

НAR: ИСТОРИЯ, ФУНКЦИИ, РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

© 2022 г. А. С. Рыжкова¹, А. А. Хабарова¹, А. С. Чвилёва², Т. А. Шнайдер¹ *

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090 Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090 Россия

*E-mail: shnayder.t@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

После доработки 13.04.2022 г.

Принята к публикации 13.04.2022 г.

Предполагается, что большую роль в эволюции человека играют в первую очередь изменения механизмов регуляции генов, а не изменения последовательностей, кодирующих белок. Недавние исследования выявили существование особого класса геномных элементов – HAR (*human accelerated regions*). Они представляют собой консервативные у млекопитающих некодирующие последовательности ДНК, начавшие в ходе эволюции накапливать специфические для человека мутации. С момента их открытия фактическая роль HAR в эволюции человека оставалась неясной, поскольку они почти исключительно представлены некодирующими последовательностями без аннотаций. В настоящее время известно, что HAR-элементы обогащены мотивами связывания транскрипционных факторов и гистоновыми метками активного хроматина. Исследования последних лет с использованием данных функциональной геномики, вычислительных подходов и генетического анализа показали, что многие HAR участвуют в регуляции генов развития и внесли значительный вклад в эволюцию мозга человека, в частности увеличение объема коры больших полушарий. Также есть несколько свидетельств связи полиморфизмов в последовательностях HAR с развитием различных нейропатологий, таких как расстройства аутистического спектра, шизофрения и болезнь Хантингтона. Такие функциональные методики анализа, как высокопроизводительный репортерный анализ и скрининги с использованием системы CRISPR, значительно увеличивают количество охарактеризованных регуляторных элементов, специфичных для человека. Дальнейшее исследование HAR и других эволюционно динамичных областей генома может прояснить некоторые сложные эволюционные изменения, лежащие в основе уникальной цитоархитектуры и когнитивных способностей мозга человека. В данном обзоре мы осветили подходы к идентификации HAR в геноме, их роль в регуляции активности генов, вклад в эволюцию мозга человека и рассмотрели некоторые патологические эффекты от мутаций в последовательностях HAR.

Ключевые слова: зоны ускоренного развития у человека, HAR, нейрогенез, эволюция головного мозга

DOI: 10.31857/S0041377122040083

Головной мозг – это один из самых сложно устроенных органов. Грандиозный эволюционный скачок, произошедший около 14 млн лет назад, привел к значительному увеличению его размеров и появлению уникальных когнитивных способностей у рода *Ното*. В основе таких глобальных изменений лежит эволюция сложных молекулярно-генетических механизмов, контролирующих развитие головного мозга человека. В 1975 году была выдвинута гипотеза (Kings, Wilson, 1975) о первостепенной роли изменений механизмов регуляции генов, а не изменения последовательностей, кодирующих белок, которая за последние два десятилетия подкреплена целым рядом исследований (Cretkos et al., 2008; Prabhakar et al., 2008; Guerreiro et al., 2013; Cooper et al., 2014). В данном контексте обнаруженные совсем недавно в геноме человека зоны ускоренного развития (*human*

accelerated regions – HAR) (Pollard et al., 2006; Prabhakar et al., 2006) представляют собой особый интерес как один из драйверов эволюции.

В этом обзоре мы рассмотрим основные подходы для идентификации последовательностей HAR в геноме, их роль в регуляции активности генов и вклад в эволюцию головного мозга человека. Также мы обратим внимание на некоторые патологии нервной системы, возникающие в результате мутаций в последовательностях HAR.

СПОСОБЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ HAR В ГЕНОМЕ

Зоны ускоренного развития человека (HAR) – это консервативные последовательности ДНК, которые достаточно медленно изменялись на протяже-

нии эволюции млекопитающих, но после отделения линии человека начали активно накапливать мутации и подвергаться положительному отбору. Именно этот процесс, как полагают многие исследователи, значительно повлиял на активность генов и привел к росту когнитивных способностей у человека.

Первые работы с описанием HAR были опубликованы в 2006 г. С помощью методов сравнительной геномики авторы проанализировали скорость нуклеотидных мутаций у человека (Pollard et al., 2006). На первом этапе были выровнены геномы шимпанзе, мыши и крысы для поиска консервативных регионов с идентичностью минимум 96% и длиной более 100 пар нуклеотидов (п.н.). Затем для каждой из примерно 35 000 таких последовательностей млекопитающих (средняя длина 140 п.н.) исследовали ортологичные фрагменты во всех других доступных геномах позвоночных в поисках областей, которые имеют большое количество изменений у человека по сравнению с другими видами. В результате были выявлены 49 регионов со статистически значимым увеличением частоты изменений у человека. 96% обнаруженных HAR располагались в некодирующих, преимущественно в богатых ГЦ и прителомерных районах. Значительная часть HAR прилегала к генам, участвующим в регуляции транскрипции и развитии нервной системы.

При исследовании консервативных некодирующих последовательностей (HAR) у 8 позвоночных, включая человека, авторы (Prabhakar et al., 2006) обнаружили 992 элемента со специфичными для человека нуклеотидными заменами при $P \leq 0.005$, среди которых новых замен было на 79% больше, чем тех, которые произошли бы случайно.

Другие авторы использовали иной статистический метод (Bird et al., 2007). На первом этапе ими был выбран топ 5% консервативных некодирующих последовательностей. Анализ последовательностей был осуществлен с использованием программ MULTIZ и PhastCons (Felsenstein, Churchill, 1996; Mayor et al., 2000; Siepel et al., 2005) по 17 геномам позвоночных от рыб до млекопитающих, включая человека. Выбранные последовательности, имеющие более чем четыре замены у человека, по сравнению с шимпанзе были выровнены с соответствующими последовательностями макаки-резуса. После исключения из таких последовательностей псевдогенов, ретро-транспозонов, вариации числа копий генов (*copy number variants*, CNV), осталось 1145 последовательностей.

Следующее исследование было посвящено поиску регионов с ускоренными изменениями, обнаруженными с помощью теста отношения правдоподобия (*likelihood ratio test*, LRT), нацеленного на выявление только некодирующих областей, путем учета локальных скоростей изменения последовательности (Bush, Lahn, 2008). Таким образом, в геноме человека было обнаружено 63 участка с высокой скоростью

изменений (HAR). Основное различие от ранее обнаруженных нуклеотидных последовательностей заключалось в отсутствие значительного обогащения ГЦ в обнаруженных регионах.

Анализ результатов секвенирования 29 геномов млекопитающих (Lindblad-Toh et al., 2011) и их анализ с помощью программного обеспечения PhyloP (Pollard et al., 2010) позволил выявить 563 региона HAR. Кроме того, было дополнительно обнаружено 1930 HAR, которые были консервативны у пяти видов приматов, но скорость изменений этих районов значительно увеличилась у человека, причем наибольшая скорость замещений происходит в основном в регуляторных регионах с меньшим эволюционным консерватизмом (Lindblad-Toh et al., 2011).

В работе 2015 г. авторы использовали другой подход (Gittelman et al., 2015): они начали исследовать сайты чувствительности к дезоксирибонуклеазе I (*DNase I hypersensitive site*, DHS), которые предположительно являются активными регуляторными элементами генома (Dorschner et al., 2004; Maurano et al., 2012). Причиной применения подхода, основанного на использовании DHS, в дополнение к сравнительной геномике, было то, что, согласно некоторым исследованиям, регуляторные последовательности у разных видов, несмотря на их консервативность, могут быть активными у одних видов и неактивными у других (Dermitzakis, Clark, 2002). Использование DHS помогает выбрать регионы с активными метками молекулярной регуляции. Для идентификации HAR в геноме человека авторы использовали карты DHS из 130 типов клеток, определенных в проектах ENCODE и Roadmap Epigenomics (<https://www.encodeproject.org/>, <http://www.roadmapepigenomics.org/>). После объединения данных по DHS по типам клеток было получено 2093 197 сайтов (средний размер составлял 290 п.н.), затем после полногеномного выравнивания геномов 6 видов приматов были получены отдельные выравнивания для каждого сайта DHS. Специфичные для человека замены в DHS сравнивались с окружающими районами длиной около 50 тыс. п.н., которые, как считалось, эволюционировали в рамках нейтральной эволюционной модели. Для этого использовали программу PhyloFit из пакета PHAST (Hubisz et al., 2011). Затем использование PhyloP позволило выявить 524 регуляторных последовательности, которые были консервативны у всех видов, кроме человека. Такие сайты назвали *human-accelerated DHS* (haDHS). В обнаруженных регионах накапливались мутации в среднем в 4 раза быстрее. Интересно, что по сравнению с консервативными неускоренными DHS, haDHS в среднем контактировали с меньшим числом генов, что позволяет предположить, что адаптивная эволюция приводит к более узконаправленной регуляции экспрессии генов.

