

ЭПИГЕНЕТИКА И СПОСОБЫ ЕЕ РЕАЛИЗАЦИИ

Андрей Геннадьевич ЩУКО^{1,2}, Алексей Александрович ВЕСЕЛОВ¹,
Татьяна Николаевна ЮРЬЕВА^{1,2}, Наталья Васильевна ВОЛКОВА^{1,2},
Геннадий Анатольевич ШАБАНОВ³, Александр Алексеевич РЫБЧЕНКО³,
Татьяна Васильевна ПОЧТАРЕНКО¹

¹ Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

² МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России,
Иркутский филиал
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337

³ Научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО РАН
690022, г. Владивосток, ул. Кирова, 95

Рассмотрены наиболее актуальные аспекты, связанные с эпигенетической составляющей регуляции генной экспрессии. Уделено внимание развитию представлений об эпигенетике как об отдельной области знаний о функционировании генов и как о неотъемлемой части классической генетики. Освещены понятия эпигенома и эпигенетического репрограммирования. Рассмотрены наиболее известные молекулярные механизмы эпигенетической регуляции генной функции. Подчеркнута важность исследований в области эпигенетики для развития науки и медицины.

Ключевые слова: эпигенетика, экспрессия, эпигеном, парамутация, метилирование ДНК, импринтинг.

Одним из нераскрытых вопросов современной генетики являются механизмы временно-го и пространственного контроля активности генов в процессе развития организмов. До сих пор остается спорной и противоречивой информация о главенствующей роли генов в процессе онтогенеза, морфогенеза, регулирования всех клеточных функций, включая экспрессию самих же генов, обусловленности всего набора признаков и свойств организма. На сегодняшний день генетический код человека уже фактически не содержит нерасшифрованных последовательностей. Как выяснилось, совокупность наследственного материала, т. е. геном живого организма, содержит информацию о суммарном наборе протеомов всех его клеток. Однако живая клетка со всем многообразием ее функциональных особенностей не ограничивается присутствием в ней

генного материала. Имеется множество молекул, сложных межмолекулярных взаимодействий, не регулируемых генами [11].

Согласно современным представлениям, протеом представляет собой совокупность экспрессированных белков в данном типе клеток или в организме, в данный период времени при данных условиях [67]. Такими условиями могут быть действие гормонов, стресс и различные внешние раздражители. Другими словами, протеомы одной и той же клетки или суммарные протеомы организма в разные отрезки времени и при различных внешних условиях будут различаться. Следовательно, процессы считывания генетической информации и экспрессии генов являются динамическими и подчинены определенным закономерностям. Данные процессы выходят за границы классического представления о

Щуко А.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой глазных болезней, директор

Веселов А.А. – к.м.н., доцент кафедры глазных болезней, e-mail: Magicjack@mail.ru

Юрьева Т.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научно-исследовательской работе, проф. кафедры глазных болезней

Волкова Н.В. – к.м.н., доцент кафедры глазных болезней, зав. научно-образовательным отделом

Шабанов Г.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической нейрокибернетики, e-mail: neurokib@mail.ru

Рыбченко А.А. – д.т.н., директор лаборатории экологической нейрокибернетики, e-mail: neurokib@mail.ru

Почтаренко Т.В. – ассистент кафедры глазных болезней

функционировании генов. В связи с этим взгляды ученых устремились к совершенно новой и малоизученной области знаний – эпигенетике. Данный термин был введен К. Уодингтоном в 40-х гг. прошлого столетия специально для обозначения процесса реализации генетической информации в индивидуальном развитии. Однако по ряду причин он использовался генетиками редко, поскольку механизмы этого явления были малоизученными. «Геноцентрическая» концепция взглядов, долгое время принимаемая классической генетикой, утверждала, что фенотип организма предопределен уникальным набором генов. В свою очередь генный материал консервативен, и изменения в нем носят случайный и ненаправленный характер. Неизменность генетического материала рассматривалась как основа устойчивости видов живых организмов, а мутации – как основа образования новых видов. Знаменитая фраза Дж. Уотсона – «мы – это наши гены» – наиболее полно отражает данную концепцию [18].

