

НАСЛЕДОВАНИЕ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДИФИКАЦИЙ ХРОМАТИНА, НАПРАВЛЯЕМОЕ РНК

© Н. В. Томилин

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; электронный адрес: nvtom@mail.ru

Рассматриваются новые литературные данные о механизме наследования репрессивных эпигенетических модификаций хроматина, гистонов и ДНК, которые свидетельствуют о том, что эти модификации направляются РНК. РНК считывается с большинства участков генома, и тогда, когда она формирует дуплексные структуры за счет перекрывающейся транскрипции или за счет достраивания РНК-зависимой РНК-полимеразой, образуется гетерохроматин. Митотическое фосфорилирование Ser-10 в гистоне H3 стимулирует транскрипцию гетерохроматина и обеспечивает его восстановление в следующем цикле путем РНК-интерференции.

Ключевые слова: эпигенетика, модификация гистонов, хроматин, метилирование ДНК.

Генетическая информация в живых организмах передается в ряду поколений с помощью полуконсервативной матричной репликации ДНК во время синтетической (S) фазы клеточного цикла. Кроме того, при каждом делении в дочерние клетки передается большой объем эпигенетической информации, прежде всего информации об уровне транскрипционной активности каждого гена. Репликация ДНК основана на комплементарных взаимодействиях нуклеотидов и свойствах ДНК-полимераз, однако общий механизм наследования эпигенетических модификаций до последнего времени оставался неизвестным. Предполагалось, что такое наследование возможно благодаря пассивной передаче при клеточных делениях каких-то растворимых факторов нуклеоплазмы и цитоплазмы, например уникального набора белковых комплексов, способных регулировать транскрипцию. Эти комплексы, однако, быстро теряются при делениях, их необходимо восстанавливать путем ресинтеза и самосборки, и остается неясным, как такие комплексы могут узнавать те многочисленные участки генома, которые нужно репрессировать или активировать. Ранее на растениях было показано, что некоторые эпигенетические модификации (парамутации) передаются менделевским способом в нескольких поколениях через клетки зародышевого пути (Brink, 1958). Недавно это явление было подтверждено на мышах и установлено, что оно опосредовано РНК (Rassoulzadegan et al., 2006). Было также показано, что для передачи парамутаций у кукурузы требуется РНК-зависимая РНК-полимераза, т. е. репликация РНК (Alleman et al., 2006). Таким образом, наследование эпигенетических модификаций в ряду поколений у растений и животных возможно через РНК, а не ДНК или белок (Cuzin et al., 2008). В отличие от белковых комплексов даже короткие РНК (длиной 16—30 нуклеотидов) способны узнавать за счет комплементарности любые специфические участки генома и могут обеспечивать их адресную репрессию.

Нетранслируемая длинная (15 кб) РНК, участвующая в поддержании неактивной X-хромосомы (Xist RNA), была идентифицирована у мышей в 1991 г. (Brockdorff et al., 1991, 1992). Ген этой РНК находится в локусе на X-хромосоме (*Xic*), от которого распространяется волна репрессии транскрипции в инактивирующейся копии X-хромосомы в раннем эмбриогенезе у самок. Эта волна возникает благодаря постепенному накоплению Xist RNA по обе стороны от *Xic*, затем неактивность одной X-хромосомы поддерживается клонально во всех последующих делениях соматических клеток (Heard, 2005). Дополнительная Xist РНК, необходимая для поддержания репрессии, синтезируется, очевидно, при каждом делении соматических клеток. В 2008 г. показано, что выключение аппарата интерференции РНК (инактивация гена *DICER*, см. ниже) подавляет синтез Xist РНК на активной X-хромосоме и накопление Xist РНК на неактивной X (Ogawa et al., 2008).

Роль короткой (малой) РНК в регуляции генной экспрессии была впервые показана на модели гена *Lin-4 Cae-norhabditis elegans* в лаборатории В. Амброса в 1993 г. (Lee et al., 1993). Направляемое РНК метилирование ДНК было открыто в 1994 г. на растениях, инфицированных виридами (Wassenegger et al., 1994). Специфическое ингибирование транскрипции искусственно введенной дуплексной РНК было впервые обнаружено в опытах на *C. elegans* в 1998 г. (Fire et al., 1998), эта работа была недавно удостоена Нобелевской премии. Затем последовали многочисленные работы на различных объектах, которые выявили специфические консервативные гены и белковые комплексы, необходимые для процессинга дуплексной РНК и образования малых интерферирующих РНК (siRNA): гены *DICER*, *ARGONAUTE*, а также комплексы RISC (RNA Induced Silencing Complex) и RITS (RNA Induced Transcription Silencing) (см. обзоры: Bernstein et al., 2001; Hannon, 2002; Baulcombe, 2004; Lippman, Martienssen, 2004). Комплексы RISC вызывают распад мРНК или

торможение ее трансляции, а комплексы RITS необходимы для подавления транскрипции и поддержания гетерохроматина (Lippman, Martienssen, 2004; Matzke, Matzke, 2004). На дрозофиле индуцируемое дуплексной РНК глушение транскрипции tandemных повторов и транспозонов в клетках зародышевого пути было открыто в лаборатории В. А. Гвоздева (Aravin et al., 2001). Дальнейшее исследование этого явления показало, что оно зависит от малых РНК, связывающихся с белком PIWI (разновидность белка ARGONAUTE) и его гомологами в клетках млекопитающих MILI и MIWI (Aravin et al., 2004, 2007a, 2007b). Эти же белки направляют метилирование ДНК ретротранспозонов в мужских гонадах у мышей (Kugamochi-Miyazawa et al., 2008), но они, по-видимому, не работают в соматических клетках животных, которые используют другой путь РНК-интерференции, зависящий от белка DICER (Obbard, Finnegan, 2008). РНК, взаимодействующие с белком PIWI, считаются с определенных кластеров в геноме, содержащих ретротранспозоны, и затем процессируются в одноцепочечную РНК длиной 23—29 нуклеотидов, но неясно, может ли с помощью PIWI процессироваться любая дуплексная РНК. Различные пути и механизмы РНК-интерференции рассмотрены недавно в обзоре Рязанского и Гвоздева (Ryazansky, Gvozdev, 2007).

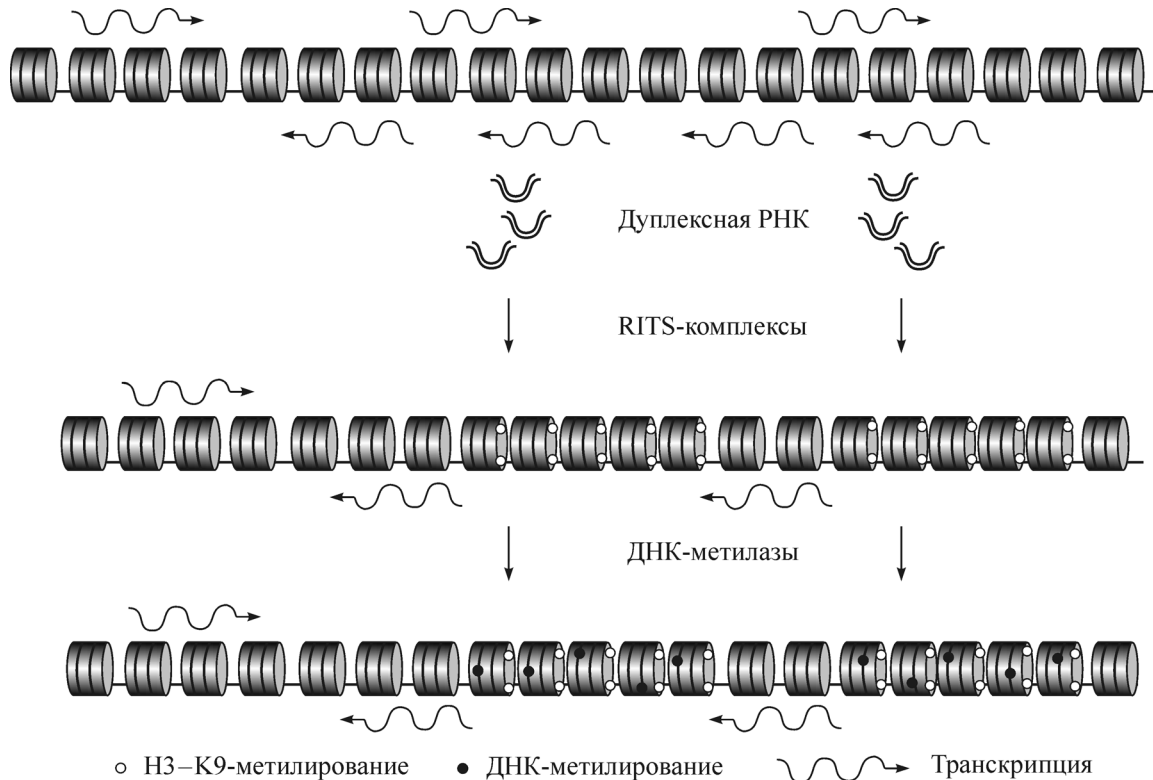
Долгое время считалось, что экспрессируется лишь очень небольшая доля (<5 %) геномов высших эукариот, соответствующая кодирующим последовательностям белков и некоторых важных РНК, однако в последние годы выяснено, что в клетках животных транскрибируется не менее 70 % генома, причем имеется очень много транскриптов с обеих комплементарных нитей (Carninci et al., 2005; Karpanov et al., 2007). Интенсивность транскрипции разных участков генома, конечно, существенно варьирует, но при некоторых условиях транскрибируется даже компактный центромерный хроматин. Поскольку главным первичным продуктом геномом является РНК, для биологии развития предлагается новая парадигма, состоящая в том, что некодирующая РНК имеет регуляторные функции (Mattick, 2007) и что РНК контролирует эпигенетические модификации соматических клеток, на которых основаны все онтогенезы многоклеточных организмов. Значительную часть «некодирующей» ДНК составляют ретроэлементы, которые играют важную роль в регуляции экспрессии генов (Goodier, Kazazian, 2008; Tomilin, 2008) и, таким образом, могут существенно влиять на состав кодирующих и некодирующих РНК в клетке.

В соматических клетках в хроматине имеются как активно транскрибирующиеся домены (составляющие эухроматин), так и неактивные домены (гетерохроматин), в которых транскрипция подавлена, причем характерная для данного типа клеток мозаика активных и неактивных доменов передается во время клеточных делений. В транскрипционно неактивных доменах ДНК, как правило, метилирована по цитозину в парах CpG (Vaniushin, 2006), а гистон H3 в хроматине метилирован по остатку Lys-9 или Lys-27. При делениях сохраняется как картина метилирования ДНК, так и картина обратимых посттрансляционных модификаций гистонов (Bradbury, 1992), составляющая так называемый гистоновый код (Strahl, Allis, 2000; Jenuwein, Allis, 2001). Считается, что картина метилирования ДНК воспроизводится благодаря дополнительному метилированию во время S-фазы полуметилированной ДНК-специфической «поддерживающей» ДНК-метилазой типа DNMT1, которая имеется в соматических и половых клетках (Bestor, 2000). Эта метилаза,

однако, может модифицировать и неметилированную ДНК и имеет лишь небольшое предпочтение к полуметилированной ДНК (Yoder et al., 1997). Остается неясным, почему DNMT1 не модифицирует в соматических клетках транскрипционно активные домены хроматина *de novo*. Вероятно, дополнительные регуляторные факторы, а также структура хроматина играют главную роль в определении мишеней для DNMT1, даже полуметилированной ДНК. Таким фактором может быть, например, белок UHRF 1, который «выворачивает» 5-метилцитозин из дуплексной полуметилированной ДНК (Arita et al., 2008; Avvakumov et al., 2008; Hashimoto et al., 2008). Предполагается, что важную роль среди указанных факторов играют также модификации хроматина, направляемые РНК (Kloc, Martienssen, 2008).

Что касается механизма воспроизведения картины модификаций гистонов, то рассматриваются две гипотезы. Согласно первой из них, модификации гистонов непосредственно направляются метилированием ДНК путем привлечения гистонмодифицирующих ферментов. Репрессивное метилирование гистона H3 по Lys-9 воспроизводится после поддерживающего CpG-метилирования ДНК сразу после ее репликации. Это происходит с помощью метил-CpG-связывающего белка MBD1, который привлекает в сайты репликации гистонметилазу SETDB1 (Sarraf, Stancheva, 2004), а также за счет специфических белок-белковых взаимодействий комплекса PCNA—DNMT1 с гистонметилазой G9a и гистондеацетилазой HDAC2, а также взаимодействий MBD1—HP1 с гистонметилазой Suv39h1 (Groth et al., 2007). Предполагается, что высокая концентрация в репликативных фокусах указанных метилаз автоматически ведет к метилированию Lys-9 в гистоне H3 (H3K9) и деацетилированию других гистонов и этот процесс направляется поддерживающим метилированием ДНК. MBD1 взаимодействует также с белками Ring1b и hPc2 репрессивного комплекса Polycomb (Sakamoto et al., 2007) и может поэтому направлять метилирование гистона H3 по Lys-27 с помощью гистонметилазы EZH2, которая является субъединицей указанного комплекса. Изложенная гипотеза, однако, не согласуется с данными, полученными на растениях и filamentозных грибах, о том, что метилирование ДНК направляется метилированием гистонов (Jackson et al., 2002; Tamagu et al., 2003). У мышей инактивация гена гистонметилтрансферазы Suv39h, которая метилирует H3K9, понижает метилирование прицентромерных сателлитных ДНК (Lehnertz et al., 2003). Во время эпигенетической инактивации гена опухолевого супрессора RASSF1A в клетках человека в промоторе этого гена вначале происходит метилирование H3K9, а затем уже метилирование ДНК (Strunnikova et al., 2005). По последним данным, полученным на эмбриональных стволовых клетках млекопитающих, метилирование H3K9 метилазой G9a и метилирование ДНК происходит независимо друг от друга (Dong et al., 2008; Tachibana et al., 2008). Кроме того, в некоторых геномах позвоночных имеются довольно протяженные районы некодирующей ДНК, не содержащие пар CpG, которые не могут быть метилированы вообще. К ним относится, например, теломерный гетерохроматин, состоящий из tandemных повторов (TTAGGG)_n (Tomilin, 2008). Таким образом, метилирование ДНК не может направлять эпигенетические модификации гистонов.

Вторая гипотеза относительно механизма воспроизведения картины репрессивных модификаций гистонов во время клеточных делений состоит в том, что метилирова-



Образование гетерохроматина благодаря перекрывающейся транскрипции.

ние гистона H3 по лизину-9 направляется транскрипцией и siРНК. Большая роль малых РНК в поддержании гетерохроматина в дрожжах *Schizosaccharomyces pombe* была установлена несколько лет назад (Volpe et al., 2002; Cam et al., 2005; Martienssen et al., 2005), однако оставалось неясным, как регулируется транскрипция гетерохроматина, необходимая для образования малых РНК, в клеточном цикле. В 2008 г. опубликованы две статьи, где этот вопрос проясняется и предлагается модель наследования репрессивных модификаций гетерохроматина при клеточных делениях дрожжей *S. pombe* с помощью siРНК (Chen et al., 2008; Kloc et al., 2008). Ключевое событие происходит в митозе путем фосфорилирования Ser-10 в гистоне H3, что приводит к элиминации гетерохроматинового белка Swi6 (HP1) и активации транскрипции в фазах G₁ и ранней S. Транскрипты гетерохроматина накапливаются в S-фазе и превращаются в специфические siРНК-комплексы (RITS-комплексы: RNA Induced Transcription Silencing), которые индуцируют дополнительное метилирование Lys-9 в гистоне H3 (после репликации) и связывание белка Swi6, полностью восстанавливая тем самым гетерохроматин в новом цикле. Таким образом, у *S. pombe* гетерохроматин частично разрушается и восстанавливается при каждом клеточном делении с помощью РНК-интерференции. Эта схема рассматривается как модель восстановления модификаций гистонов в клеточном цикле, которые направляют образование гетерохроматина (Thon, 2008), и даже как общая модель эпигенетического наследования у эукариот, направляемого РНК-интерференцией (Kloc, Martienssen, 2008). Насколько оправданна такая точка зрения?

Можно считать, что фосфорилирование гистона H3 и элиминация в митозе не являются специфическими для центрального гетерохроматина *S. pombe*: показано, что

митотическая элиминация всех трех форм белка HP1 (альфа, бета и гамма) происходит и в клетках мышей, причем во время митоза в хромосомах остается триметилированный H3K9, сохраняющий репрессорную маркировку гетерохроматина (Fischle et al., 2005; Hirota et al., 2005) и, вероятно, ответственный за известные C-банды в митотических хромосомах. В клетках млекопитающих пик транскрипции периферического гетерохроматина обнаружен в ранней S-фазе клеточного цикла, однако белок HP1 остается в этот период связанным с гетерохроматином (Lu, Gilbert, 2008). Мышиный гетерохроматин транскрибируется и в митозе, когда HP1 удаляется благодаря фосфорилированию H3-Ser-10 (Fischle et al., 2005), но короткие РНК, комплементарные гетерохроматиновым повторам, а также RITS-комплексы пока не идентифицированы. Транскрипция гетерохроматина происходит во время G₁- и ранней S-фазы, но образование специфических siРНК зависит от того, формируется ли дуплексная РНК, необходимая для созревания комплексов RITS. Формирование такой РНК возможно либо при наличии в РНК инвертированных повторов, либо при встречной транскрипции обеих комплементарных нитей, либо путем достраивания второй комплементарной нити РНК с помощью комплекса, содержащего РНК-зависимую РНК-полимеразу (RDRC). У дрожжей *S. pombe* и у растений такая РНК-полимераза имеется, она необходима для образования центрального гетерохроматина (Iida et al., 2008), однако в клетках животных RDRC не обнаружена и дуплексные РНК могут формироваться, по-видимому, только за счет перекрывающихся транскриптов или при наличии в этих транскриптах инвертированных повторов. Очевидно, что высокоактивные гены, в которых транскрибируется только одна нить ДНК, не могут продуцировать дуплексные РНК, однако в доменах, в которых интен-

сивность смысловой транскрипции сопоставима с интенсивностью антисмысловой транскрипции, дуплексные РНК могут возникать. Дуплексная РНК, образование комплексов RITS и нецентромерного гетерохроматина в фазе G₁ цикла путем РНК-интерференции были обнаружены при анализе конвергентной транскрипции соседних генов у *S. pombe* (Gullerova, Proudfoot, 2008). По-видимому, не только центромерные транскрипты, но и другие транскрипты, способные образовывать дуплексную РНК, могут индуцировать РНК-интерференцию у *S. pombe*.

У животных идентифицировано много конвергентных кодирующих и не кодирующих транскриптов, которые могут формировать дуплексную РНК и комплексы RITS. В базе данных ANTICODE (по адресу: www.anticode.org) имеется более 10 000 пар перекрывающихся транскриптов из клеток человека. Соответствующие siРНК могут давать существенный вклад в эпигенетическую регуляцию геновой экспрессии и воспроизведение картины экспрессии при клеточных делениях. В 2008 г. был идентифицирован новый класс эндогенных siРНК, подавляющих транскрипцию транспозонов в соматических клетках дрозофилы (Obbard, Finnegan, 2008). Эти 3'-метилированные РНК длиной 21 нуклеотид оказались комплементарными транспозонами и некоторым другим локусам, включая естественные антисмысловые транскрипты (Okamura et al., 2008), а также длинные инвертированные (fold-back) последовательности, а их процессинг зависел от продуктов генов *Dicer 2* (*Dcr2*) и *Argonaute 2* (*Ago2*). В этих малых РНК обнаружены признаки редактирования (Chung et al., 2008; Kawamura et al., 2008) и сделано предположение о том, что они нужны для поддержания гетерохроматина в соматических клетках (Kawamura et al., 2008). Пока неясно, работают ли аналогичные малые РНК в соматических клетках млекопитающих, однако есть указания на то, что РНК, считываемая с некоторых ретроэлементов млекопитающих, например инвертированных Alu-повторов, локализованных в 3'-UTR-районах иРНК, подвергается интенсивному редактированию, состоящему в ферментативном превращении аденозина в инозин, который спаривается, как гуанозин (Levanon et al., 2005). Функциональное значение такого редактирования Alu-РНК не установлено, однако инвертированные Alu в интронах генов редактируются и влияют на альтернативный сплайсинг иРНК (Lev-Maor et al., 2008). Следовательно, они могут комплементарно взаимодействовать в составе пре-иРНК и регулировать альтернативный сплайсинг. Редактирование РНК и подавление геновой экспрессии путем РНК интерференции как-то связаны (Nishikura, 2006), однако неясно, могут ли siРНК, комплементарные ретроэлементам млекопитающих, формироваться за счет перекрывания смысловой и антисмысловой транскрипции. Вероятность такого перекрывания достаточно велика, но пока дуплексные РНК ретроэлементов в соматических клетках не идентифицированы. Не идентифицированы также дуплексные РНК, считанные с тандемных повторов «теломерного» гетерохроматина, имеющегося у некоторых видов позвоночных, который динамически связывает белок TRF1 и, по-видимому, транскрибируется на низком уровне (Smirnova et al., 2005; Svetlova et al., 2007) подобно центромерному гетерохроматину.

Эксперименты с искусственной экспрессией интерферирующих РНК не дают основания предполагать, что какие-то последовательности не могут процессироваться аппаратом РНК-интерференции. По-видимому, любые

РНК-дуплексы могут трансформироваться в siРНК и вызывать подавление экспрессии комплементарных генов мишеней путем интерференции, а общий контроль осуществляется на уровне регуляции антисмысловой транскрипции (см. рисунок). В участках, содержащих активные гены, антисмысловая транскрипция, очевидно, должна быть подавлена, например за счет мутационной инактивации потенциальных промоторов. Другим эффективным способом подавления антисмысловой транскрипции является также ее ранняя терминация, которая может осуществляться путем инсерции определенных ретроэлементов в одной ориентации. Мотив ААТААА (консенсусный сайт полиаденилирования РНК) работает как терминатор транскрипции, но его активность сильно зависит от окружающих последовательностей. Зависимая от ориентации терминация транскрипции РНК-полимеразой II последовательностью, содержащей ССААТ-боксы, известна уже давно (Connolly, Manlet, 1989).

В заключение можно отметить, что пока еще преждевременно принимать предложенную для центромерного гетерохроматина *S. pombe* модель (Kloc, Martienssen, 2008) как общую модель эпигенетического наследования. Во-первых, для млекопитающих не установлено, как регулируются антисмысловая транскрипция, образование малых РНК и RITS-комплексов в соматических клетках. Во-вторых, некоторые типы гетерохроматина поддерживаются без участия метилирования H3K9 и метилирования ДНК. В-третьих, имеются данные о том, что не только РНК-интерференция играет роль при эпигенетических модификациях. Даже у *S. pombe* имеются как зависимые так и не зависимые от РНК-интерференции пути образования гетерохроматина (Buhler et al., 2007). Метилирование ДНК не зависит от РНК-интерференции у нейроспоры (Freitag et al., 2004), хотя оно и направляется метилированием гистонов (Tamaru et al., 2003). Не зависимые от РНК-интерференции пути регуляции, однако могут включать в себя другие РНК-зависимые элементы, например ДНК- и РНК-связывающие белки. Возможно, конечно, что существуют и независимые от транскрипции пути регуляции геновой экспрессии, однако в настоящее время наиболее актуальным представляется изучение глобальной самоорганизации смысловой и антисмысловой транскрипции в клеточном ядре, механизмов ее инициации и терминации.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы по молекулярной и клеточной биологии, а также Российского фонда фундаментальных исследований (проект 07-04-00311).

Список литературы

- Alleman M., Sidorenko L., McGinnis K., Seshadri V., Dorweiler J. E., White J., Sikkink K., Chandler V. L. 2006. An RNA polymerase is required for paramutation in maize. *Nature*. 442 : 295—298.
- Aravin A. A., Bourc'his D. 2008. Small RNA guides for *de novo* DNA methylation in mammalian germ cells. *Genes Develop.* 22 : 970—975.
- Aravin A. A., Hannon G. J., Brennecke J. 2007a. The Piwi-piRNA pathway provides an adaptive defense in the transposon arms race. *Science*. 318 : 761—764.
- Aravin A. A., Klenov M. S., Vagin V. V., Bantignie F., Cavalli G., Gvozdev V. A. 2004. Dissection of a natural RNA silencing process in the *Drosophila melanogaster* germ line. *Mol. Cell. Biol.* 24 : 6742—6750.

- Aravin A. A., Naumova N. M., Tulin A. V., Vagin V. V., Rozovskiy Y. M., Gvozdev V. A. 2001. Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D. melanogaster* germline. *Curr. Biol.* 11 : 1017—1027.
- Aravin A. A., Sachidanandam R., Girard A., Fejes-Toth K., Hannon G. J. 2007b. Developmentally regulated piRNA clusters implicate MILI in transposon control. *Science*. 316 : 744—747.
- Arita K., Ariyoshi M., Tochio H., Kawamura Y., Shirakawa M. 2008. Recognition of hemimethylated DNA by the SRA protein UHRF1 by a base-flipping mechanism. *Nature*. 455 : 818—821.
- Avvakumov G. V., Walker J. R., Xue S., Li Y., Duan S., Bronner C., Arrowsmith C. H., Dhe-Paganon S. 2008. Structural basis for recognition of hemi-methylated DNA by the SRA domain of human UHRF1. *Nature*. 455 : 822—825.
- Baulcombe D. 2004. RNA silencing in plants. *Nature*. 431 : 356—363.
- Bernstein E., Denli A. M., Hannon G. J. 2001. The rest is silence. *RNA*. 7 : 1509—1521.
- Bestor T. H. 2000. The DNA methyltransferases of mammals. *Hum. Mol. Genet.* 9 : 2395—2402.
- Bradbury E. M. 1992. Reversible histone modifications and the chromosome cell cycle. *Bioessays*. 14 : 9—16.
- Brink R. A. 1958. Paramutation at the R locus in maize. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 23 : 379—391.
- Brockdorff N., Ashworth A., Kay G. F., Cooper P., Smith S., McCabe V. M., Norris D. P., Penny G. D., Patel D., Rastan S. 1991. Conservation of position and exclusive expression of mouse Xist from the inactive X chromosome. *Nature*. 351 : 329—331.
- Brockdorff N., Ashworth A., Kay G. F., McCabe V. M., Norris D. P., Cooper P. J., Swift S., Rastan S. 1992. The product of the mouse Xist gene is a 15 kb inactive X-specific transcript containing no conserved ORF and located in the nucleus. *Cell*. 71 : 515—526.
- Buhler M., Haas W., Gygi S. P., Moazed D. 2007. RNAi-dependent and -independent RNA turnover. *Cell*. 129 : 707—721.
- Cam H. P., Sugiyama T., Chen E. S., Chen X., FitzGerald P. C., Grewal S. I. 2005. Comprehensive analysis of heterochromatin- and RNAi-mediated epigenetic control of the fission yeast genome. *Nat. Genet.* 37 : 809—819.
- Carninci P., Kasukawa T., Katayama S., Gough J., Frith M. C., Maeda N. et al. 2005. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*. 309 : 1559—1563.
- Chen E. S., Zhang K., Nicolas E., Cam H. P., Zofall M., Grewal S. I. 2008. Cell cycle control of centromeric repeat transcription and heterochromatin assembly. *Nature*. 451 : 734—737.
- Chung W. J., Okamura K., Martin R., Lai E. C. 2008. Endogenous RNA interference provides a somatic defense against *Drosophila* transposons. *Curr. Biol.* 18 : 795—802.
- Connelly S., Manley J. L. 1989. RNA polymerase II transcription termination is mediated specifically by protein binding to a CCAAT box sequence. *Mol. Cell. Biol.* 9 : 5254—5259.
- Cuzin F., Grandjean V., Rassoulzadegan M. 2008. Inherited variation at the epigenetic level: paramutation from the plant to the mouse. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 18 : 93—196.
- Dong K. B., Maksakova I. A., Mohn F., Leung D., Appanah R., Lee S., Yang H. W., Lam L. L., Mager D. L., Schübeler D., Tachibana M., Shinkai Y., Lorincz M. C. 2008. DNA methylation in ES cells requires the lysine methyltransferase G9a but not its catalytic activity. *EMBO J.* Sep. 25.
- Fire A., Xu S., Montgomery M. K., Kostas S. A., Driver S. E., Mello C. C. 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 391 : 806—811.
- Fischle W., Tseng B. S., Dormann H. L., Ueberheide B. M., Garcia B. A., Shabanowitz J., Hunt D. F., Funabiki H., Allis C. D. 2005. Regulation of HP1-chromatin binding by histone H3 methylation and phosphorylation. *Nature*. 438 : 1116—1122.
- Freitag M., Lee D. W., Kothe G. O., Pratt R. J., Aramayo R., Selker E. U. 2004. DNA methylation is independent of RNA interference in *Neurospora*. *Science*. 304 : 1939.
- Goodier J. L., Kazazian H. 2008. Retrotransposons revisited: the restraint and rehabilitation of parasites. *Cell*. 135 : 23—35.
- Groth A., Corpet A., Cook A. J., Roche D., Bartek J., Lukas J., Almouzni G. 2007. Regulation of replication fork progression through histone supply and demand. *Science*. 318 : 1928—1931.
- Gullerova M., Proudfoot N. J. 2008. Cohesin complex promotes transcriptional termination between convergent genes in *S. pombe*. *Cell*. 132 : 983—995.
- Hannon G. J. 2002. RNA interference. *Nature*. 418 : 244—251.
- Hashimoto H., Horton J. R., Zhang X., Bostick M., Jacobsen S. E., Cheng X. 2008. The SPA domain of UNRF1 flips 5-methylcytosine out of the DNA helix. *Nature*. 455 : 826—829.
- Heard E. 2005. Delving into the diversity of facultative heterochromatin: the epigenetics of the inactive X chromosome. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 15 : 482—489.
- Hirota T., Lipp J. J., Toh B. H., Peters J. M. 2005. Histone H3 serine 10 phosphorylation by Aurora B causes HP1 dissociation from heterochromatin. *Nature*. 438 : 1176—1180.
- Iida T., Nakayama J., Moazed D. 2008. siRNA-mediated heterochromatin establishment requires HP1 and is associated with antisense transcription. *Mol. Cell*. 31 : 178—189.
- Jackson J. P., Lindroth A. M., Cao X., Jacobsen S. E. 2002. Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase. *Nature*. 416 : 556—560.
- Jenuwein T., Allis C. D. 2001. Translating the histone code. *Science*. 293 : 1074—1080.
- Kapranov P., Willingham A. T., Gingeras T. R. 2007. Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nat. Rev. Genet.* 8 : 413—423.
- Kawamura Y., Saito K., Kin T., Ono Y., Asai K., Sunohara T., Okada T. N., Siomi M. C., Siomi M. E. 2008. *Drosophila* endogenous small RNAs bind to Argonaute 2 in somatic cells. *Nature*. 453 : 793—797.
- Kloc A., Martienssen R. 2008. RNAi, heterochromatin and the cell cycle. *Trends Genet.* Sep. 6.
- Klos A., Zaratiegui M., Nora E., Martienssen R. 2008. RNA interference guides histone modification during the S phase of chromosomal replication. *Curr. Biol.* 18 : 490—495.
- Kuramochi-Miyagawa S., Watanabe T., Gotoh K., Totoki Y., Toyoda A., Ikawa M., Asada N., Kojima K., Yamaguchi Y., Ijiri T. W., Hata K., Li E., Matsuda Y., Kimura T., Okabe M., Sasaki Y., Sasaki H., Nakano T. 2008. DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes. *Genes. Develop.* 22 : 908—917.
- Lee R. C., Feinbaum R. L., Ambros V. 1993. The *C. elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementary to lin-14. *Cell*. 75 : 843—854.
- Lehnertz B., Ueda Y., Derijck A. A., Braunschweig U., Perez-Burgos L., Kubicek S., Chen T., Li E., Jenuwein T., Peters A. H. 2003. Suv39h-mediated histone H3 lysine 9 methylation directs DNA methylation of major satellite repeats at pericentric heterochromatin. *Curr. Biol.* 13 : 1192—1200.
- Levanon K., Eisenberg E., Rechavi G., Levanon E. Y. 2005. Letter from the editor: Adenosine-toinosine RNA editing in Alu repeats in the human genome. *EMBO Rep.* 6 : 831—835.
- Ley-Maor G., Ram O., Kim E., Sela N., Goren A., Levanon E. Y., Ast G. 2008. Intronic Alus influence alternative splicing. *PLoS Genet.* 4 paper e1000204.
- Lippman Z., Martienssen R. 2004. The role of RNA interference in heterochromatic silencing. *Nature*. 431 : 364—370.
- Lu J., Gilbert D. M. 2008. Cell cycle regulated transcription of heterochromatin in mammals vs. fission yeast: functional conservation or coincidence? *Cell Cycle*. 7 : 1907—1910.
- Martienssen R. A., Zaratiegui M., Goto D. B. 2005. RNA interference and heterochromatin in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Trends Genet.* 21 : 450—456.
- Mattick J. S. 2007. A new paradigm for developmental biology. *J. Exp. Biol.* 210 : 1526—1547.
- Matzke M. A., Matzke A. J. 2004. Planting the seeds of a new paradigm. *PLoS Biol.* 2 paper E133.
- Nishikura K. 2006. Editor meets silencer: crosstalk between RNA editing and RNA interference. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 7 : 919—931.

- Obbard D. J., Finnegan D. J. 2008. RNA interference: endogenous siRNAs derived from transposable elements. *Curr. Biol.* 18 : R561—R563.
- Ogawa Y., Sun B. K., Lee J. T. 2008. Intersection of the RNA interference and X-inactivation pathways. *Science*. 320 : 1336—1341.
- Okamura K., Balla S., Martin R., Liu N., Lai E. C. 2008. Two distinct mechanisms generate endogenous siRNAs from bidirectional transcription in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15 : 581—590.
- Rassoulzadegan M., Grandjean V., Gounon P., Vincent S., Gillet I., Cuzin F. 2006. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature*. 441 : 469—474.
- Ryazansky S. S., Gvozdev V. A. 2007. Small RNAs and cancerogenesis. *Biochemistry (Mosc.)*. 73 : 514—527.
- Sakamoto Y., Watanabe S., Ichimura T., Kawasuji M., Koseki H., Baba H., Nakao M. 2007. Overlapping roles of the methylated DNA-binding protein MBD1 and polycomb group proteins in transcriptional repression of HOXA genes and heterochromatin foci formation. *J. Biol. Chem.* 282 : 16 391—16 400.
- 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.
- Smirnova A. N., Krutilina R. I., Tomilin N. V. 2005. Dynamic binding of the telomeric human protein TRF1 to intrachromosomal blocks (TTAGGG)_n in living *Chinese hamster* cells depends on transcription. *Mol. Biol. (Mosc.)*. 39 : 978—983.
- Strahl B. D., Allis C. D. 2000. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 403 : 41—45.
- Strunnikova M., Schagdarsurengin U., Kehlen A., Garbe J. C., Stampfer M. R., Dammann R. 2005. Chromatin inactivation precedes *de novo* DNA methylation during the progressive epigenetic silencing of the RASSF1A promoter. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 3923—3933.
- Svetlova M. P., Solovjeva L. V., Smirnova A. N., Tomilin N. V. 2007. Long interstitial (TTAGGG)_n arrays do not colocalize with repressive chromatin modification in *Chinese hamster* cells. *Cell Biol. Int.* 31 : 308—315.
- Tachibana M., Matsumura Y., Fukuda M., Kimura H., Shin-kai Y. 2008. G9a/GLP complexes independently mediate H3K9 and DNA methylation of silence transcription. *EMBO J.* Sep. 25.
- Tamaru H., Zhang X., McMillen D., Singh P. B., Nakayama J., Grewal S. I., Allis C. D., Cheng X., Selker E. U. 2003. Trimethylated lysine 9 of histone H3 is a mark for DNA methylation in *Neurospora crassa*. *Nat. Genet.* 34 : 75—79.
- Thon G. 2008. Histone modifications: cycling with chromosomal replication. *Curr. Biol.* 18 : R380—R382.
- Tomilin N. V. 2008. Regulation of mammalian gene expression by retroelements and non-coding tandem repeats. *Bioessays*. 303 : 338—348.
- Vaniushin B. F. 2006. DNA methylation and epigenetics. *Genetika (Mosc.)*. 42 : 1186—1199.
- Volpe T. A., Kidner C., Hall I. M., Teng G., Grewal S. I., Martienssen R. A. 2002. Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*. 297 : 1833—1837.
- Wassenegger M., Neimes S., Riedel L., Sanger H. L. 1994. RNA-directed *de novo* methylation of genomic sequences in plants. *Cell*. 76 : 567—576.
- Yoder J. A., Soman N. S., Verdine G. L., Bestor T. H. 1997. DNA (cytosine-5)-methyltransferases in mouse cells and tissues. Studies with a mechanism-based probe. *J. Mol. Biol.* 270 : 385—395.

Поступила 5 XI 2008

INHERITANCE OF RNA-DIRECTED EPIGENETIC MODIFICATIONS OF CHROMATIN

N. V. Tomilin

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg; e-mail: nvtom@mail.ru

Published data are reviewed on the mechanism of inheritance of repressive epigenetic modifications of chromatin, histone and DNA, which suggest that they depend on RNA. RNA is transcribed from most of genome compartments and when it forms duplex structures because of overlapping transcription or because of resynthesis by RNA-dependent RNA polymerase, heterochromatin is generated. Mitotic phosphorylation of Ser-10 in histone H3 stimulates transcription of heterochromatin and its recovery in the next cell cycle by RNA interference.

Key words: epigenetics, modifications of histones, chromatin, methylation of DNA.