Различные биоинформатические подходы, использованные разными авторами, привели к получению наборов данных с разными свойствами. Детально эти

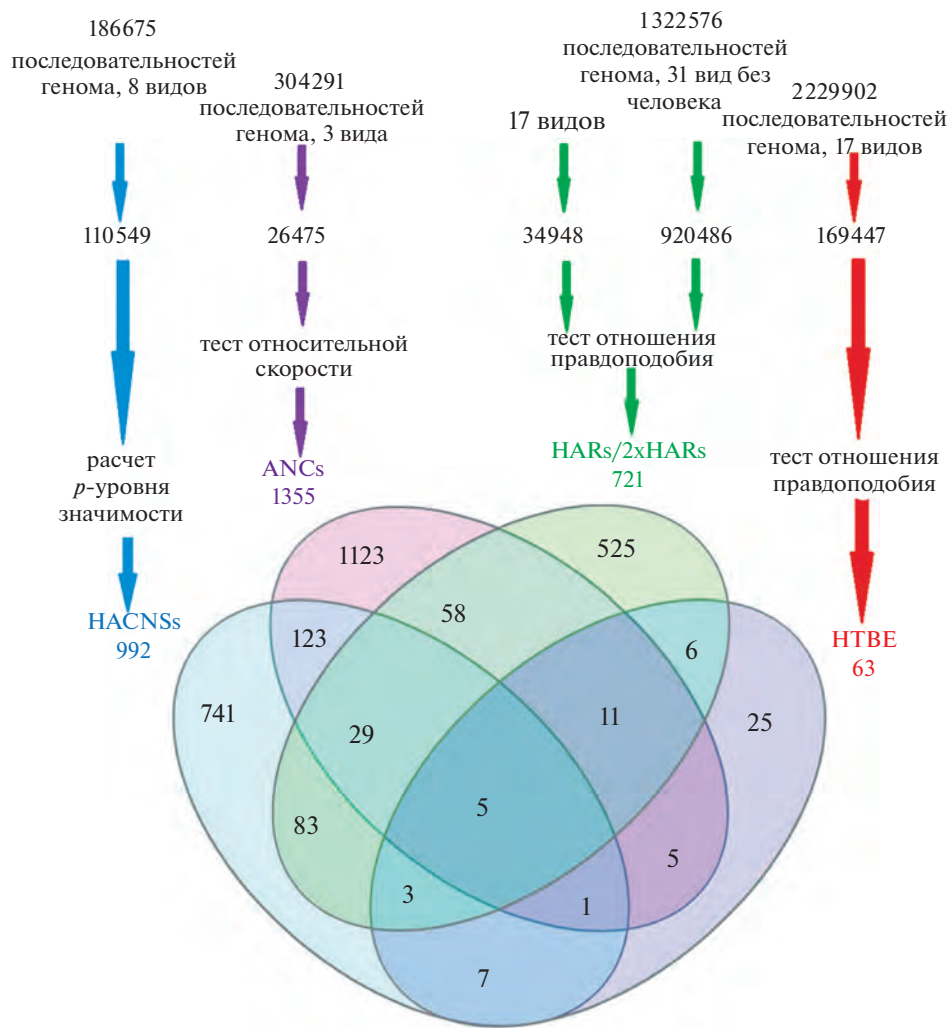


Рис. 1. Разные способы выявления HAR в геномах. *Сверху* указаны основные ключевые подходы для идентификации HAR: консервативные элементы, используемые как кандидаты для поиска HAR и число видов, участвовавших в анализе; число выявленных кандидатов в HAR; статистические методы, используемые для поиска регионов с ускоренными изменениями (мутированием). LRT – likelihood ratio test; ANC – accelerated conserved non-coding sequences; HACNSs – human accelerated conserved non-coding sequences; HTBE – human terminal branch elements; 2xHAR – second generation HAR. *Внизу* пересекающиеся окружности показывают пересечение данных, полученных разными методами (адаптировано и переведено из: Franchini, Pollard, 2017).

различия рассмотрены в нескольких обзорах и приведены на рис. 1 (Franchini, Pollard, 2017; Levchenko et al., 2018). Например, в некоторых работах рассматривали и кодирующие, и некодирующие последовательности (Pollard et al., 2006; Lindblad-Toh et al., 2011; Gittelmann et al., 2015), в то время как в других авторы ограничивали свои исследования только некодирующими областями (Prabhakar et al., 2006; Bird et al., 2007). При этом наборы данных, которые включали и кодирующие области, или, например, были связаны с чувствительными к ДНКазе сайтами, кажутся более репрезентативными для биологической реальности. Для выравнивания и определения районов использовались различные виды животных, начиная от шести приматов и заканчивая 17 видами позвоночных и 29 видами млекопитающих. Таким обра-

зом, вопрос как об эволюционной консервативности HAR, так и в целом об инструментах для их поиска в геноме человека, остается открытым. Другим ключевым вопросом современных исследований, посвященных HAR, является изучение функций таких геномных районов.

ФУНКЦИИ НАР В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

При помощи инструментов сравнительной геномики к настоящему времени выявлено более 3100 НАР, находящихся в некодирующих областях генома. Важно, что НАР распределены в геноме случайным образом. Они склонны группироваться в определенных локусах и находятся вблизи генов разви-

тия и генов, экспрессирующихся в центральной нервной системе (Pollard et al., 2006; Capra et al., 2013; Kamm et al., 2013a). Большинство HAR находится при этом в межгенных областях. Таким образом, типичный HAR располагается в группе с несколькими другими в генной “пустыне”, окруженной одним или несколькими генами развития, что наталкивает на мысль о наличии у них регуляторных функций.

Основная сложность в ассоциации конкретных HAR с регуляцией активности генов человека заключается в том, что подавляющее большинство этих геномных элементов находится в не аннотированных областях генома, и их эволюционная консервативность не свидетельствует напрямую об их функции. Важной проблемой остается определение того, какие именно последовательности HAR действительно являются драйверами эволюционных изменений. Функциональная геномика, в частности, масштабные транскриптомные и эпигеномные проекты, вроде ENCODE и Roadmap Epigenomics, предоставляют большой объем данных для предсказания того, какие HAR выступают в роли регуляторных элементов (Hoffman et al., 2013). Например, данные транскриптомного анализа, распределения зон открытого хроматина, эксперименты ChIP-seq с антителами к РНК-полимеразе, различным транскрипционным факторам и гистоновым модификациям помогают идентифицировать активно транскрибирующиеся гены и их промоторы, а также дистальные энхансеры. Кроме того, интеграция данных функциональной геномики и вычислительных подходов, в частности машинного обучения, позволяет связывать конкретные HAR с определенными функциями. Более прицельным и прямым способом установления функционального значения этих последовательностей является оценка эффектов мутаций в HAR.

Авторы одного из исследований (Capra et al., 2013) совместили косвенные и прямые свидетельства того, что HAR выступают в роли энхансеров, воспользовавшись коллекцией из 2649 HAR, обнаруженных в более ранних работах (Pollard et al., 2006; Prabhakar et al., 2006; Bird et al., 2007; Bush, Lahn, 2008; Lindblad-Toh et al., 2011). Анализ локализации HAR выявил обогащение ими в окрестностях генов, вовлеченных в регуляцию эмбрионального развития. Далее для нескольких линий клеток был проведен анализ доступных эпигеномных данных, а именно: распределения меток H3K4me1 и H3K27ac, характерных для энхансеров, связывания транскрипционного коактиватора Р300/СВР и белка CTCF, опосредующего формирование промотор-энхансерных петель. Обогащение последовательностей HAR указанными эпигенетическими метками свидетельствует о том, что около 29% HAR функционируют как энхансеры во время развития мозга, сердца и конечностей. Для валидации энхансерной функции HAR напрямую применяли методику с использованием репортерных генетических конструкций *in vivo*. Кроме того, была об-

наружена видоспецифичность функций HAR: паттерн энхансерной активности отличался в мозге трансгенных мышей с встройкой последовательности HAR человека или же последовательности шимпанзе.

В другой работе (Doan et al., 2016) при помощи технологии захвата конформации хромосом 3С (chromosome conformation capture), позволяющей получить информацию о геномных контактах интересующего локуса, был проведен систематический анализ генов-мишеней для более чем 500 HAR. С использованием геномных данных здоровых людей и пациентов с расстройствами аутистического спектра, а также данных Roadmap Epigenomics авторы выявили основные регуляторные функции HAR, в частности в нервной системе. Для этого авторами (Doan et al., 2016) были выбраны несколько редких гомозиготных мутаций, соответствующих следующим критериям: наличие активных регуляторных меток, локализация в пределах 1 млн. п.н. от генов, ассоциированных с развитием нервной системы, а также отсутствие у пациентов мутаций в кодирующих последовательностях, объясняющих патологический фенотип (расстройство аутистического спектра (РАС), синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), первазивное расстройство развития). В *in vitro* экспериментах были выявлены функциональные эффекты мутаций в ряде HAR, формирующих регуляторные петли с промоторами некоторых генов нейрогенеза, таких как *CUX1*, *PTBP2*, *GPC4* и *MEF2C*. Аномальная экспрессия этих генов связана с серьезными дефектами синаптогенеза и других процессов нейрального развития (Allen et al., 2012; Li et al., 2014; Cubelos et al., 2015). Таким образом, были идентифицированы несколько конкретных HAR, играющих важную роль в развитии мозга человека и предрасположенности к нарушениям в его развитии.

В упомянутых выше исследованиях была проведена некоторая предварительная функциональная характеристика, однако для исчерпывающего картирования генов-мишеней, регулируемых энхансерами HAR, следует учитывать тканевую специфичность, поскольку многие регуляторные хроматиновые контакты являются высоко тканеспецифичными (Won et al., 2016). Авторы определили стадии развития организма и ткани, в которых HAR выполняют регулируемую роль (Won et al., 2019). Список из почти трех тысяч HAR был сопоставлен с участками DHS в клетках 51 типа и тканей. DHS-зоны хроматина связаны с транскрипционной активностью, поскольку являются доступными для связывания белков, например, транскрипционных факторов. В соответствии с более ранними работами, обогащение HAR было замечено в регуляторных элементах, активных в эмбриональном развитии (надпочечники, головной мозг, почки, легкие и мышцы), причем наибольшее обогащение наблюдали в мозге плода.

Список из известных HAR проверили на пересечение с активными эпигенетическими метками:

H3K27ac, H3K4me1 и H3K4me2. Полученные данные указывают на то, что HAR обогащены в энхансерах, регулирующих гены в развивающемся мозге в большей степени, чем в мозге взрослого человека. Наконец, были использованы данные о пространственных промотор-энхансерных контактах генома в кортикальной пластинке и герминальной зоне развивающейся коры мозга человека (Won et al., 2016). И снова, подтверждая и дополняя полученные ранее данные, генами-мишенями HAR по большей части оказывались регуляторы сигнальных путей, участвующих в развитии мозга человека, регионализации, формировании дорсо-вентральной паттернизации мозга (*EMX2*, *PAX6*, *GLI3*, *NKX6.1* и *NKX6.2*), миграции нейронов кортекса (*TBR1*, *CUX1*, *POU3F2*, *POU3F3*, *RORB*, *MDGA1* и *ETV1*) и пролиферации нейрональных предшественников (*PAX6*, *HES1*, *SOX2*, *GLI3* и *TBR2*).

В этой же работе (Won et al., 2016) для экспериментальной валидации функций HAR была использована CRISPR/Cas9-опосредованная система активации транскрипции (dCas9-VP64). При помощи этого метода было проверено три взаимодействия HAR с их предполагаемыми целевыми генами — *GLI2*, *GLI3* и *TBR1*. Эти гены кодируют важные регуляторы развития переднего мозга и миграции нейронов кортекса. Было проанализировано, какой эффект оказывает активация HAR на их предполагаемые гены-мишени в нейрональных клетках-предшественниках человека. Результаты данного эксперимента подтвердили, что хроматиновые контакты упомянутых HAR с промоторами генов-мишеней действительно являются функциональными. Благодаря этому было получено прямое подтверждение того, что HAR-энхансеры регулируют ряд специфических генов, участвующих в увеличении коры головного мозга у рода *Homo* в отряде приматов.

Показано, что даже однонуклеотидные замены способны породить новые регуляторные функции этих последовательностей у человека. Не так давно для изучения этого явления был использован массовый параллельный репортерный анализ (massively parallel reporter assay, MPRA) (Ashuach et al., 2019). В методе MPRA синтезированная библиотека кандидатных регуляторных элементов помещается в конструкцию перед геном репортером, содержащим случайный олигонуклеотидный баркод. Затем для оценки регуляторной активности используют высокопроизводительное секвенирование коллекции баркодов. Таким образом, появилась возможность исследовать тысячи вариаций в регуляторных последовательностях одновременно в ходе одного эксперимента.

MPRA был совмещен с данными о распределении эпигенетических меток (H3K27ac, H3K4me1, DNaseI-seq) *in vivo*, т.е. в тканях мозга человека на разных этапах его развития (Girskis et al., 2021). Кроме того, чтобы определить, связана ли характерная

для человека дивергенция последовательностей HAR со специфическими изменениями активности нейрональных энхансеров в развитии мозга, авторы сравнили функциональную активность более 3100 элементов HAR человека с их ортологами у шимпанзе. Это исследование показало, что почти половина всех HAR действует как энхансеры в ходе развития нервной системы, а их *cis*-регуляторная архитектура претерпела значительные изменения, уникальные для человека (Girskis et al., 2021).

Помимо достаточно широко освещенной в литературе функции HAR как регуляторных элементов, небольшая доля этих последовательностей содержит некодирующие РНК (5.1% п.н.) (Hubisz, Pollard, 2014). В частности, HAR1 является частью последовательности, с которой считывается некодирующая РНК HAR1F. Ее экспрессия активируется у человека в ходе развития кортекса (Pollard et al., 2006). Кроме того, интересным примером является быстро эволюционирующий регион, обнаруженный в интроне гена *FOXP2*. Мутации в этом гене часто связывают с эволюцией речи у человека. Данный район, вероятно, выполняет функцию энхансерной РНК (эРНК). эРНК являются продуктами активных энхансеров и играют важную роль в регуляции генной активности. Большинство эРНК связаны с хроматином. Механизмы их действия разнообразны. Они способны изменять доступность хроматина, активно взаимодействуя с белками, ассоциированными с хроматином. Кроме того, эРНК играют роль в формировании петли энхансер-промотор и взаимодействуют с транскрипционными факторами. Более подробно пример HAR в интроне гена *FOXP2* рассматривается в следующем разделе.

В совокупности результаты рассмотренных работ демонстрируют, что многочисленные сложные аспекты развития мозга человека подчиняются специфической для человека регуляции, в значительной степени находящейся под влиянием зон ускоренного развития.

РОЛЬ HAR В ЭВОЛЮЦИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Мозг человека — один из самых сложно устроенных органов среди всех животных. За последние 14 млн лет его размер увеличился почти в три раза по сравнению с ближайшими ныне живущими приматами, шимпанзе и бонобо. Этот процесс сопровождался приобретением новых уникальных навыков человека, таких как речь (Aboitiz, García, 1997) и сложные социальные взаимодействия (Herrmann et al., 2007; Tomasello, Vaish, 2013).

В основе такого грандиозного когнитивного скачка лежит эволюция сложных молекулярно-генетических механизмов, контролирующих развитие головного мозга человека. Сравнительный анализ геномов позволил выявить порядка 16 млн нуклео-

тидных замен, возникших в линии человека после расхождения с общим предком шимпанзе (Consortium, 2005). Из них только порядка 10% приходится на белок-кодирующие участки генома, при этом большая часть является нейтральными. Такая небольшая степень молекулярной дивергенции вряд ли может объяснить глобальные анатомические и когнитивные изменения, появившиеся у человека.

Одной из возможных причин диверсификации может быть появление у человека новых уникальных генов, например, за счет дубликаций. За последние годы были описаны несколько таких примеров: *HYDIN2* (Doggett et al., 2006), *SRGAP2C* (Dennis et al., 2012; Charrier et al., 2012), *ARHGAP11B* (Florio et al., 2015) и *NOTCH2NL* (Fiddes et al., 2018; Suzuki et al., 2018). Однако стоит учесть, что появление новых функциональных дублицированных генов — это довольно редкое явление (Bailey et al., 2002; Sudmant et al., 2010).

Почти 50 лет назад была выдвинута гипотеза (King, Wilson, 1975), согласно которой анатомические и функциональные эволюционные различия между человеком и шимпанзе чаще основаны на изменениях механизмов, контролирующих экспрессию генов, чем на изменениях последовательностей белков. За последние годы был накоплен огромный массив данных, подтверждающих это предположение для разных видов животных (Cretokos et al., 2008; Prabhakar et al., 2008; Guerreiro et al., 2013; Cooper et al., 2014). Среди ярких примеров морфологических изменений, ассоциированных с изменениями паттернов экспрессии отдельных генов, можно выделить утрату конечностей у змей, которая вызвана потерей одного из энхансеров гена *Shh* (Kvon et al., 2016) и редукцию таза у колюшек за счет делеции энхансера гена *Pitx1* (Chan et al., 2010). Учитывая, что большинство из описанных HAR обладают энхансерной активностью (Capra et al., 2013), и многие из них найдены рядом с генами, участвующими в развитии коры головного мозга (Johnson et al., 2009; Kamm et al., 2013a, 2013b; Caporale et al., 2019), предположение, что именно эти регуляторные элементы являются одними из драйверов эволюции головного мозга человека, в последние годы приобретает все большую популярность (Haygood et al., 2010; Mitchell, Silver, 2018; Wei et al., 2019; Girskis et al., 2021). Ниже будут рассмотрены несколько ярких примеров, иллюстрирующих роль HAR в изменении регуляции экспрессии генов в ходе нейрогенеза человека.

Ген *FOXP2*. Устная речь является одним из главных и уникальных эволюционных приобретений человека. Ее возникновение было связано с масштабными изменениями молекулярных механизмов, обеспечивающих развитие головного мозга и речевого тракта. Отправной точкой в расшифровке генетических изменений, приведших к появлению устной речи, можно считать многолетние исследования уникальной британской семьи (KE family) с тяжелыми нарушениями речи (Vargha-Khadem et al., 1995; Fish-

er et al., 1998; Lai et al., 2000). В 2001 г. обнаружили генетическую причину изучаемой семейной патологии — мутацию в гене *FOXP2* (Lai et al., 2001). Кроме того, в последующие годы были описаны новые клинические случаи тяжелых нарушений развития речи, вызванные мутациями в этом генетическом локусе (MacDermot et al., 2005; Feuk et al., 2006; Zeesman et al., 2006; Lennon et al., 2007; Rice et al., 2012; Reuter et al., 2017; Zilina et al., 2012). С тех пор ген *FOXP2* рассматривается как один из ключевых генов-кандидатов, отвечающих за развитие устной речи у человека.

Белок *FOXP2* (forkhead box protein P2) является транскрипционным фактором (Lai et al., 2001), действующим в основном как белок-репрессор (Spiteri et al., 2007; Vernes et al., 2007; Oswald et al., 2017). У человека он обнаруживается во многих органах, в том числе в головном мозге, причем как в период эмбриогенеза (Lai et al., 2003), так и постнатальном развитии (Bruce, Margolis, 2002).

Ортологи гена *FOXP2* были обнаружены у большинства позвоночных (Zhang et al., 2002; Enard et al., 2002). Особого внимания заслуживает высокая консервативность этого белка: сравнительные исследования позволили выявить всего две аминокислотные замены, различающие человека и шимпанзе (Enard et al., 2002). Кроме того, одна из двух замен в процессе эволюции возникла независимо у некоторых представителей хищных (Zhang et al., 2002) и нескольких видов летучих мышей (Li et al., 2007). При этом в исследованиях других видов животных со сложной вокальной коммуникацией, таких как певчие виды птиц, киты и дельфины, специфических для человека аминокислотных замен не обнаружено (Webb, Zhang, 2005).

Полученные данные указывают на неоднозначность вывода о решающей роли мутаций в гене *FOXP2* в эволюции речи у человека и других животных. Вероятно, весомый вклад внесли генетические изменения, затрагивающие не только кодирующую часть гена, но и регуляторные элементы, обеспечивающие сложный пространственно-временной паттерн его экспрессии. Об этом свидетельствуют результаты последних работ. В частности, в интроне между 8 и 9 экзонами гена *FOXP2* был обнаружен район, который характеризуется высокой консервативностью у большинства позвоночных, но у человека обогащенный большим количеством однонуклеотидных полиморфизмов (*single nucleotide polymorphism* — SNP) (Atkinson et al., 2018). Сопоставление полученных результатов с опубликованными ранее эпигенетическими и транскриптомными данными позволило предположить, что данный район может выполнять функцию эРНК. В этом районе, кроме того, были обнаружены консенсусные сайты связывания целого ряда транскрипционных факторов, в частности три сайта для BRN2, экспрессия которого ограничивается исключительно головным мозгом (Schreiber et al., 1993). Интересно, что в еще одной работе была обна-

ружена однонуклеотидная замена в одном из этих сайтов, специфичная только для человека, которая может приводить к изменению экспрессии гена *FOXP2* (Maricic et al., 2013).

Результаты самой масштабной работы по поиску регуляторных областей гена *FOXP2*, содержащих специфичные для человека изменения, были обнаружены в 2019 г. В изучаемом генетическом локусе были обнаружены двенадцать HAR, сгруппированных в два кластера (Carogale et al., 2019). Функциональность каждого региона была проверена *in vivo* с помощью репортерных конструкций: оказалось, что по крайней мере пять из них обладают энхансерной активностью. Кроме того, два из этих активных HAR, помимо увеличения экспрессии репортерного гена, вызывали его дифференциальную экспрессию в нервной системе у аквариумной рыбки *Zebrafish* (*Danio rerio*) по сравнению с ортологичными последовательностям шимпанзе (Carogale et al., 2019).

Ген *PPP1R17*. Еще одним важным эволюционным приобретением человека в процессе эволюции стало быстрое увеличение объема коры больших полушарий. В последние годы все чаще высказывается предположение, что HAR в этом процессе сыграли важную роль. Масштабное исследование энхансерной активности и эпигенетического статуса продемонстрировало, что многие из описанных HAR являются важными регуляторными элементами в нейrogenезе человека (Girskis et al., 2021). Особое внимание в этой работе было уделено локусу, содержащему ген *PPP1R17*. Сам по себе этот ген мало изучен и о его роли в развитии головного мозга человека до недавнего времени было почти ничего не известно. Оказалось, что в локусе, помимо *PPP1R17* и его проксимального промотора, располагаются два HAR.

С помощью таргетного захвата конформации хромосом было подтверждено взаимодействие промотора этого гена с двумя обнаруженными HAR, что может указывать на их важную роль в регуляции экспрессии *PPP1R17* в нейrogenезе человека. Это предположение было подкреплено детальным сравнительным анализом паттерна экспрессии этого гена у разных видов млекопитающих. Высокий уровень экспрессии *PPP1R17* был обнаружен в клетках мозжечка у всех исследованных видов млекопитающих. Однако в отличие от консервативного паттерна в мозжечке, в развивающейся коре исследователи обнаружили сильную дивергенцию: у приматов, в том числе у человека, обнаружен высокий уровень экспрессии, в то время как у хорьков и мышей экспрессия отсутствовала. Кроме того, было установлено, что в кортексе приматов *PPP1R17* экспрессировался преимущественно в нейральных клетках-предшественниках (НКП), локализованных в герминальной зоне, которая в процессе эволюции претерпела резкое увеличение размеров (Rakic, 1988, 1995). Одна из основных причин такой экспансии – прохожде-ние НКП человека через многочисленные дополни-

тельные раунды симметричного нейrogenного деления перед терминальной дифференцировкой (Betizeau et al., 2013; Dehay et al., 2015; Pollen et al., 2015; Pfeiffer et al., 2016). Усиление пролиферативного потенциала было обнаружено при оверэкспрессии *PPP1R17* в НКП мыши, что указывает на важную роль паттерна экспрессии этого гена в эволюции нейrogenеза млекопитающих.

Ген *FZD8*. Еще одним важным примером гена, дифференциальная экспрессия которого способствует увеличению размеров головного мозга человека, является *FZD8*. В регуляторной области этого гена был обнаружен HAR, обладающий энхансерной активностью (Boyd et al., 2015). Анализ захвата конформации хромосом подтвердил специфическое связывание обнаруженного HAR с основным промотором гена *FZD8* в неокортексе эмбриона мыши. Интродукция последовательностей предполагаемого энхансера и ортологичного региона шимпанзе в геном мышей позволила выявить существенные различия в их активности. В частности, было установлено, что энхансер человека обеспечивал более раннюю и сильную экспрессию *FZD8* на ранних этапах нейrogenеза. Это привело к изменению динамики клеточного цикла НКП и увеличению размеров головного мозга у трансгенных мышей.

Полученные данные подчеркивают исключительную роль HAR в эволюции головного мозга человека, демонстрируя, что они являются ключевыми инструментами в изменении паттернов экспрессии генов нейrogenеза.

HAR И ЗАБОЛЕВАНИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В последние годы возросло внимание к мутациям в регуляторных районах генома из-за их предполагаемой взаимосвязи с некоторыми заболеваниями человека. Полученные данные, подтверждающие роль HAR в формировании нервной системы, позволили предположить их вовлеченность в развитие некоторых неврологических заболеваний. В этом направлении исследований были получены результаты, указывающие на связь мутаций в HAR и таких нарушениях, как шизофрения (Pollard et al., 2006; Xu et al., 2008; Kamm et al., 2013b; Bhattacharyya et al., 2021; Erady et al., 2021), расстройство аутистического спектра (Kamm et al., 2013b; Oksenberg et al., 2013; Doan et al., 2016), биполярное расстройство (Erady et al., 2021), болезнь Хантингтона (Johnson et al., 2010) и синдром Симпсона–Голаби–Бемеля (Doan et al., 2016).

Шизофрения. Шизофрения – это тяжелое психическое расстройство, характеризующееся такими симптомами, как галлюцинации, бред и нарушение концентрации внимания. Наследуемость шизофрении составляет около 70%, что ставит ее в число наиболее наследуемых психических расстройств (Sullivan et al., 2003; van Dongen, Boomsma, 2013). Еще в первой публикации, посвященной поиску HAR, бы-

ло высказано предположение о связи между шизофренией и мутациями в зонах ускоренного развития человека (Pollard et al., 2006). Предпосылками к этой гипотезе стало обнаружение совместной экспрессии на одинаковых стадиях эмбрионального развития *HAR1F* и гена *RELN*. Ранее было установлено, что снижение уровня экспрессии *RELN* является наиболее статистически значимым отклонением, вызывающим шизофрению (Impagnatiello et al., 1998; Guidotti et al., 2000; Knable et al., 2001).

Еще одним геном-кандидатом развития шизофрении является *NPAS3* (Kamnasaran et al., 2003; Pickard et al., 2005, 2009; Huang et al., 2010), который содержит самый большой кластер из 14 некодирующих HAR (Kamm et al., 2013a, 2013b). Было доказано, что 11 из 14 HAR в *NPAS3* играют роль энхансеров во время развития нервной системы.

С помощью полногеномного поиска ассоциаций у пациентов с шизофренией было выявлено несколько SNP в HAR, связанных с изменением экспрессии генов развития нервной системы (*SLC25A13*, *MAD1L1*, *ULK4* и др.) (Bhattacharyya et al., 2021). Одним из возможных эффектов этих замен является модификация сайтов связывания транскрипционных факторов, контролирующих экспрессию генов нейрогенеза. Например, экспериментально было показано снижение аффинности транскрипционного фактора TFPCP2 к регуляторному району гена *MAD1L1*.

В 2021 году вышла статья, демонстрировавшая связь HAR с патофизиологией шизофрении и биполярного расстройства в контексте новых открытых рамок считывания (Erady et al., 2021), причем были приведены доказательства связи этих патологий между собой.

Гипотеза, проходящая красной нитью через многие исследования, связанные с поиском ассоциаций HAR с заболеванием шизофренией, состоит в том, что шизофрения могла быть результатом эволюции мозга, характерной для человека, и некоторые мутации в HAR, связанные с этим заболеванием, могли пройти несколько этапов положительного отбора (Erady et al., 2021).

Расстройство аутистического спектра (РАС). Эта патология является общим нарушением развития нервной системы, характеризующемся неспособностью поддерживать и инициировать социальное взаимодействие, а также ограниченными интересами и повторяющимися поведенческими актами. РАС имеют высокую наследуемость, что подтверждается множеством исследований, связанных с генами-кандидатами РАС, такими как *AUTS2* (Kalscheuer et al., 2007; Oksenberg et al., 2013), *WNT2* (Wassink et al., 2001) и *SHANK3* (Jeffries et al., 2005).

Первым исследованным HAR-ассоциированным геном-кандидатом аутизма стал *AUTS2* (Oksenberg et al., 2013). Было установлено, что этот ген содержит в своих интронах три HAR: HAR31 (Pollard et al., 2006), HACNS174 и HACNS369 (Prabhakar et al.,

2006). Для двух из них была доказана энхансерная активность в головном мозге, слуховых пузырьках и глазах (Oksenberg et al., 2013). В уже упомянутой статье о *NPAS3* были обнаружены другие гены, связанные с шизофренией и РАС (Kamm et al., 2013b): в локусе гена *CNTNAP2* шесть HAR (Alarcón et al., 2008; Peñagarikano, Geschwind, 2012), гена *RBFOX1* – восемь HAR (Barnby et al., 2005; Sebat et al., 2007; Xu et al., 2008). Позже появились доказательства того, что дуаллельные мутации HAR лежат в основе наследственных случаев РАС (до 5%). Такие изменения были идентифицированы у нескольких пациентов с РАС в активных энхансерах *CUX1*, *PTBP2*, *GPC4*, *CDKL5* и других генов, вовлеченных в работу нервной системы человека (Doan et al., 2016).

Вклад мутаций в ускоренных областях человека в развитие РАС явно менее изучен по сравнению с влиянием этих мутаций на патогенез шизофрении, но потенциал исследований в этой области и его актуальность высоки.

Болезнь Хантингтона. Болезнь Хантингтона (БХ) – это наследственное заболевание, приводящее к возникновению дегенеративных процессов в полосатом теле и коре головного мозга, что является причиной физических, умственных и эмоциональных изменений. Было показано, что многие гены-мишени фактора транскрипции REST репрессированы у пациентов с БХ (Zuccato, Cattaneo, 2007; Johnson et al., 2008). Результаты сравнения образцов нормального мозга и мозга, пораженного БХ, выявили пониженную экспрессию *HAR1F* и *HAR1R* в полосатом теле пациентов с БХ (Johnson et al., 2010), причем в одном из них был обнаружен сайт посадки транскрипционного фактора REST. Однако механизмы патогенеза этого заболевания до сих пор остаются неясными.

Синдром Симпсона–Голаби–Бемеля. Этот синдром представляет собой X-сцепленное заболевание, характеризующееся избыточным ростом, лицевыми дисморфозами, врожденными пороками сердца и другими аномалиями (Xuan et al., 1999). Мутации в генах *GPC3* и *GPC4* были описаны у нескольких пациентов с этим синдромом и нарушением умственного развития (Pilia et al., 1996; Veugelers et al., 2000). Кроме того, недавно были найдены гомозиготные мутации в HAR интрона *GPC4*, которые также приводили к формированию патологического фенотипа. Предполагается, что мутации удаляют сайты связывания транскрипционных факторов, тем самым понижая регуляторную активность гена *GPC4* (Doan et al., 2016). Эти результаты демонстрируют регуляторную активность HAR, но связь между мутациями в эволюционно значимых областях и развитии синдрома Симпсона–Голаби–Бемеля нуждается в дальнейших исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Недавние исследования выявили существование особого класса геномных элементов — НАР. Они представляют собой некодирующие последовательности ДНК, которые оставались консервативными в ходе эволюции млекопитающих, но начали накапливать специфические для человека мутации после эволюционного расхождения с шимпанзе 5–7 млн лет назад.

Процесс поиска НАР в геноме включает в себя два основных этапа — выравнивание и поиск консервативных последовательностей с последующим сравнением их между видами. Разные исследовательские группы при этом использовали немного отличные подходы для определения ускоренных областей, получая соответственно лишь частично пересекающиеся наборы регионов и нескольких наборов данных с разными свойствами. Тем не менее, статистические методы в общей сложности позволили выявить более 3100 НАР, расположенных в некодирующих районах генома. Именно неслучайное расположение большинства таких регионов в геноме — межгенные промежутки, расположенные рядом с одним или двумя генами, играющими важную роль в развитии, — вероятнее всего говорит о регуляторной функции НАР. Эта гипотеза нашла свое экспериментальное подтверждение во многих работах (Carga et al., 2013; Doan, 2016). Несмотря на сложности выявления НАР, влияющих на регуляцию конкретного гена, к настоящему времени многим исследователям удалось определить несколько НАР, играющих важную роль в развитии мозга человека и регулирующих ряд специфических генов, участвующих в увеличении коры головного мозга у рода Люди (*Homo*) из отряда приматов (Doan, 2016; Won et al., 2016, 2019).

Таким образом, именно регуляторная активность НАР по мнению многих авторов лежит в основе грандиозного эволюционного скачка и именно эти регуляторные элементы являются одними из драйверов эволюции головного мозга человека (Haygood et al., 2010; Mitchell, Silver, 2018; Wei et al., 2019; Girskis et al., 2021).

Можно ожидать, что в ближайшее десятилетие будут изучены молекулярные функции еще многих НАР. Но последующие функциональные исследования, необходимые для связи молекулярных изменений с признаками, в обозримом будущем останутся малопродуктивными и сложными. Возможно, по мере того, как будет секвенировано все больше геномов людей, мы сможем получить информацию о мутациях в НАР, которая позволит обнаружить их функциональные эффекты на уровне популяции.

Особенный интерес представляет попытка выявить связь между заболеваниями и мутациями в НАР и, в конечном итоге, разгадать роль, которую эти регионы сыграли в патогенезе. Важно также помнить, что ускоренные регионы не являются специфичной чертой человека. У шимпанзе произошло больше изменений в геноме (Varki, Altheide, 2005),

чем у человека. Данные и методы для изучения закономерностей такой ускоренной эволюции регионов в филогении млекопитающих уже имеются, поэтому можно надеяться, что эти исследования прольют свет на то, есть ли что-то уникальное в генах и сигнальных путях человека, на которые нацелена ускоренная эволюция нашего вида.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность М.А. Нуритдинову и О.Л. Серову (Институт цитологии и генетики СО РАН) за ценные замечания к статье.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (19-29-04067 МК) и бюджетного проекта (№ FWNR-2022-0019).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе не участвовали животные или люди в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aboitiz F., García R.V.* 1997. The evolutionary origin of the language areas in the human brain. A neuroanatomical perspective. *Brain Res. Brain Res. Rev.* V. 25. P. 381. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(97\)00053-2](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(97)00053-2)
- Alarcón M., Abrahams B.S., Stone J. L., Duvall J.A., Perederiy J.V., Bomar J.M., Sebat J., Wigler M, Martin C.L., Ledbetter D.H., Nelson S.F., Cantor R.M., Geschwind D.H.* 2008. Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene. *Am. J. Hum. Genet.* V. 82. P. 150. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.09.005>
- Allen N.J., Bennett M.L., Foo L.C., Wang G.X., Chakraborty C., Smith S.J., Barres B.A.* 2012. Astrocyte glypicans 4 and 6 promote formation of excitatory synapses via GluA1 AMPA receptors. *Nature.* V. 486. P. 410. <https://doi.org/10.1038/nature11059>
- Ashuaq T., Fischer D.S., Kreimer A., Ahituv N., Theis F.J., Yosef N.* 2019. MPRAnalyze: statistical framework for massively parallel reporter assays. *Genome. Biol.* V. 20. P. 183. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1787-z>
- Atkinson E.G., Audesse A.J., Palacios J.A., Bobo D.M., Webb A.E., Ramachandran S., Henn B.M.* 2018. No Evidence for Recent Selection at FOXP2 among Diverse Human Populations. *Cell.* V. 174. P. 1424. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.048>
- Bailey J.A., Gu Z., Clark R.A., Reinert K., Samonte R.V., Schwartz S., Adams M.D., Myers E.W., Li P.W., Eichler E.E.* 2002. Recent segmental duplications in the human genome. *Science.* V. 297. P. 1003. <https://doi.org/10.1126/science.1072047>

- Barnby G., Abbott A., Sykes N., Morris A., Weeks D.E., Mott R., Lamb J., Bailey A.J., Monaco A.P., International Molecular Genetics Study of Autism Consortium. 2005. Candidate-gene screening and association analysis at the autism-susceptibility locus on chromosome 16p: evidence of association at GRIN2A and ABAT. *Am. J. Hum. Genet.* V. 76. P. 950. <https://doi.org/10.1086/430454>
- Bitzeau M., Cortay V., Patti D., Pfister S., Gautier E., Bellemin-Ménard A., Afanassieff M., Huissoud C., Douglas R.J., Kennedy H., Dehay C. 2013. Precursor diversity and complexity of lineage relationships in the outer subventricular zone of the primate. *Neuron.* V. 80. P. 442. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.09.032>
- Bhattacharyya U., Deshpande S.N., Bhatia T., Thelma B.K. 2021. Revisiting Schizophrenia from an Evolutionary Perspective: An Association Study of Recent Evolutionary Markers and Schizophrenia. *Schizophr. Bull.* V. 47. P. 827. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbaa179>
- Bird C.P., Stranger B.E., Liu M., Thomas D.J., Ingle C.E., Beazley C., Miller W., Hurler M.E., Dermitzakis E.T. 2007. Fast-evolving noncoding sequences in the human genome. *Genome. Biol.* V. 8. P. R118. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-6-r118>
- Boyd J.L., Skove S.L., Rouanet J.P., Pilaz L.J., Bepler T., Gordân R., Wray G.A., Silver D.L. 2015. Human-chimpanzee differences in a FZD8 enhancer alter cell-cycle dynamics in the developing neocortex. *Curr. Biol.* V. 25. P. 772. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.041>
- Bruce H.A., Margolis R.L. 2002. FOXP2: novel exons, splice variants, and CAG repeat length stability. *Hum. Genet.* V. 111. P. 136. <https://doi.org/10.1007/s00439-002-0768-5>
- Bush E.C., Lahn B.T. 2008. A genome-wide screen for noncoding elements important in primate evolution. *BMC Evol. Biol.* V. 8. P. 17. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-17>
- Caporale A.L., Gonda C.M., Franchini L.F. 2019. Transcriptional enhancers in the FOXP2 locus underwent accelerated evolution in the human lineage. *Mol. Biol. Evol.* V. 36. P. 2432. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz173>
- Capra J.A., Erwin G.D., McKinsey G., Rubenstein J.L., Pollard K.S. 2013. Many human accelerated regions are developmental enhancers. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B.* V. 368. P. 20130025. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0025>
- Chan Y.F., Marks M.E., Jones F.C., Villarreal G., Shapiro M.D., Brady S.D., Southwick A.M., Absher D.M., Grimwood J., Schmutz J., Myers R.M., Petrov D., Jónsson B., Schluter D., Bell M.A. et al. 2010. Adaptive evolution of pelvic reduction in sticklebacks by recurrent deletion of a Pitx1 enhancer. *Science.* V. 327. P. 302. <https://doi.org/10.1126/science.1182213>
- Charrier C., Joshi K., Coutinho-Budd J., Kim J.E., Lambert N., de Marchena J., Jin W.L., Vanderhaeghen P., Ghosh A., Sassa T., Polleux F. 2012. Inhibition of SRGAP2 function by its human-specific paralogs induces neoteny during spine maturation. *Cell.* V. 149. P. 923. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.034>
- Consortium, Chimpanzee Sequencing and Analysis. 2005. Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature.* V. 437. P. 69. <https://doi.org/10.1038/nature04072>
- Cooper K.L., Sears K.E., Uygun A., Maier J., Baczkowski K.S., Brosnahan M., Antczak D., Skidmore J.A., Tabin C.J. 2014. Patterning and post-patterning modes of evolutionary digit loss in mammals. *Nature.* V. 511. P. 41. <https://doi.org/10.1038/nature13496>
- Cretekos C.J., Wang Y., Green E.D., Martin J.F., Rasweiler J.J., Behringer R.R. 2008. Regulatory divergence modifies limb length between mammals. *Genes Dev.* V. 22. P. 141. <https://doi.org/10.1101/gad.1620408>
- Cubelos B., Briz C.G., Esteban-Ortega G.M., Nieto M. 2015. Cux1 and Cux2 selectively target basal and apical dendritic compartments of layer II-III cortical neurons. *Dev. Neurobiol.* V. 75. P. 163. <https://doi.org/10.1002/dneu.22215>
- Dehay C., Kennedy H., Kosik K.S. 2015. The outer subventricular zone and primate-specific cortical complexification. *Neuron.* V. 85. P. 683. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.060>
- Dennis M.Y., Nuttle X., Sudmant P.H., Antonacci F., Graves T.A., Nefedov M., Rosenfeld J.A., Sajjadian S., Malig M., Kotkiewicz H., Curry C.J., Shafer S., Shaffer L.G., de Jong P.J., Wilson R.K., Eichler E.E. 2012. Evolution of human-specific neural SRGAP2 genes by incomplete segmental duplication. *Cell.* V. 149. P. 912. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.033>
- Dermitzakis, E.T., Clark A.G. 2002. Evolution of transcription factor binding sites in Mammalian gene regulatory regions: conservation and turnover. *Mol. Biol. Evol.* V. 19. P. 1114. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004169>
- Doan R.N., Bae B.I., Cubelos B., Chang C., Hossain A.A., Al-Saad S., Mukaddes N.M., Oner O., Al-Saffar M., Balkhy S., Gascon G.G., Nieto M., Walsh C.A., Homozygosity Mapping Consortium for Autism. 2016. Mutations in Human Accelerated Regions Disrupt Cognition and Social Behavior. *Cell.* V. P. 341. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.071>
- Doggett N.A., Xie G., Meincke L.J., Sutherland R.D., Mundt M.O., Berbari N.S., Davy B.E., Robinson M.L., Rudd M.K., Weber J.L., Stallings R.L., Han C. 2006. A 360-kb interchromosomal duplication of the human HYDIN locus. *Genomics.* V. 88. P. 762. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.07.012>
- Dorschner M.O., Hawrylycz M., Humbert R., Wallace J.C., Shafer A., Kawamoto J., Mack J., Hall R., Goldy J., Sabo P.J., Kohli A., Li Q., McArthur M., Stamatoyannopoulos J.A. 2004. High-throughput localization of functional elements by quantitative chromatin profiling. *Nat. Methods.* V. 1. P. 219. <https://doi.org/10.1038/nmeth721>
- Enard W., Przeworski M., Fisher S.E., Lai C.S., Wiebe V., Kitano T., Monaco A.P., Pääbo S. 2002. Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language. *Nature.* V. 418. P. 869. <https://doi.org/10.1038/nature01025>
- Erady C., Amin K., Onilogbo T.O.A.E., Tomasik J., Jukes-Jones R., Umrانيا Y., Bahn S., Prabakaran S. 2021. Novel open reading frames in human accelerated regions and transposable elements reveal new leads to understand schizophrenia and bipolar disorder. *Mol. Psychiatry.* V. 27. P. 1455. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01405-6>
- Felsenstein J., Churchill G.A. 1996. A Hidden Markov Model approach to variation among sites in rate of evolution. *Mol. Biol. Evol.* V. 13. P. 93. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025575>

- Feuk L., Kalervo A., Lipsanen-Nyman M., Skaug J., Nakabayashi K., Finucane B., Hartung D., Innes M., Kerem B., Nowaczyk M.J., Rivlin J., Roberts W., Senman L., Summers A., Szatmari P. et al. 2006. Absence of a paternally inherited FOXP2 gene in developmental verbal dyspraxia. *Am. J. Hum. Genet.* V. 79. P. 965.
<https://doi.org/10.1086/508902>
- Fiddes I.T., Lodewijk G.A., Mooring M., Bosworth C.M., Ewing A.D., Mantalas G.L., Novak A.M., van den Bout A., Bishara A., Rosenkrantz J.L., Lorig-Roach R., Field A.R., Haeussler M., Russo L., Bhaduri A. et al. 2018. Human-specific NOTCH2NL genes affect Notch signaling and cortical neurogenesis. *Cell.* V. 173. P. 1356.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.051>
- Fisher S.E., Vargha-Khadem F., Watkins K.E., Monaco A.P., Pembrey M.E. 1998. Localisation of a gene implicated in a severe speech and language disorder. *Nat. Genet.* V. 18. P. 168.
<https://doi.org/10.1038/ng0298-168>
- Florio M., Albert M., Taverna E., Namba T., Brandl H., Lewitus E., Haffner C., Sykes A., Wong F.K., Peters J., Guhr E., Klemroth S., Prüfer K., Kelso J., Naumann R. et al. 2015. Human-specific gene ARHGAP11B promotes basal progenitor amplification and neocortex expansion. *Science.* V. 347. P. 1465.
<https://doi.org/10.1126/science.aaa1975>
- Franchini L.F., Pollard K.S. 2017. Human evolution: the non-coding revolution. *BMC Biol.* V. 15. P. 89.
<https://doi.org/10.1186/s12915-017-0428-9>
- Girskis K.M., Stergachis A.B., DeGennaro E.M., Doan R.N., Qian X., Johnson M.B., Wang P.P., Sejourne G.M., Nagy M.A., Pollina E.A., Sousa A.M.M., Shin T., Kenny C.J., Scotellaro J.L., Debo B.M. et al. 2021. Rewiring of human neurodevelopmental gene regulatory programs by human accelerated regions. *Neuron.* V. 109. P. 3239.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.08.005>
- Gittelman R.M., Hun E., Ay F., Madeoy J., Pennacchio L., Noble, W.S., Hawkins R.D., Akey J.M. 2015. Comprehensive identification and analysis of human accelerated regulatory DNA. *Genome. Res.* V. 25. P. 1245.
<https://doi.org/10.1101/gr.192591.115>
- Guerreiro I., Nunes A., Woltering J.M., Casaca A., Nóvoa A., Vinagre T., Hunter M.E., Duboule D., Mallo M. 2013. Role of a polymorphism in a Hox/Pax-responsive enhancer in the evolution of the vertebrate spine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 110. P. 10682.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1300592110>
- Guidotti A., Auta J., Davis J.M., Di-Giorgi-Gerevini V., Dwivedi Y., Grayson D.R., Impagnatiello F., Pandey G., Pesold C., Sharma R., Uzunov D., Costa E. 2000. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch. Gen. Psychiatry.* V. 57. P. 1061.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.57.11.1061>
- Haygood R., Babbitt C.C., Fedrigo O., Wray G.A. 2010. Contrasts between adaptive coding and noncoding changes during human evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 107. P. 7853.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0911249107>
- Herrmann E., Call J., Hernández-Lloreda M.V., Hare B., Tomasello M. 2007. Humans have evolved specialized skills of social cognition: the cultural intelligence hypothesis. *Science.* V. 317. P. 1360.
<https://doi.org/10.1126/science.1146282>
- Hoffman M.M., Ernst J., Wilder S.P., Kundaje A., Harris R.S., Libbrecht M., Giardine B., Ellenbogen P.M., Bilmes J.A., Birney E., Hardison R.C., Dunham I., Kellis M., Noble W.S. 2013. Integrative annotation of chromatin elements from ENCODE data *Nucleic Acids Res.* V. 41. P. 827.
<https://doi.org/10.1093/nar/gks1284>
- Huang J., Perlis R.H., Lee P.H., Rush A.J., Fava M., Sachs G.S., Lieberman J., Hamilton S.P., Sullivan P., Sklar P., Purcell S., Smoller J.W. 2010. Cross-disorder genomewide analysis of schizophrenia, bipolar disorder, and depression. *Am. J. Psychiatry.* V. 167. P. 1254.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09091335>
- Hubisz M.J., Pollard K.S. 2014. Exploring the genesis and functions of Human Accelerated Regions sheds light on their role in human evolution. *Curr. Opin. Genet. Dev.* V. 29. P. 15.
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2014.07.005>
- Hubisz M.J., Pollard K.S., Siepel A. 2011. PHAST and RPHAST: phylogenetic analysis with space/time models. *Brief. Bioinform.* V. 12. P. 41.
<https://doi.org/10.1093/bib/bbq072>
- Impagnatiello F., Guidotti A.R., Pesold C., Dwivedi Y., Caruncho H., Pisu M.G., Uzunov D.P., Smalheiser N.R., Davis J.M., Pandey G.N., Pappas G.D., Tueting P., Sharma R.P., Costa E. 1998. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 95. P. 15718.
<https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15718>
- Jeffries A.R., Curran S., Elmslie F., Sharma A., Wenger S., Hummel M., Powell J. 2005. Molecular and Phenotypic Characterization of Ring Chromosome 22. *Am. J. Med. Genet. A.* V. 137. P. 139.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30780>
- Johnson M.B., Kawasawa Y.I., Mason C.E., Krsnik Z., Coppola G., Bogdanović D., Geschwind D.H., Mane S.M., State M.W., Sestan N. 2009. Functional and evolutionary insights into human brain development through global transcriptome analysis. *Neuron.* V. 62. P. 494.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.03.027>
- Johnson R., Richter N., Jauch R., Gaughwin P.M., Zuccato C., Cattaneo E., Stanton L.W. 2010. Human accelerated region 1 noncoding RNA is repressed by REST in Huntington's disease. *Physiol. Genomics.* V. 41. P. 269.
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00019.2010>
- Johnson, R., Zuccato C., Belyaev N.D., Guest D.J., Cattaneo E., Buckley N.J. 2008. A microRNA-based gene dysregulation pathway in Huntington's disease. *Neurobiol. Dis.* V. 29. P. 438.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.11.001>
- Kalscheuer V.M., FitzPatrick D., Tommerup N., Bugge M., Niebuhr E., Neumann L.M., Tzschach A., Shoichet S.A., Menzel C., Erdogan F., Arkesteijn G., Ropers H.H., Ullmann R. 2007. Mutations in autism susceptibility candidate 2 (Aut2) in patients with mental retardation. *Hum. Genet.* V. 121. P. 501.
<https://doi.org/10.1007/s00439-006-0284-0>
- Kamm G.B., López-Leal R., Lorenzo J.R., Franchini L.F. 2013a. A fast-evolving human NPAS3 enhancer gained reporter expression in the developing forebrain of transgenic mice. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B.* V. 368. P. 20130019.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0019>
- Kamm G.B., Pisciotto F., Klinger R., Franchini L.F. 2013b. The developmental brain gene NPAS3 contains the largest number of accelerated regulatory sequences in the human

- genome. *Mol. Biol. Evol.* V. 30. P. 1088.
<https://doi.org/10.1093/molbev/mst023>
- Kamnasaran D., Muir W.J., Ferguson-Smith M.A., Cox D.W.* 2003. Disruption of the neuronal PAS3 gene in a family affected with schizophrenia. *J. Med. Genet.* V. 40. P. 325.
<https://doi.org/10.1136/jmg.40.5.325>
- King M.C., Wilson A.C.* 1975. Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science.* V. 188. P. 107.
<https://doi.org/10.1126/science.1090005>
- Knable M.B., Torrey E.F., Webster M.J., Bartko J.J.* 2001. Multivariate analysis of prefrontal cortical data from the Stanley Foundation Neuropathology Consortium. *Brain Res. Bull.* V. 55. P. 651.
[https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(01\)00521-4](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(01)00521-4)
- Kvon E.Z., Kamneva O.K., Melo U.S., Barozzi I., Osterwalder M., Mannion B.J., Tissières V., Pickle C.S., Plajzer-Frick I., Lee E.A., Kato M., Garvin T.H., Akiyama J.A., Afzal V., Lopez-Rios J. et al.* 2016. Progressive Loss of Function in a Limb Enhancer during Snake Evolution. *Cell.* V. 167. P. 633.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.028>
- Lai C.S., Fisher S.E., Hurst J.A., Levy E.R., Hodgson S., Fox M., Jeremiah S., Povey S., Jamison D.C., Green E.D., Vargha-Khadem F., Monaco A.P.* 2000. The SPCH1 region on human 7q31: genomic characterization of the critical interval and localization of translocations associated with speech and language disorder. *Am. J. Hum. Genet.* V. 67. P. 357.
<https://doi.org/10.1086/303011>
- Lai C.S., Fisher S.E., Hurst J.A., Vargha-Khadem F., Monaco A.P.* 2001. A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature.* V. 413. P. 519.
<https://doi.org/10.1038/35097076>
- Lai C.S., Gerrelli D., Monaco A.P., Fisher S.E., Copp A.J.* 2003. FOXP2 expression during brain development coincides with adult sites of pathology in a severe speech and language disorder. *Brain.* V. 126. P. 2455.
<https://doi.org/10.1093/brain/awg247>
- Lennon P.A., Cooper M.L., Peiffer D.A., Gunderson K.L., Patel A., Peters S., Cheung S.W., Bacino C.A.* 2007. Deletion of 7q31.1 supports involvement of FOXP2 in language impairment: clinical report and review. *Am. J. Med. Genet. A.* V. 143A. P. 791.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31632>
- Levchenko A., Kanapin A., Samsonova A., Gainetdinov R.R.* 2018. Human accelerated regions and other human-specific sequence variations in the context of evolution and their relevance for brain development. *Genome Biol. Evol.* V. 10. P. 166.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evx240>
- Li G., Wang J., Rossiter S.J., Jones G., Zhang S.* 2007. Accelerated FoxP2 evolution in echolocating bats. *PLoS One.* V. 2. P. e900.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000900>
- Li Q., Zheng S., Han A., Lin C.H., Stoilov P., Fu X.D., Black D.L.* 2014. The splicing regulator PTBP2 controls a program of embryonic splicing required for neuronal maturation. *Elife.* V. 3. P. e01201.
<https://doi.org/10.7554/eLife.01201>
- Lindblad-Toh K., Garber M., Zuk O., Lin M.F., Parker B.J., Washietl S., Kheradpour P., Ernst J., Jordan G., Mauceli E., Ward L.D., Lowe C.B., Holloway A.K., Clamp M., Gnerre S. et al.* 2011. A high-resolution map of human evolutionary constraint using 29 mammals. *Nature.* V. 478. P. 476.
<https://doi.org/10.1038/nature10530>
- MacDermot K.D., Bonora E., Sykes N., Coupe A.M., Lai C.S., Vernes S.C., Vargha-Khadem F., McKenzie F., Smith R.L., Monaco A.P., Fisher S.E.* 2005. Identification of FOXP2 truncation as a novel cause of developmental speech and language deficits. *Am. J. Hum. Genet.* V. 76. P. 1074.
<https://doi.org/10.1086/430841>
- Maricic T., Günther V., Georgiev O., Gehre S., Curlin M., Schreier C., Naumann R., Burbano H.A., Meyer M., Lalueza-Fox C., de la Rasilla M., Rosas A., Gajovic S., Kelso J., Enard W. et al.* 2013. A recent evolutionary change affects a regulatory element in the human FOXP2 gene. *Mol. Biol. Evol.* V. 30. P. 844.
<https://doi.org/10.1093/molbev/mss271>
- Maurano M.T., Humbert R., Rynes E., Thurman R.E., Haugen E., Wang H., Reynolds A.P., Sandstrom R., Qu H., Brody J., Shafer A., Neri F., Lee K., Kuttyavin T., Stehling-Sun S. et al.* 2012. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science.* V. 337. P. 1190.
<https://doi.org/10.1126/science.1222794>
- Mayor C., Brudno M., Schwartz J.R., Poliakov A., Rubin E.M., Frazer K.A., Pachter L.S., Dubchak I.* 2000. VISTA: visualizing global DNA sequence alignments of arbitrary length. *Bioinformatics.* V. 16. P. 1046.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.11.1046>
- Mitchell C., Silver D.L.* 2018. Enhancing our brains: Genomic mechanisms underlying cortical evolution. *Semin. Cell. Dev. Biol.* V. 76. P. 23.
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.08.045>
- Oksenberg N., Stevison L., Wall J.D., Ahituv N.* 2013. Function and regulation of AUTS2, a gene implicated in autism and human evolution. *PLoS Genet.* V. 9. P. e1003221.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003221>
- Oswald F., Klöble P., Ruland A., Rosenkranz D., Hinz B., Butter F., Ramljak S., Zechner U., Herlyn H.* 2017. The FOXP2-driven network in developmental disorders and neurodegeneration. *Front. Cell. Neurosci.* V. 11. P. 212.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00212>
- Peñagarikano O., Geschwind D.H.* 2012. What does CNTNAP2 reveal about autism spectrum disorder? *Trends Mol. Med.* V. 18. P. 156.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.01.003>
- Pfeiffer M., Betizeau M., Waltispurger J., Pfister S.S., Douglas R.J., Kennedy H., Dehay C.* 2016. Unsupervised lineage-based characterization of primate precursors reveals high proliferative and morphological diversity in the OSVZ. *J. Comp. Neurol.* V. 524. P. 535.
<https://doi.org/10.1002/cne.23820>
- Pickard B.S., Christoforou A., Thomson P.A., Fawkes A., Evans K.L., Morris S.W., Porteous D.J., Blackwood D.H., Muir W.J.* 2009. Interacting haplotypes at the NPAS3 locus alter risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Mol. Psychiatry.* V. 14. P. 874.
<https://doi.org/10.1038/mp.2008.24>
- Pickard B.S., Malloy M.P., Porteous D.J., Blackwood D.H., Muir W.J.* 2005. Disruption of a brain transcription factor, NPAS3, is associated with schizophrenia and learning disability. *Am. J. Med. Genet., Part B.* V. 136B. P. 26.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30204>
- Pilia G., Hughes-Benzie R.M., MacKenzie A., Baybayan P., Chen E.Y., Huber R., Neri G., Cao A., Forabosco A.,*

- Schlessinger D.* 1996. Mutations in GPC3, a glypican gene, cause the Simpson–Golabi–Behmel overgrowth syndrome. *Nat. Genet.* V. 12. P. 241.
<https://doi.org/10.1038/ng0396-241>
- Pollard K.S., Hubisz M.J., Rosenbloom K.R., Siepel A.* 2010. Detection of nonneutral substitution rates on mammalian phylogenies. *Genome Res.* V. 20. P. 110.
<https://doi.org/10.1101/gr.097857.109>
- Pollard, K.S., Salama S.R., Lambert N., Lambot M.A., Coppens S., Pedersen J.S., Katzman S., King B., Onodera C., Siepel A., Kern A.D., Dehay C., Igel H., Ares M., Vanderhaeghen P. et al.* 2006. An RNA gene expressed during cortical development evolved rapidly in humans. *Nature.* V. 443. P. 167.
<https://doi.org/10.1038/nature05113>
- Pollen A.A., Nowakowski T.J., Chen J., Retallack H., Sandoval-Espinosa C., Nicholas C.R., Shuga J., Liu S.J., Oldham M.C., Diaz A., Lim D.A., Leyrat A.A., West J.A., Kriegstein A.R.* 2015. Molecular identity of human outer radial glia during cortical development. *Cell.* V. 163. P. 55.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.004>
- Prabhakar S., Noonan J.P., Pääbo S., Rubin E.M.* 2006. Accelerated evolution of conserved noncoding sequences in humans. *Science.* V. 314. P. 786.
<https://doi.org/10.1126/science.1130738>
- Prabhakar S., Visel A., Akiyama J.A., Shoukry M., Lewis K.D., Holt A., Plajzer-Frick I., Morrison H., Fitzpatrick D.R., Afzal V., Pennacchio L.A., Rubin E.M., Noonan J.P.* 2008. Human-specific gain of function in a developmental enhancer. *Science.* V. 321. P. 1346.
<https://doi.org/10.1126/science.1159974>
- Rakic P.* 1988. Specification of cerebral cortical areas. *Science.* V. 241. P. 170.
- Rakic P.* 1995. A small step for the cell, a giant leap for mankind: a hypothesis of neocortical expansion during evolution. *Trends Neurosci.* V. 18. P. 383.
[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)93934-p](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)93934-p)
- Reuter M.S., Riess A., Moog U., Briggs T.A., Chandler K.E., Rauch A., Stampfer M., Steindl K., Gläser D., Joset P., DDD Study, Krumbiegel M., Rabe H., Schulte-Mattler U., Bauer P. et al.* 2017. FOXP2 variants in 14 individuals with developmental speech and language disorders broaden the mutational and clinical spectrum. *J. Med. Genet.* V. 54. P. 64.
<https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104094>
- Rice G.M., Raca G., Jakielski K.J., Laffin J.J., Iyama-Kurtycz C.M., Hartley S.L., Sprague R.E., Heintzelman A.T., Shriberg L.D.* 2012. Phenotype of FOXP2 haploinsufficiency in a mother and son. *Am. J. Med. Genet., Part A.* V. 158A. P. 74.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34354>
- Schreiber E., Tobler A., Malipiero U., Schaffner W., Fontana A.* 1993. cDNA cloning of human N-Oct3, a nervous-system specific POU domain transcription factor binding to the octamer DNA motif. *Nucleic Acids Res.* V. 21. P. 253.
<https://doi.org/10.1093/nar/21.2.253>
- Sebat J., Lakshmi B., Malhotra D., Troge J., Lese-Martin C., Walsh T., Yamrom B., Yoon S., Krasnitz A., Kendall J., Leotta A., Pai D., Zhang R., Lee Y.H., Hicks J. et al.* 2007. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science.* V. 316. P. 445.
<https://doi.org/10.1126/science.1138659>
- Siepel A., Bejerano G., Pedersen J.S., Hinrichs A.S., Hou M., Rosenbloom K., Clawson H., Spieth J., Hillier L.W., Richards S., Weinstock G.M., Wilson R.K., Gibbs R.A., Kent W.J., Miller W. et al.* 2005. Evolutionarily conserved elements in vertebrate, insect, worm, and yeast genomes. *Genome Res.* V. 15. P. 1034.
<https://doi.org/10.1101/gr.3715005>
- Spiteri E., Konopka G., Coppola G., Bomar J., Oldham M., Ou J., Vernes S.C., Fisher S.E., Ren B., Geschwind D.H.* 2007. Identification of the transcriptional targets of FOXP2, a gene linked to speech and language, in developing human brain. *Am. J. Hum. Genet.* V. 81. P. 1144.
<https://doi.org/10.1086/522237>
- Sudmant P.H., Kitzman J.O., Antonacci F., Alkan C., Malig M., Tsalenko A., Sampas N., Bruhn L., Shendure J., Eichler E.E., 1000 Genomes Project.* 2010. Diversity of human copy number variation and multicopy genes. *Science.* V. 330. P. 641.
<https://doi.org/10.1126/science.1197005>
- Sullivan P.F., Kendler K.S., Neale M.C.* 2003. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch. Gen. Psychiatry.* V. 60. P. 1187.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.60.12.1187>
- Suzuki I. K., Gacquer D., Van Heurck R., Kumar D., Wojno M., Bilheu A., Herpoel A., Lambert N., Cheron J., Polleux F., Detours V., Vanderhaeghen P.* 2018. Human-Specific NOTCH2NL Genes Expand Cortical Neurogenesis through Delta/Notch Regulation. *Cell.* V. 173. P. 1370.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.067>
- Tomasello M., Vaish A.* 2013. Origins of human cooperation and morality. *Annu. Rev. Psychol.* V. 64. P. 231.
<https://doi.org/10.1146/annurev-psych-113011-143812>
- van Dongen J., Boomsma D.I.* 2013. The evolutionary paradox and the missing heritability of schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B: Neuropsychiatr. Genet.* V. 162B. P. 122.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32135>
- Vargha-Khadem F., Watkins K., Alcock K., Fletcher P., Passingham R.* 1995. Praxic and nonverbal cognitive deficits in a large family with a genetically transmitted speech and language disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 92. P. 930.
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.3.930>
- Varki A., Altheide T.K.* 2005. Comparing the human and chimpanzee genomes: searching for needles in a haystack. *Genome Res.* V. 15. P. 1746.
<https://doi.org/10.1101/gr.3737405>
- Vernes S.C., Spiteri E., Nicod J., Groszer M., Taylor J.M., Davies K.E., Geschwind D.H., Fisher S.E.* 2007. High-throughput analysis of promoter occupancy reveals direct neural targets of FOXP2, a gene mutated in speech and language disorders. *Am. J. Hum. Genet.* V. 81. P. 1232.
<https://doi.org/10.1086/522238>
- Veugelers M., Cat B.D., Muyldermans S.Y., Reekmans G., Delande N., Frints S., Legius E., Fryns J.P., Schrandt-Stumpel C., Weidle B., Magdalena N., David G.* 2000. Mutational analysis of the GPC3/GPC4 glypican gene cluster on Xq26 in patients with Simpson–Golabi–Behmel syndrome: identification of loss-of-function mutations in the GPC3 gene. *Hum. Mol. Genet.* V. 9. P. 1321.
<https://doi.org/10.1093/hmg/9.9.1321>
- Wassink T.H., Piven J., Vieland V.J., Huang J., Swiderski R.E., Pietila J., Braun T., Beck G., Folstein S.E., Haines J.L., Sheffield V.C.* 2001. Evidence Supporting Wnt2 as an Autism Susceptibility Gene. *Am. J. Med. Genet.* V. 105. P. 406.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.1401>

- Webb, D.M., Zhang J. 2005. FoxP2 in song-learning birds and vocal-learning mammals. *J. Hered.* V. 96. P. 212. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi025>
- Wei Y., de Lange S.C., Scholtens L.H., Watanabe K., Ardesch D.J., Jansen P.R., Savage J.E., Li L., Preuss T.M., Rilling J.K., Posthuma D., van den Heuvel M.P. 2019. Genetic mapping and evolutionary analysis of human-expanded cognitive networks. *Nat. Commun.* V. 10. P. 4839. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12764-8>
- Won H., de la Torre-Ubieta L., Stein J.L., Parikshak N.N., Huang J., Opland C.K., Gandal M.J., Sutton G.J., Hormozdiari F., Lu D., Lee C., Eskin E., Voineagu I., Ernst J., Geschwind D.H. 2016. Chromosome conformation elucidates regulatory relationships in developing human brain. *Nature.* V. 538. P. 523. <https://doi.org/10.1038/nature19847>
- Won H., Huang J., Opland C.K., Hartl C.L., Geschwind D.H. 2019. Human evolved regulatory elements modulate genes involved in cortical expansion and neurodevelopmental disease susceptibility. *Nat. Commun.* V. 10. P. 2396. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10248-3>
- Xu S., Han J.C., Morales A., Menzies C.M., Williams K., Fan Y.S. 2008. Characterization of 11p14-p12 deletion in WAGR syndrome by array CGH for identifying genes contributing to mental retardation and autism. *Cytogenet. Genome Res.* V. 122. P. 181. <https://doi.org/10.1159/000172086>
- Xuan J.Y., Hughes-Benzie R.M., MacKenzie A.E. 1999. A small interstitial deletion in the GPC3 gene causes Simpson-Golabi-Behme syndrome in a Dutch-Canadian family. *J. Med. Genet.* V. 36. P. 57.
- Zeesman S., Nowaczyk M.J., Teshima I., Roberts W., Cardy J.O., Brian J., Senman L., Feuk L., Osborne L.R., Scherer S.W. 2006. Speech and language impairment and oromotor dyspraxia due to deletion of 7q31 that involves FOXP2. *Am. J. Med. Genet., Part A.* V. 140. P. 509. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.31110>
- Zhang, J., Webb D.M., Podlaha O. 2002. Accelerated protein evolution and origins of human-specific features: Foxp2 as an example. *Genetics.* V. 162. P. 1825. <https://doi.org/10.1093/genetics/162.4.1825>
- Zilina O., Reimand T., Zjablovskaja P., Männik K., Männamaa M., Traat A., Puusepp-Benazzouz H., Kurg A., Ounap K. 2012. Maternally and paternally inherited deletion of 7q31 involving the FOXP2 gene in two families. *Am. J. Med. Genet., Part A.* V. 158A. P. 254. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.34378>
- Zuccato C., Cattaneo E. 2007. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Prog. Neurobiol.* V. 81. P. 294. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.01.003>

HARs: History, Function, Evolution and Disease

A. S. Ryzhkova^a, A. A. Khabarova^a, A. S. Chvileva^b, and T. A. Shnaider^{a,*}

^a*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia*

^b*Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia*

**e-mail: shnayder.t@yandex.ru*

It is assumed that changes in gene regulation mechanisms play a major role in human evolution rather than protein-coding sequence changes. Recent studies have identified human accelerated regions (HARs) — a special class of genomic elements. These non-coding DNA regions are highly conserved in mammals but show an increased number of substitutions in the human lineage. Since their discovery, the actual role of HARs in human evolution has remained obscure as they are almost exclusively represented by unannotated non-coding sequences. HARs are enriched in transcription factor binding motifs and active histone modifications. Recent studies used functional genomics, computational approaches, and genetic analysis to show that many HARs are involved in the developmental genes regulation and the evolution of the human brain. There is also a body of evidence linking polymorphisms in HARs with various neuropathologies such as autism spectrum disorders, schizophrenia, and Huntington's disease. Functional assays such as high-throughput reporter analysis and CRISPR-based screenings significantly increased the number of human-specific regulatory elements characterized. Further exploration of HARs and other evolutionarily dynamic regions in the genome may elucidate some of the complex evolutionary changes that underlie the unique cytoarchitecture and cognitive abilities of the human brain. In this review, we consider different approaches used to identify HARs, their role in gene regulation, their contribution to the evolution of the human brain, and highlight some of the pathological effects of mutations in HARs.

Keywords: human accelerated regions, HAR, neurogenesis, brain evolution