В свою очередь, эпигенетика предполагает более широкое представление о развитии организма и функционировании генома и рассматривает гены и окружающую среду комплексно, как две неразрывно функционирующие системы, и объясняет такие биологические явления, как пластичность развития и образование множества фенотипов на основе одного генотипа.

Сегодня, благодаря серьезным достижениям в исследовании молекулярных механизмов регуляции действия генов, термин «эпигенетика» обрел новую жизнь. Наиболее широкое определение дано К. Уодингтоном, который понимал под эпигенетикой «ветвь биологии, изучающую причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип». Позднее термин претерпел изменения благодаря Р. Холлидею, который определил эпигенетику как «механизмы временного и пространственного контроля генной активности в сложных организмах» [3]. Однако спектр проблем генной регуляции оказался настолько велик, что охарактеризовать их с частных позиций и узких представлений только лишь молекулярных механизмов оказалось достаточно проблематично. Тем не менее наиболее закрепившееся и принятое на сегодняшний день понятие об эпигенетике представляется как наследуемые изменения в генной экспрессии, не связанные с изменениями последовательности ДНК как в митозе, так и между поколениями. При этом вся сумма эпигенетических трансформаций понимается как эпигеном, модулятором которого служит окружающая среда, представляющая более существенную роль в генной регуляции, нежели сами гены. Эпигеном может

рассматриваться как некий посредник между статичным геномом и постоянно меняющейся средой [14, 21].

Данная концепция предоставляет возможность расширить устоявшиеся взгляды о роли взаимодействия внешней среды и генов в процессе развития восприимчивости к многим заболеваниям и выдвинуть на первый план роль эпигенетического репрограммирования – процесса, при помощи которого генотип организма взаимодействует с окружающей средой, образуя фенотип [62]. Таким образом, можно объяснить разнообразие, индивидуальные колебания, уникальность тканей и органов, присущих организму при строго детерминированной генетической информации.

На сегодняшний день известно немало молекулярных механизмов эпигенетического репрограммирования, к которым можно отнести метилирование ДНК, а также процессы, приводящие к изменению состояния хроматина (связанные с модификацией гистонов и другими молекулярными событиями), некодирующие РНК [14, 52]. Немаловажным и открытым сравнительно недавно факторам эпигенетического репрограммирования являются пространственная организация ядра, X-хромосомная инактивация, генный импринтинг, мозаичный эффект положения, парамутации, моноаллельная экспрессия и многие другие [15]. Именно эти молекулярные изменения способны поддерживать в разных тканях и органах те особенности экспрессии генов, которые придают им все необходимые свойства и отличают одни ткани и органы от других.

Метилирование ДНК представляет собой модификацию молекулы ДНК без изменения ее нуклеотидной последовательности, что можно рассматривать как часть эпигенетической составляющей генома. У человека метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида в позиции С5 цитозинового кольца с образованием 5-метилцитозина при помощи специфических ферментов [19]. Таким образом, изменяется структура хроматина определенного локуса хромосомы, что приводит к торможению экспрессии генов без его структурного нарушения. Как известно, метилирование ДНК контролирует большое количество генетических механизмов в клетке – репликацию, транскрипцию, репарацию ДНК, рекомбинацию, транспозиции генов, а также является механизмом дифференцировки клеток и тканей, дискриминации и репрессии генов. Также метилирование ДНК выполняет и защитную функцию – препятствует экспрессии экзогенных вирусных и других вредоносных по-

следовательностей ДНК. В случаях полного прекращения метилирования ДНК останавливается и клеточное деление, включается апоптоз, происходит гибель организма. Кроме того, так называемое метилирование «поддерживающего типа» способствует сохранению клеточной памяти о работе промоторных участков генов от одного митоза к другому с целью сохранения функции клеток в ряду поколений. Данный процесс получил название «генетический букмаркинг» [7, 19].

Нарушение процесса метилирования, как правило, приводит к развитию различных патологических состояний. Согласно современным представлениям, эпигенетическая регуляция активности генов с аномальным метилированием цитозина в промоторных зонах является причиной ряда онкологических и генетических болезней [7]. Таким образом, исследования эпигенетической регуляции экспрессии генов в генетической патологии приобретают как научное, так и практическое значение.

Другим механизмом эпигенетической регуляции является ковалентная модификация ядерных белков-гистонов. В настоящее время известны различные виды модификаций: метилирование, фосфорилирование, рибозилирование, убиквитинирование, ацетилирование, которые происходят в посттранскрипционной фазе и главным образом в аминокислотных остатках лизина, аргинина и треонина. Данные биохимические процессы катализируются и регулируются соответствующими ферментами и гормонами. Механизм изменения генной активности связан с модификацией упаковки ДНК в нуклеосомах, т. е. степени ее прилегания к белковым субъединицам. Соответственно, от насыщенности гистоновых мономеров остатками фосфорной или уксусной кислоты, рибозы или небольшого консервативного белка убиквитина зависит степень «компактности» упаковки ДНК, от которой в свою очередь зависит степень вероятности транскрипции определенных участков генома [18]. Подобные вариации структурной организации хроматина, определяющие активность генов, без изменения нуклеотидной последовательности получили название эпимутаций. Однако, в отличие от истинных мутаций, эпимутации являются прямым следствием воздействия факторов внешней среды. Это в свою очередь представляет большую опасность для организма, который вынужден адаптироваться к данным влияниям, что достигается за счет регуляции экспрессии генов теми же эпигенетическими механизмами. По некоторым предположениям, частота эпимутаций может на один–два порядка превышать частоту генных мутаций [62], а, следовательно, их вклад в наследственную из-

менчивость, в том числе и у человека, пока остается недооцененным.

Открытые и сравнительно недавно изученные некодирующие микроРНК также являются регуляторами генной экспрессии и, следовательно, также относятся к важным механизмам эпигенетического действия. МикроРНК – класс малых, не кодирующих белок РНК, которые осуществляют посттрансляционную регуляцию в качестве отрицательных факторов экспрессии генов [23]. В настоящее время известно более 30 000 некодирующих РНК [40]. Предполагается, что они «управляют» избирательной посадкой репрессорных комплексов на определенные участки хроматина, а также направляют ДНК-метилтрансферазы, тем самым избирательно инактивируя определенные участки генома, и, возможно регулируют избирательное метилирование ДНК [53]. МикроРНК могут функционировать и как опухолевые супрессоры, и как онкогены [22].

Особый интерес в последнее время вызывает обнаружение роли в эпигенетических процессах так называемой интерферирующей РНК. РНК-интерференция представляет собой подавление экспрессии генов с помощью двухцепочечной РНК. Молекулы двухцепочечной РНК (дцРНК) представляют собой две спаренные комплементарные друг другу цепи РНК. Длинные молекулы дцРНК «нарезаются» в клетке на более короткие siРНК при помощи рибонуклеазы. Далее siРНК объединяется в комплекс со специфическим белком Аргонавт (Argonaut), в составе которых находится в клетке комплементарные ей молекулы матричной РНК (мРНК). Аргонавт разрезает молекулы мРНК-мишени, в результате чего останавливается трансляция мРНК на рибосоме [23].

Большое количество дискуссий вызвала сравнительно недавно выявленная роль пространственной организации ядра, а точнее, его генного материала, в механизмах эпигенетического регулирования. Коллектив ученых показал, что геном, записанный пока в одномерном варианте, на самом деле трех- или даже четырехмерен, при этом ДНК в клеточном ядре упакована по фрактальному принципу. Этим термином обозначают геометрическую фигуру, обладающую свойством самоподобия – объект, в точности или приближенно совпадающий с частью себя самого (т. е. целое имеет ту же форму, что и одна или более частей). Такой способ упаковки предохраняет нити ДНК от запутывания и образования узлов. Упаковка ДНК динамично меняется в ходе жизненного цикла клетки, а также под воздействием внешних и внутренних факторов, т. е. участвует в механизмах надгенетического регулирования считывания

генной информации. Как показали исследования, важную роль в формировании пространственной структуры ядра выполняет ядерный матрикс. Освещена его роль в поддержании специфических радиальных позиций так называемых хромосомных территорий внутри клеточного ядра [58]. Кроме того, доказано непосредственное участие ядерного матрикса в организации активаторных хроматиновых блоков, специфических промоторов генов, регулирующих транскрипцию [35].

Предложенный в 1970-х годах петельно-доменный принцип компактизации хроматина [26] предусматривал наличие так называемых функционально активных, т. е. транскрибируемых участков хроматиновых петель или функциональных доменов, а также неактивных участков, нечувствительных к действию ДНКазы 1 [61]. Российским институтом биологии гена проведены масштабные исследования в этом направлении. Изучены основные принципы организации регуляторных систем в хроматиновых доменах, а также механизмы, контролирующие дифференциальную экспрессию тканеспецифичных генов в них [27, 43, 59, 65]. В частности, продемонстрирована важная роль пространственной организации домена в контроле экспрессии расположенных в нем генов [34]. Показано, что домены открытого типа могут расширяться, включая в свой состав дополнительные гены и регуляторные элементы [33].

Еще один яркий пример эпигенетического регулирования представляет инактивация X-хромосомы – процесс, при котором в раннем эмбриогенезе самок млекопитающих одна из двух X-хромосом становится транскрипционно неактивной. Японский ученый-генетик Сусуму Оно в 1959 г. обнаружил, что одна из двух X-хромосом у самок вела себя как аутосома, а другая находилась в состоянии гетерохроматина [57]. Инактивация X-хромосомы происходит в клетках самок млекопитающих для того, чтобы с двух копий X-хромосом не образовывалось вдвое больше продуктов соответствующих генов, чем у самцов. Такой процесс называется дозовой компенсацией генов. Примечательно, что выключению (сайленсированию) подвергаются не все гены в X-хромосоме. Примерно 15 % генов остаются активными, при этом возможна выборочная экспрессия одних генов и репрессия других.

Показано наличие на X-хромосомах специфического участка, названного центром инактивации X-хромосомы – ХИС (от англ. X-inactivation center) [56]. Транслокация участка хромосомы, содержащего ХИС, на аутосому приводит к инактивации последней, в то время как X-хромосомы, не имеющие ХИС, остаются активными. ХИС

представляет собой ген, носящий название XIST (X-inactivation specific transcript) и кодирующий молекулу длинной некодирующей РНК, который опосредует специфическую инактивацию той X-хромосомы, с которой он был транскрибирован [38]. Экспериментальными исследованиями было подтверждено, что искусственное встраивание гена XIST в другие хромосомы, в том числе и в аутосомы, и последующий запуск его экспрессии приводит к инактивации данных хромосом [39, 48]. Исследование процесса инактивации X-хромосомы выявило новые молекулярные механизмы сайленсинга. Инактивация начинается с экспрессии XIST и запуска процесса транскрипции специфической длинной некодирующей РНК, которая покрывает всю X-хромосому [39]. Впоследствии данная, уже неактивная, хромосома подвергается ряду изменений – упаковке при помощи модификации белков гистонов посредством деацетилирования одних и метилирования других аминокислот, преимущественно лизина, с последующим метилированием избранных участков на неактивной X-хромосоме. Данный тип инактивации относится к долговременному сайленсированию. Впоследствии X-хромосома остается неактивной на протяжении всех последующих циклов клеточного деления. Изменения, которые претерпевает неактивная X-хромосома, придают ей характерную структуру, эта структура описывается как конденсированная и видна в клеточном ядре как отчетливая глыбка плотной ДНК, известная как тельце Бара [24].

Одно из первых свидетельств роли эпигенетики в заболеваниях человека имело место после того, как был открыт специфический механизм выборочной инактивации генов – импринтинг [60]. Геномный импринтинг – процесс, при котором экспрессия определенных генов зависит от того, от кого из родителей поступили аллельные гены. Общеизвестно, что каждый аутосомный ген представлен двумя копиями, аллелями – от материнского и отцовского организма. