, что при каждом асимметрическом делении стволовых клеток наблюдается селективная косегрегация в одну из дочерних клеток хромосом, несущих старые матричные нити ДНК (так называемые бессмертные нити), вследствие чего дочерние клетки могут различаться по этому признаку (Merok et al., 2002; Potten et al., 2002). Эти наблюдения были сделаны для взрослых стволовых клеток, но такое явление также может иметь место в клетках дробящихся зигот, в результате чего уже самые первые бластомеры будут различаться по эпигенетическим модификациям гомологичных хромосом и как следствие по характеру коммитирования, что может быть важно для осуществления первичной дифференцировки, включая формирование эмбриональных стволовых и первичных половых клеток. В пользу такого предположения говорят данные о том, что уже первые два бластомера дифференциально детерминированы по пути формирования тела зародыша и экстраэмбриональных тканей (Piotrowska et al., 2001; Plusa et al., 2005). Учитывая, что стволовые клетки ведут свое происхождение именно из внутренней клеточной массы доимплантационных зародышей, вполне вероятно, что подобная неслучайная сегрегация в дочерние клетки сестринских хроматид, асимметрично организованных с точки зрения рассмотренных выше модификаций хроматина, обуславливает дифференцировку линии ППК. Тем самым в будущих ППК паттерн импринтирования может устанавливаться как за счет циссигналов, так и в результате трансвзаимодействий между гомологичными хромосомами, причем оба типа взаимодействий могут быть различны (возможно, при преобладании одного из типов взаимо-

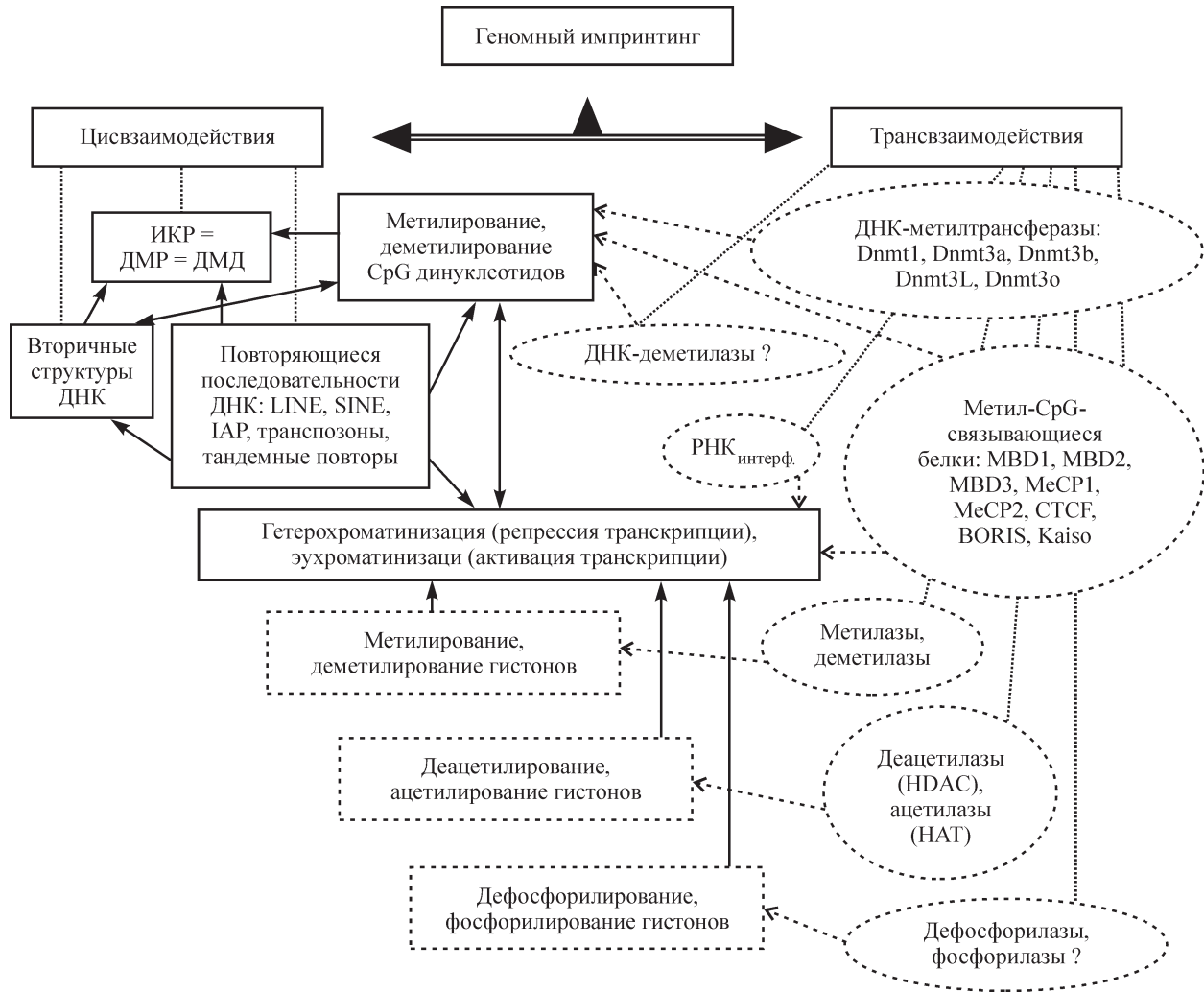


Рис. 2. Общая схема, иллюстрирующая взаимодействия различных цис- и трансдействующих факторов установления и поддержания импринтинга у млекопитающих.

действий) в зависимости от пола эмбриона. Предполагаемый механизм подразумевает пока неясные межхромосомные взаимодействия, возможно, подобные описанным выше явлениям парамутации и трансвекции, модулирующих уровень метилирования в гомологичных хромосомах и тем самым участвующих в установлении картины импринтинга в период коммитирования, в том числе по пути формирования ППК с определенным паттерном импринтинга.

Заключение

В настоящее время все яснее становится иерархия управления механизмом осуществления (рис. 1) и регуляции моноаллельной экспрессии, соматического наследования импринтинга (рис. 2). Активно ведутся исследования белковой составляющей хроматина, и только началось изучение пространственной организации ядра. По крайней мере на сегодняшний день можно заключить, что именно уровень метилирования ДНК является определяющим в установлении и поддержании межаллельных различий в экспрессии генов, в частности импринтированных. Этот уровень, по-видимому, может зависеть от наличия и состава повторяющихся ДНК- и

РНК-последовательностей, связанных с импринтированными генами. Вполне вероятно, что повторяющиеся последовательности ДНК могут модулировать в cis-положении транскрипцию либо генов, в составе которых они находятся, либо соседних, либо отдаленных генов, а также участвовать в межхромосомных (межгенных) взаимодействиях как аллельных, так и неаллельных последовательностей, что в свою очередь может определять установление и поддержание импринтинга. Механизм участия повторов в импринтинге может зависеть от их нуклеотидного состава, транскрибируемости и, наконец, локализации в геноме. Результаты исследования неустойчивости тринуклеотидных повторов, мини-сателлитов и сателлитов (в том числе зависимость их стабильности при межгенерационной передаче от пола родителя) указывают на то, что особенности организации высокоповторяющихся последовательностей ДНК и их локализации в геноме могут влиять на транскрипцию генов различными путями. Такие последовательности ДНК являются связующим звеном между эпигенетическими модификациями ДНК и белков хроматина, участвуют в пространственной организации ядра и определяют локализацию хромосом/хромосомных доменов/генов в специфичных компартаментах ядер.

Основной вопрос о механизмах и времени приобретения первичного импринта остается наименее ясным, что связано в основном с методическими трудностями. Можно предположить, что асимметричность нитей ДНК в сестринских хроматидах в отношении репликации, уровня метилирования и организации повторов сестринские хроматидные обмены и неслучайная сегрегация хроматид начиная с первых делений дробления оплодотворенного яйца могут определять различия в модификации будущих импринтированных генов в ходе дифференцировки различных бластомеров, формирующих в дальнейшем различные типы стволовых клеток, включая ППК. Кроме того, следует отметить, что по сравнению с биаллельными генами именно моноаллельность импринтированных генов может обуславливать большую вероятность нарушения экспрессии таких генов под воздействием различных факторов окружающей среды и тем самым приводить к изменению картины импринтинга с последующим фенотипическим проявлением в виде различных патологий.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 04-04-48169).

Список литературы

- Ванюшин Б. Ф. 2005. Эпигенетическое метилирование ДНК — эпигенетический контроль за генетическими функциями клетки. Биохимия. 70 : 598—611.
- Гайццоки В. С., Паткин Е. Л. 2000. Сателлитные ДНК и болезни — возможные механизмы. Тринуклеотидные повторы. Генетика. 36 : 869—886.
- Конюхов Б. В., Платонов Е. С. 2001. Геномный импринтинг у млекопитающих. Генетика. 37 : 5—18.
- Немцова М. В. 2000. Геномный импринтинг и наследственная патология у человека. Молекуляр. биол. 34 : 646—653.
- Паткин Е. Л., Сорокин А. В. 1992. Изучение метилирования генома лабораторной мыши при помощи рестрикционных эндонуклеаз *in situ*. Цитология. 34 (8) : 65—69.
- Пузырев В. П., Назаренко С. А. 1997. Болезни генетического импринтинга у человека. Вопр. мед. хим. 43 : 356—365.
- Саложин С. В., Прохорчук Е. Б., Георгиев Г. П. 2005. Метилирование ДНК как один из основных эпигенетических маркеров. Биохимия. 70 : 641—650.
- Сучкова И. О., Сломинская Н. А., Кустова М. Е., Баранова Т. В., Голубков В. И., Сорокин А. В., Васильев В. Б., Паткин Е. Л. 2004. Анализ нестабильности повторяющихся единиц чужеродной центромерной ДНК в трансгенных мышцах и трансфектных клетках. Генетика. 40 : 1034—1045.
- Allen E., Horvath S., Tong F., Kraft P., Spiteri E., Riggs A. D., Marahrens Y. 2003. High concentrations of long interspersed nuclear element sequence distinguish monoallelically expressed genes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 9940—9945.
- Arnaud P., Monk D., Hitchins M., Gordon E., Dean W., Beechey C. V., Peters J., Craigen W., Preece M., Stanier P. et al. 2003. Conserved methylation imprints in the human and mouse GRB10 genes with divergent allelic expression suggests differential reading of the same mark. Hum. Mol. Genet. 12 : 1005—1019.
- Aver P., Heard E. 2001. X chromosome inactivation: counting, choice and initiation. Nat. Rev. Genet. 2 : 59—67.
- Bailey J. A., Carrel L., Chakravarti A., Eichler E. E. 2000. Molecular evidence for a relationship between LINE-1 elements and X chromosome inactivation: the Lyon repeat hypothesis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 97 : 6634—6639.
- Barlow D. P. 1993. Methylation and imprinting: from host defense to gene regulation? Science. 260 : 309—310.
- Bartolomei M. S., Webber A. L., Brunkow M. E., Tilghman S. M. 1993. Epigenetic mechanisms underlying the imprinting of the mouse H19 gene. Genes Develop. 7 : 663—673.
- Bell A. C., Felsenfeld G. 2000. Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene. Nature. 405 : 482—485.
- Bestor T. H. 1998. Cytosine methylation and unequal developmental potentials of the oocyte and sperm genomes. Amer. J. Hum. Genet. 62 : 1269—1273.
- Bestor T. H. 2000. The DNA methyltransferases of mammals. Hum. Mol. Genet. 9 : 2395—2402.
- Bestor T. H., Tycko B. 1996. Creation of genomic methylation patterns. Nat. Genet. 12 : 363—367.
- Bird A. 1999. DNA methylation *de novo*. Science. 286 : 2287—2288.
- Bird A. 2002. DNA methylation patterns and epigenetic memory. Genes. Develop. 16 : 6—21.
- Bird A. P., Wolffe A. P. 1999. Methylation-induced repression — belts, braces, and chromatin. Cell. 99 : 451—454.
- Blaydes S. M., Elmore M., Yang T., Brannan C. I. 1999. Analysis of murine Snrpn and human SNRPN gene imprinting in transgenic mice. Mamm. Genome. 10 : 549—555.
- Bourc'his D., Xu G. L., Lin C. S., Bollman B., Bestor T. H. 2001. Dnmt3L and the establishment of maternal genomic imprints. Science. 294 : 2536—2539.
- Boyle A., Ballard G., Ward D. 1990. Differential distribution of long and short interspersed element sequences in the mouse genome: chromosome karyotyping by fluorescence *in situ* hybridization. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 87 : 7757—7761.
- Brandeis M., Ariel M., Cedar H. 1993. Dynamics of DNA methylation during development. BioEssays. 15 : 709—713.
- Carlson L. L., Page A. W., Bestor T. H. 1992. Properties and localization of DNA methyltransferase in preimplantation mouse embryos: implications for genomic imprinting. Genes Develop. 6 : 2536—2541.
- Carmen A., Milne L., Grunstein M. 2002. Acetylation of the yeast histone H4 N terminus regulates its binding to heterochromatin protein SIR3. J. Biol. Chem. 277 : 4778—4781.
- Cerrato F., Dean W., Davies K., Kagotani K., Mitsuya K., Okumura K., Riccio A., Reik W. 2003. Paternal imprints can be established on the maternal Igf2-H19 locus without altering replication timing of DNA. Hum. Mol. Genet. 12 : 3123—3132.
- Chaillet J. R. 1994. Genomic imprinting: lessons from mouse transgenes. Mutat. Res. 307 : 441—449.
- Chaillet J. R., Bader D. S., Leder P. 1995. Regulation of genomic imprinting by gametic and embryonic processes. Genes Develop. 9 : 1177—1187.
- Charlier C., Segers K., Karim L., Shay T., Gyapay G., Cockett N., Georges M. 2001. The callipyge mutation enhances the expression of coregulated imprinted genes in cis without affecting their imprinting status. Nat. Genet. 27 : 367—369.
- Cluster A. M., Stein P., Svoboda P., Schultz R., Bartolomei M. S. 2004. Transgenic RNAi reveals essential function for CTCF in H19 imprinting. Science. 303 : 238—240.
- Constancia M., Pickard B., Kelsey G., Reik W. 1998. Imprinting mechanisms. Genome Res. 8 : 881—900.
- Cook P. R. 1999. The organization of replication and transcription. Science. 284 : 1790—1795.
- Cross S. H., Meehan R. R., Nah X., Bird A. 1997. A component of the transcriptional repressor MeCP1 is related to mammalian DNA methyltransferase and trithorax-like protein. Nat. Genet. 16 : 256—259.
- Davis T. L., Trasler J. M., Moss S. B., Yang G. J., Bartolomei M. S. 1999. Acquisition of the H19 methylation imprint occurs differentially on the parental alleles during spermatogenesis. Genomics. 58 : 18—28.
- Delaval K., Feil R. 2004. Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting. Cur. Opin. Genet. Develop. 14 : 188—195.
- Duvillie B., Bucchini D., Tang T., Jami J., Paldi A. 1998. Imprinting at the mouse Ins2 locus: evidence for cis- and trans-allelic interactions. Genomics. 47 : 52—57.

- Engel N., West A. G., Felsenfeld G., Bartolomei M. S. 2004. Antagonism between DNA hypermethylation and enhancer-blocking activity at the *H19* DMD is uncovered by CpG mutations. *Nat. Genet.* 36 : 883—888.
- Espada J., Ballestar E., Fraga M. F., Villar-Garea A., Juaranz A., Stockert J. C., Robertson K. D., Fuks F., Esteller M. 2004. Human DNA methyltransferase 1 is required for maintenance of the histone H3 modification pattern. *J. Biol. Chem.* 279 : 37 175—37 184.
- Fazzari M. J., Grealley J. M. 2004. Epigenomics: beyond CpG islands. *Nature Rev. Genet.* 5 : 464—455.
- Ferguson-Smith A. S., Lin S.-P., Tsai C.-E., Youngson N., Tevendale M. 2003. Genomic imprinting — insights from studies in mice. *Semin. Cell Develop. Biol.* 14 : 43—49.
- Ferguson-Smith A. C., Surani M. A. 2001. Imprinting and the epigenetic asymmetry between parental genomes. *Science.* 293 : 1086—1089.
- Frahk D., Fortino W., Clark L., Musalo R., Wang W., Saxena A., Li C. M., Reik W., Ludwig T., Tycko B. 2002. Placental overgrowth in mice lacking the imprinted gene *Ipl*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 7490—7495.
- Franz P., Soppe W., Schubert I. 2003. Heterochromatin in interphase nuclei of *Arabidopsis thaliana*. *Chromosome Res.* 11 : 227—240.
- Gabriel J. M., Gray T. A., Stubbs L., Saitoh S., Ohta T., Nicholls R. D. 1998. Structure and function correlations at the imprinted mouse *Snrpn* locus. *Mamm. Genome.* 9 : 788—793.
- Garrick D., Fiering S., Martin D. I., Whitelaw E. 1998. Repeat-induced gene silencing in mammals. *Nat. Genet.* 18 : 56—59.
- Gasser S. M., Cockell M. M. 2001. The molecular biology of the SIR proteins. *Gene.* 279 : 1—16.
- Giddings S. J., King C. D., Harman K. W., Flood J. F., Carnaghi L. R. 1994. Allele specific inactivation of insulin 1 and 2, in the mouse yolk sac, indicates imprinting. *Nat. Genet.* 6 : 310—313.
- Grealley J. M. 2002. Short interspersed transposable elements (SINEs) are excluded from imprinted regions in the human genome. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 327—332.
- Grewal S. I. S., Moazed D. 2003. Heterochromatin and epigenetic control of gene expression. *Science.* 301 : 798—802.
- Hajkova P., Erhardt S., Lane N., Haaf T., El Maarri O., Reik W., Walter J., Surani M. A. 2002. Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mech. Develop.* 117 : 15—23.
- Hall I. M., Shankaranarayana G. D., Noma K., Ayoub N., Cohen A., Grewal S. I. 2002. Establishment and maintenance of a heterochromatin domain. *Science.* 297 : 2232—2237.
- Hark A. T., Schoenherr C. J., Katz D. J., Ingram R. S., Levorse J. M., Tilghman S. M. 2000. CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the *H19/Igf2* locus. *Nature.* 405 : 486—489.
- Hashimshony T., Zhang J., Keshet I., Bustin M., Cedar H. 2003. The role of DNA methylation in setting up chromatin structure during development. *Nat. Genet.* 34 : 187—192.
- Hata K., Okano M., Lei H., Li E. 2002. Dnmt3L cooperates with the Dnmt3 family of *de novo* DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice. *Development.* 129 : 1983—1993.
- Hemberger M., Hughes J., Dean W., Ferguson-Smith A., Fundele R., Stewart F., Kelsey G., Fowden A., Sibley C. et al. 2002. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature.* 417 : 945—948.
- Hendrich B., Bird A. 1998. Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 6538—6547.
- Henikoff S. 1992. Position effect and related phenomena. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 2 : 907—912.
- Henikoff S. 2000. Heterochromatin function in complex genomes. *Biochim. biophys. acta.* 1470 : 1—8.
- Herman H., Lu M., Anggraini M., Sikora A., Chang Y., Yoon B. J., Soloway P. D. 2003. Trans allele methylation and paramutation-like effects in mice. *Nat. Genet.* 34 : 199—202.
- Hikichi T., Kohda T., Kaneko-Ishino T., Ishino F. 2003. Imprinting regulation of the murine *Meg1/Grb10* and human *GRB10* genes; roles of brain-specific promoters and mouse-specific CTCF binding sites. *Nucl. Acids Res.* 31 : 1398—1406.
- Hollick J. B., Dorweiler J. E., Chandler V. L. 1997. Paramutation and related allelic interactions. *Trends Genet.* 13 : 302—308.
- Holmgren C., Kanduri C., Dell G., Ward A., Ukhopadhyaya R., Kanduri M., Lobanenkov V., Ohlsson R. 2001. CpG methylation regulates the *Igf2/H19* insulator. *Curr. Biol.* 11 : 1128—1130.
- Holmquist G. P. 1989. Evolution of chromosome bands: molecular ecology of noncoding DNA. *J. Mol. Evol.* 28 : 469—486.
- Hoppe G. J., Tanny J. C., Rudner A. D., Gerber S. A., Danaie S., Gygi S. P., Moazed D. 2002. Steps in assembly of silent chromatin in yeast: Sir3-independent binding of a Sir2/Sir4 complex to silencers and role for Sir2-dependent deacetylation. *Mol. Cell. Biol.* 22 : 4167—4180.
- Horike S., Cai S., Cheng J.-F., Kohwi-Shigamatsu T. 2005. Loss of silent chromatin looping and impaired imprinting of *DLX5* in Rett syndrome. *Nat. Genet.* 37 : 31—40.
- Howlett S. K., Reik W. 1991. Methylation levels of maternal and paternal genomes during preimplantation development. *Development.* 113 : 119—127.
- Hsieh J., Fire A. 2000. Recognition and silencing of repeated DNA. *Annu. Rev. Genet.* 34 : 187—204.
- Hu J.-F., Vu T. H., Hoffman A. R. 1997. Genomic deletion of an imprint maintenance element abolishes imprinting of both insulin-like growth factor II and *H19*. *J. Biol. Chem.* 272 : 20 715—20 720.
- Hubbard E. J., Pera R. 2003. A germ-cell odyssey: fate, survival, migration, stem cells and differentiation. *EMBO Reports.* 4 : 353—357.
- Hurst L. D., McVean G., Moore T. 1996. Imprinted genes have few and small introns. *Nat. Genet.* 12 : 234—237.
- Jablonka E., Lamb M. J. 1998. Epigenetic inheritance in evolution. *J. Evol. Biol.* 11 : 159—183.
- Jackson-Grusby L., Berad C., Possemato R., Tudor M., Fambrough D., Csankovszki G. et al. 2001. Loss of genomic methylation causes p53-dependent apoptosis and epigenetic deregulation. *Nat. Genet.* 27 : 31—39.
- Kajri T., Ariel M., Brandeis M., Shemer R., Urven L., McCarey J., Cedar H., Razin A. 1992. Developmental pattern of gene-specific DNA methylation in the mouse embryo and germ line. *Genes Develop.* 6 : 705—714.
- Kato Y., Rideout W. M., Hilton K., Barton S. C., Tsunoda Y., Surani M. A. 1999. Developmental potential of mouse primordial germ cells. *Development.* 126 : 1823—1832.
- Ke X., Thomas N. S., Robinson D. O., Collins A. 2002. The distinguishing sequence characteristics of mouse imprinted genes. *Mamm. Genome.* 13 : 639—645.
- Kitsberg D., Selig S., Brandeis M., Simon I., Keshet I., Driscoll D. J., Nichols R. D., Cedar H. 1993. Allele-specific replication timing of imprinted gene regions. *Nature.* 364 : 459—463.
- Knoll J. H. M., Cheng S. D., Lalande M. 1994. Allele specificity of DNA replication timing in the Angelman/Prader-Willi syndrome imprinted chromosomal region. *Nat. Genet.* 6 : 41—46.
- Korenberg J. R., Rykowski M. C. 1988. Human genome organization: Alu, Lines, and the molecular structure of metaphase chromosome bands. *Cell.* 53 : 391—400.
- Lachner M., Jenuwein T. 2002. The many faces of histone lysine methylation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14 : 286—298.
- Lane N., Dean W., Erhardt S., Hajkova P., Surani A., Walter J., Reik W., LaSalle J. M., Lalande M. 1995. Domain organization of allele-specific replication within the *GABRB3* gene cluster requires a biparental 15q11-13 contribution. *Nat. Genet.* 9 : 386—394.
- Lane N., Dean W., Erhardt S., Hajkova P., Surani A., Walter J., Wolf R. 2003. Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse. *Genesis.* 35 : 88—93.
- La Salle J. M., Lalande M. 1996. Homologous association of oppositely imprinted chromosomal domains. *Science.* 272 : 725—728.
- La Salle S., Mertineit C., Taketo T., Moens P. B., Bestor T. H., Trasler J. M. 2004. Windows for sex-specific methylation marked by DNA methyltransferase expression profiles in mouse germ cells. *Develop. Biol.* 268 : 403—415.

- Le H. D., Donaldson K. M., Cook K. R., Karpen G. H. 2004. A high proportion of genes involved in position effect variegation also affect chromosome inheritance. *Chromosoma*. 112 : 269—276.
- Lee C.-K., Shibata Y., Rao B., Strahl B. D., Lieb J. D. 2004. Evidence for nucleosome depletion at active regulatory regions genome-wide. *Nat. Genet.* 36 : 900—905.
- Lee J. T. 2003. Molecular links between X-inactivation and autosomal imprinting: X-inactivation as a driving force for the evolution of imprinting? *Curr. Biol.* 13 : R242—R254.
- Lee J., Inoue K., Ono R., Ogonuki N., Kohda T., Kaneko-Ishino T., Ogura A., Ishino F. 2002. Erasing genomic imprinting memory in mouse clone embryos produced from day 11.5 primordial germ cells. *Development*. 129 : 1807—1817.
- Lees-Murdock D. J., De Felici M., Walsh C. P. 2003. Methylation dynamics of repetitive DNA elements in the mouse germ cell lineage. *Genomics*. 82 : 230—237.
- Lewis A., Mitsuya K., Umlauf D., Smith P., Dean W., Walter J., Higgins M., Feil R., Reik W. 2004. Imprinting on distal chromosome 7 in the placenta involves repressive histone methylation independent of DNA methylation. *Nat. Genet.* 36 : 1291—1295.
- Li E. 2002. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat. Rev. Genet.* 3 : 662—673.
- Lin S., Youngson N., Takada S., Seitz H., Reik W., Paulsen M., Cavaille J., Ferguson-Smith A. C. 2003. Asymmetric regulation of imprinting on the maternal and paternal chromosomes at the Dlk-Gtl2 imprinted cluster on mouse chromosome 12. *Nat. Genet.* 35 : 97—102.
- Lopes S., Lewis A., Hajkova P., Dean W., Oswald J., Fornet T., Murrell A., Constancia M., Bartolomei M., Walter J., Reik W. 2003. Epigenetic modification in an imprinting cluster are controlled by a hierarchy of DMRs suggesting long-range chromatin interactions. *Hum. Mol. Genet.* 12 : 295—305.
- Loukinov D. I., Pugacheva E., Vatolin S., Pack S. D., Moon H. et al. 2002. BORIS, a novel male germ-line-specific protein associated with epigenetic reprogramming events, shares the same 11-zinc-finger domain with CTCF, the insulator protein involved in reading imprinting marks in the soma. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 99 : 6806—6811.
- Lucifero D., Mann M. R., Bartolomei M. S., Trasler J. M. 2004. Gene-specific timing and epigenetic memory in oocyte imprinting. *Hum. Mol. Genet.* 13 : 839—849.
- Lucifero D., Mertineit C., Clarke H. J., Bestor T. H., Trasler J. M. 2002. Methylation dynamics of imprinted genes in mouse germ cells. *Genomics*. 79 : 530—538.
- Lund A. H., Van Lohuizen M. 2004. Polycomb complexes and silencing mechanisms. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16 : 239—246.
- Lyko F., Ramsahoye B. H., Kashevsky H., Tudor M., Mastrandelo M. A., Orr-Weaver T. L., Jaenisch R. 1999. Mammalian (cytosine-5) methyltransferases cause genomic DNA methylation and lethality in *Drosophila*. *Nat. Genet.* 23 : 363—366.
- Lyon M. F. 1998. X-chromosome inactivation: a repeat hypothesis. *Cytogenet. Cell Genet.* 80 : 133—137.
- Mager J., Montgomery N. D., de Villena F., Magnuson T. 2003. Genome imprinting regulated by the mouse polycomb group protein Eed. *Nat. Genet.* 33 : 502—507.
- Maier H., Colbert J., Fitzsimmons D., Clark D. R., Hagman J. 2003. Activation of the early B-cell-specific mb-1 (Ig-alpha) gene by Pax-5 is dependent on an unmethylated Ets binding site. *Mol. Cell. Biol.* 23 : 1946—1960.
- Marahrens Y. 1999. X-inactivation by chromosomal pairing events. *Genes. Develop.* 13 : 2624—2632.
- Marahrens Y., Loring J., Jaenisch R. 1998. Role of the Xist gene in X chromosome choosing. *Cell*. 92 : 657—664.
- Martienssen R. A. 2003. Maintenance of heterochromatin by RNA interference of tandem repeats. *Nat. Genet.* 35 : 213—214.
- Martienssen R. A., Colot V. 2001. DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science*. 293 : 1070—1074.
- Matzke M., Matzke A., Kooter J. 2001. RNA: guiding gene silencing. *Science*. 293 : 1080—1083.
- Mayer W., Niveleau A., Walter J., Fundele R., Haaf T. 2000. Demethylation of the zygotic paternal genome. *Nature*. 403 : 501—502.
- McGrath J., Solter D. 1984. Completion of the mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell*. 37 : 179—183.
- McLaren A. 2002. Primordial germ cells in the mouse. *Development*. 129 : 1—15.
- Merok J. R., Lansita J. A., Tunstead J. R., Sherley J. L. 2002. Cosegregation of chromosomes containing immortal DNA strands in cells that cycle with asymmetric stem cell kinetics. *Cancer Res.* 62 : 6791—6795.
- Mertineit C., Yoder J. A., Taketo T., Laird D. W., Trasler J. M., Bestor T. H. 1998. Sex-specific exons control DNA methyltransferase in mammalian germ cells. *Development*. 125 : 889—897.
- Moazed D. 2001. Common themes in mechanisms of gene silencing. *Mol. Cell*. 8 : 489—498.
- Monk M., Boubelik M., Lehnert S. 1987. Temporal and regional changes in DNA methylation in the embryonic, extraembryonic and germ cell lineages during mouse embryo development. *Development*. 99 : 371—382.
- Morgan H. D., Luu K. V. K., Whitelaw E. 2003. Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine *Axin^{Fu}* allele occurs after maternal and paternal transmission. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 2538—2543.
- Morgan H. D., Sutherland H. G., Martin D. I., Whitelaw E. 1999. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat. Genet.* 23 : 314—318.
- Murphy S. K., Jirtle R. L. 2003. Imprinting evolution and the price of silence. *BioEssays*. 25 : 577—588.
- Murrell A., Heeson S., Reik W. 2004. Interaction between differentially methylated regions partitions the imprinted genes *Igf2* and *H19* into parent-specific chromatin loops. *Nat. Genet.* 36 : 889—893.
- Mutter G. L. 1997. Role of imprinting in abnormal human development. *Mutat. Res.* 396 : 141—147.
- Nabetani A., Hatada I., Morisaki H., Oshimura M., Mukai T. 1997. Mouse U2af1-rs1 is a neomorphic imprinted gene. *Mol. Cell. Biol.* 17 : 789—798.
- Nan X., Campoy J., Bird A. 1997. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. *Cell*. 88 : 471—481.
- Nan X., Ng H. H., Johnson C. A., Laherty C. D., Turner B. M., Eisenman R. N., Bird A. 1998. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature*. 393 : 386—389.
- Naumova A. K., Leppert M., Barker D. F., Morgan K., Sapienza C. 1998. Parental origin-dependent, male offspring-specific transmission-ratio distortion at loci on the human X chromosome. *Amer. J. Hum. Genet.* 62 : 1493—1499.
- Neumann B., Kubicka P., Barlow D. P. 1995. Characteristics of imprinted genes. *Nat. Genet.* 9 : 12—13.
- Novak S. J., Corces V. G. 2004. Phosphorylation of histone H3: a balancing act between chromosome condensation and transcriptional activation. *Trends Genet.* 20 : 214—220.
- Ogawa H., Ono Y., Shimosawa N., Sotomaru Y., Katsuzawa Y., Hiura H., Ito M., Kono T. 2003. Disruption of imprinting in cloned mouse fetuses from embryonic cells. *Reproduction*. 126 : 549—557.
- Ogryzko V. V. 2001. Mammalian histone acetyltransferases and their complexes. *Cell. Mol. Life Sci.* 58 : 683—692.
- Okamura K., Hagiwara-Takeuchi Y., Li T., Vu T. H., Hirai M., Hattori M., Sakaki Y., Hoffman A. R., Ito T. 2000. Comparative genome analysis of the mouse imprinted gene *Impact* and its nonimprinted human homolog *IMPACT*: toward the structural basis for species-specific imprinting. *Genome Res.* 10 : 1878—1889.
- Olek A., Walter J. 1997. The pre-implantation ontogeny of the H19 methylation imprint. *Nat. Genet.* 17 : 275—276.
- Ono R., Kobayashi S., Wagatsuma H., Aisaka K., Kohda T., Kaneko-Ishino T., Ishino F. 2001. A retrotransposon-derived gene, *Peg10*, is a novel imprinted gene located on human chromosome 7q21. *Genomics*. 73 : 232—237.

- Osborn C. S., Chakalova L., Brown K., Carter D., Horton A., Debrand E., Goyenechea B., Mitchel J. A., Lopez S., Reil W., Fraser P. 2004. Active genes dynamically colocalize to shared sites of ongoing transcription. *Nat. Genet.* 36 : 1065—1071.
- Oswald J., Engemann S., Lane N., Mayer W., Olek A., Fundele R., Dean W., Reik W., Walter J. 2000. Active demethylation of the paternal genome in the mouse zygote. *Curr. Biol.* 10 : 475—478.
- Otte A. P., Kwaks T. H. J. 2003. Gene repression by polycomb group protein complexes: a distinct complex for every occasion? *Curr. Opin. Genet. Develop.* 13 : 448—454.
- Plant V., Mariano P., Kanduri C., Mattsson A., Lobanenkova V., Heuchel R., Ohlsson R. 2003. The nucleotides responsible for the direct physical contact between the chromatin insulator protein CTCF and the H19 imprinting control region manifest parent of origin-specific long-distance insulator and methylation-free domains. *Genes Develop.* 17 : 586—590.
- Parada L. A., Sotiriou S., Misteli T. 2004. Spatial genome organization. *Exp. Cell Res.* 296 : 64—70.
- Patkin E. L. 1997. Asymmetry of sister chromatids methylation of preimplantation mouse embryo chromosomes as revealed by nick translation in situ. *Cytogenet. Cell Genet.* 77 : 82—83.
- Patkin E. L., Kustova M. E., Peticone P. 1998. The influence of demethylation agents on the preimplantation mouse development. *Zygote.* 6 : 351—358.
- Patterson G. L., Thorpe C. J., Chandler V. L. 1993. Paramutation, an allelic interaction, is associated with a stable and heritable reduction of transcription of the maize and regulatory gene. *Genetics.* 135 : 881—894.
- Pauler F. M., Stricker S. H., Warczok K. E., Barlow D. P. 2005. Long-range DNase I hypersensitivity mapping reveals the imprinted *Igf2r* and *Air* promoters share cis-regulatory elements. *Genome Res.* 15 : 1379—1387.
- Paulsen M., Ferguson-Smith A. C. 2001. DNA methylation in genomic imprinting, development, and disease. *J. Pathol.* 195 : 97—110.
- Paulsen M., Takada S., Youngson N. A., Benchaib M., Charlier C., Segers K., Georges M., Ferguson-Smith A. C. 2001. Comparative sequence analysis of the imprinted *Dlk1-Gtl2* locus in three mammalian species reveals highly conserved genomic elements and refines comparison with the *Igf2-H19* region. *Genome Res.* 11 : 2085—2094.
- Pavlicek A., Jabbari K., Paces J., Paces V., Hejnar J. V., Bernardi G. 2001. Similar integration but different stability of Alu and LINEs in the human genome. *Gene.* 276 : 39—45.
- Pearsall R. S., Plass C., Romano M. A., Garrick M. D., Shibata H. et al. 1999. A direct repeat sequence at the *Rasgrf1* locus and imprinted expression. *Genomics.* 55 : 194—201.
- Pearsall R. S., Shibata H., Brozowska A., Yoshino K., Okuda K. et al. 1996. Absence of imprinting in U2AFBPL, a human homologue of the imprinted mouse gene *U2afbp-rs*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 222 : 171—177.
- Pederson T. 2004. The spatial organization of the genome in mammalian cells. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 14 : 203—209.
- Piotrowska K., Wianny F., Pederson R. A., Zernicka-Goetz M. 2001. Blastomeres arising from the first cleavage division have distinguishable fates in normal mouse development. *Development.* 128 : 3739—3748.
- Pirotta V. 1999. Transvection and chromosomal trans-interaction effects. *Biochim. biophys. acta.* 1424 : M1—M8.
- Plusa B., Hadjantonakis A.-K., Gray D., Piotrowska-Nitsche K., Jedrusik A., Papaioannou V. E., Glover D. M., Zernicka-Goetz M. 2005. The first cleavage of the mouse zygote predicts the blastocyst axis. *Nature.* 434 : 391—395.
- Potten C. S., Owen G., Booth D. 2002. Intestinal stem cells protect their genome by selective segregation of template DNA strands. *J. Cell Sci.* 115 : 2381—2388.
- Pravtcheva D., Wise T. L. 2003. Transgene instability in mice injected with an *in vitro* methylated *Igf2* gene. *Mutat. Res.* 529 : 35—50.
- Prokhortchouk A., Hendrich B., Jorgensen H., Ruzov A., Wilm M., Georgiev G., Bird A., Prokhortchouk E. 2001. The p120 catenin partner Kaiso is a DNA methylation-dependent transcriptional repressor. *Genes Develop.* 15 : 1613—1618.
- Rakyan V. K., Chong S., Champ M. E., Cuthbert P. C., Smith R. J., Dean W., Konfortova G., Kelsey G. 2003. Identification of novel imprinted genes is a genome-wide screen for maternal methylation. *Genome Res.* 13 : 558—569.
- Rea S., Eisenhaber F., O'Carroll D., Strahl B. D., Sun Z. W., Schmid M., Opravil S., Mechtler K., Ponting C. P., Allis C. D., Jenjuwein T. 2000. Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases. *Nature.* 406 : 593—599.
- Recillas-Targa F. 2002. DNA methylation, chromatin boundaries, and mechanisms of genomic imprinting. *Arch. Med. Res.* 33 : 428—438.
- Reed M. R., Riggs A. D., Mann J. R. 2001. Deletion of a direct repeat element has no effect on *Igf2* and *H19* imprinting. *Mamm. Genome.* 12 : 873—876.
- Reik W., Walter J. 2001a. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat. Rev. Genet.* 2 : 21—32.
- Reik W., Walter J. 2001b. Evolution of imprinting mechanisms: the battle of the sexes begins in the zygote. *Nat. Genet.* 27 : 255—256.
- Richards E. J. 2002. Chromatin methylation: who's on first? *Curr. Biol.* 12 : R694—R695.
- Richards E. J., Elgin S. C. 2002. Epigenetic codes for heterochromatin formation and silencing: rounding up the usual suspects. *Cell.* 108 : 489—500.
- Riessmann L., Haaf T. 1999. Preferential S-phase pairing of the imprinted region on distal mouse chromosome 7. *Cytogen. Cell Genet.* 86 : 39—42.
- Robinson P. N., Bohme U., Lopez R., Mundlos S., Nurnberg P. 2004. Gene-ontology analysis reveals association of tissue-specific 50 CpG-island genes with development and embryogenesis. *Hum. Mol. Genet.* 13 : 1969—1978.
- Rougier N., Bourc'his D., Gomes D. M., Niveleau A., Plachot M., Padli A., Viegas-Pequignot E. 1998. Chromosome methylation patterns during mammalian preimplantation development. *Genes. Develop.* 12 : 2108—2113.
- Runte M., Kroisel P. M., Gillissen-Kaesbach G., Varon R., Horn D., Cohen M. Y., Wagstaff J., Horsthemke B., Buiting K. 2004. *SNURF-SNRPN* and *UBE3A* transcript levels in patients with Angelman syndrome. *Hum. Genet.* 114 : 553—561.
- Sandovici I., Kassovska-Bratinoval S., Loredano-Osti J. C., Lepert M., Suarez A., Stewart R., Bautista F. D., Schiraldi M., Sapienza C. 2005. Interindividual variability and parent of origin DNA methylation differences at specific human Alu elements. *Hum. Mol. Genet.* 14 : 2135—2143.
- Sarraf S. A., Stancheva I. 2004. Methyl-CpG binding protein MBD1 couples histone H3 methylation at lysine 9 by SETDB1 to DNA replication and chromatin assembly. *Mol. Cell.* 15 : 595—605.
- Saveliev A., Everett C., Sharpe T., Webster Z., Festenstein R. 2003. DNA triplet repeats mediate heterochromatin-protein-1-sensitive variegated gene silencing nature. *Development.* 130 : 909—913.
- Schlissel M. 2004. The spreading influence of chromatin modification. *Nat. Genet.* 36 : 438—440.
- Schoenherr C. J., Levorse J. M., Tilghman S. M. 2003. CTCF maintains differential methylation at the *Igf2/H19* locus. *Nat. Genet.* 33 : 66—69.
- Seitz H., Youngson N., Lin S. P., Dalbert S., Paulsen M., Bachellerie J. P., Ferguson-Smith A. C., Cavaillat J. 2003. Imprinted microRNA genes transcribed antisense to a reciprocally imprinted retrotransposon-like gene. *Nat. Genet.* 34 : 261—262.
- Selker E. U. 1999. Gene silencing: repeats that count. *Cell.* 97 : 157—160.
- Shemer R., Birger Y., Dean W. L., Reik W., Riggs A. D., Razin A. 1996. Dynamic methylation adjustment and counting as part of imprinting mechanisms. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93 : 6371—6376.
- Shemer R., Birger Y., Riggs A. D., Razin A. 1997. Structure of the imprinted mouse *Snrpn* gene and establishment of its parental-specific methylation pattern. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 94 : 10 267—10 272.

- Sherley J. C. 2002. Adult stem cell differentiation: what does it mean? Proc. Second Joint EMBS/BMES Conf. Houston, TX, USA. Oct. 23-26, 2002. 741—742.
- Shibata H., Yoda Y., Kato R., Ueda T., Kamiya M., Hiraiwa N. et al. 1998. A methylation imprint mark in the mouse imprinted gene *Grf1/Cdc25Mm* locus shares a common feature with the *U2afbp*s gene: an association with a short tandem repeat and a hypermethylation region. *Genomics*. 9 : 30—37.
- Shiota K. 2004. DNA methylation profiles of CpG islands for cellular differentiation and development in mammals. *Cytogen. Genome Res.* 105 : 325—334.
- Sleutels F., Barlow D. P. 2001. Investigation of elements sufficient to imprint the mouse *Air* promoter. *Mol. Cell. Biol.* 15 : 5008—5017.
- Sleutels F., Zwart R., Barlow D. 2002. The non-coding Air RNA is required for silencing autosomal imprinted genes. *Nature*. 415 : 810—813.
- Smit A. F., Toth G., Riggs A. D., Jurka J. 1995. Ancestral, mammalian-wide subfamilies of LINE-1 repetitive sequences. *J. Mol. Biol.* 246 : 401—407.
- Spector D. L. 2003. The dynamics of chromosome organization and gene regulation. *Annu. Rev. Biochem.* 72 : 573—608.
- Stadnick M. P., Pieracci F. M., Cranston M. J., Taksel E., Thorvaldsen J. L., Bartolomei M. S. 1999. Role of a 461-bp G-rich repetitive element in H19 transgene imprinting. *Develop. Genes Evol.* 209 : 239—248.
- Stoger R., Kubicka P., Liu C. G., Fafri T., Razin A., Cedar H., Barlow D. P. 1993. Maternal-specific methylation of the imprinted mouse *Igf2r* locus identifies the expressed locus as carrying the imprinted signal. *Cell*. 73 : 61—71.
- Strahl B. D., Allis C. D. 2000. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 403 : 41—45.
- Suchkova I. O., Baranova T. V., Kustova M. E., Kisljakova T. V., Vassiliev V. B., Slominskaja N. O., Alenina N. V., Patkin E. L. 2004. Bovine satellite DNA induces heterochromatinization of host chromosomal DNA in cells of transsatellite mouse embryonal teratocarcinoma cells. *Цитология*. 46 (1) : 53—61.
- Surani M. A., Barton S. C., Norris M. L. 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature*. 308 : 548—550.
- Szabo P. E., Hubner K., Scholer H., Mann J. R. 2002. Allele-specific expression of imprinted genes in mouse migratory primordial germ cells. *Mech. Develop.* 115 : 157—160.
- Szabo P. E., Pfeifer G. P., Mann J. R. 1998. Characterization of novel parent-specific epigenetic modifications upstream of the imprinted of the imprinted mouse *H19* gene. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 6767—6778.
- Szabo P. E., Pfeifer G. P., Miao F., O'Connor T. R., Mann J. R. 2000. Improved *in vivo* dimethyl sulfate footprinting using AlkA protein: DNA-protein interactions at the mouse *H19* gene promoter in primary embryo fibroblasts. *Anal. Biochem.* 283 : 112—116.
- Szyf M. 1996. The DNA methylation machinery as a target for anticancer therapy. *Pharmacol. Ther.* 70 : 1—37.
- Thorvaldsen J. L., Duran K. L., Bartolomei M. S. 1998. Deletion of the *H19* differentially methylated domain results in loss of imprinted expression of *H19* and *Igf2*. *Genes Develop.* 12 : 3693—3702.
- Tilghman S. M. 1999. The sins of the fathers and the mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell*. 96 : 185—193.
- Tremblay K. D., Duran K. L., Bartolomei M. S. 1997. A 5V 2-kilobase-pair region of the imprinted mouse *H19* gene exhibits exclusive paternal methylation throughout development. *Mol. Cell. Biol.* 17 : 4322—4329.
- Turker M. S. 1999. The establishment and maintenance of DNA methylation patterns in mouse somatic cells. *Semin. Cancer Biol.* 9 : 329—337.
- Turner B. M. 1998. Histone acetylation as an epigenetic determinant of long-term transcriptional competence. *Cell. Mol. Life Sci.* 54 : 21—31.
- Ueda T., Abe K., Miura A., Yuzuriha M., Zubair M., Noguchi M., Niwa K., Kawase Y., Kono T., Matsuda Y., Fujimoto H., Shibata H., Hayashizaki Y., Sasaki H. 2000. The paternal methylation imprint of the mouse *H19* locus is acquired in the gonocyte stage during foetal testis development. *Genes and Cells*. 5 : 649—659.
- Umlauf D., Goto Y., Cao R., Cerqueira F., Wagschal A., Zhang Y., Feil R. 2004. Imprinting along the *Kcnq1* domain on mouse chromosome 7 involves repressive histone methylation and recruitment of Polycomb group complexes. *Nat. Genet.* 36 : 1296—1300.
- Van Driel R., Fransz P. F., Verschure P. J. 2003. The eukaryotic genome: a system regulated at different hierarchical levels. *J. Cell Sci.* 116 : 4067—4075.
- Villar A. J., Eddy E. M., Pedersen R. A. 1995. Developmental regulation of genomic imprinting during gametogenesis. *Develop. Biol.* 172 : 264—271.
- Vogelauer M., Rubbi L., Lucas I., Brewer B. J., Grunstein M. 2002. Histone acetylation regulates the time of the replication origin firing. *Mol. Cell.* 10 : 1223—1233.
- Wagner E. 2001. Non-imprinted *Igf2r* expression decreases growth and rescues the Tme mutation in mice. *Development*. 128 : 1881—1887.
- Walsh C. P., Bestor T. H. 1999. Cytosine methylation and mammalian development. *Genes Develop.* 13 : 26—34.
- Walsh C. P., Chaillet J. R., Bestor T. H. 1998. Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. *Nat. Genet.* 20 : 116—117.
- Walter J., Paulsen M. 2003. Imprinting and disease. *Semin. Cell Develop. Biol.* 14 : 101—110.
- Walters M. C., Magis W., Fiering S., Eidemiller J., Scalzo D., Groudine M., Martin D. I. 1996. Transcriptional enhancers act in cis to suppress position effect variegation. *Genes Develop.* 10 : 185—195.
- Wilkins J. F., Haig D. 2003. What good is genomic imprinting: the function of parent-specific gene expression. *Nat. Rev. Genet.* 4 : 1—10.
- Wolffe A. P., Matzke M. A. 1999. Epigenetics: regulation through repression. *Science*. 286 : 481—486.
- Wutz A., Smrzka O. W., Schweifer N., Schellander K., Wagner D. P., Barlow A. 1997. Imprinted expression of the *Igf2r* gene depends on an intronic CpG island. *Nature*. 389 : 745—749.
- Wylie C. 2000. Germ cells. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 10 : 410—413.
- Yang T., Adamson T. E., Resnik J. L., Leff S., Weyrick R., Franke U., Jenkins N. A., Copeland N. G., Brannan C. I. 1998. A mouse model for Prader—Willi syndrome imprinting center mutations. *Nat. Genet.* 19 : 25—31.
- Yoon B. J., Herman H., Sikora A., Smith L. T., Plass C., Soloway P. D. 2002. Regulation of DNA methylation of *Rasgrf1*. *Nat. Genet.* 30 : 92—96.
- Yong L. E., Schnieke A. E., McCreath K. J., Wieckowski S., Konfortova G., Fernandes K., Ptak G., Kind A. J., Wilmot I., Pasqualino L. et al. 2003. Conservation of IGF2-H19 and IGF2R imprinting in sheep: effects of somatic cell nuclear transfer. *Mech. Develop.* 120 : 1433—1442.

REGULATORY MECHANISMS OF MAMMALIAN IMPRINTING

E. L. Patkin, I. O. Suchkova

Institute of Experimental Medicine RAMS, St. Petersburg;
e-mail: patkin@EP4686.spb.edu

Epigenetic modifications, such as monoallelic DNA methylation, covalent histone modifications, nonhistone proteins, chromatin folding, heterochromatinization, spatial nucleus organization are reviewed with regard to establishment and maintenance of imprinting in mammals. Special attention is paid to repeated DNA sequences as intermediates of the above epigenetic modifications. A suggestion is put forward relative to importance of preimplantation development, in particular, to chromosome organization and segregation in the establishment of imprinting. Some further directions of imprinting mechanisms are also discussed.

Key words: imprinting, methylation, epigenetics, repeated DNA sequences, chromatin, heterochromatin, microRNA, spatial nucleus organization.
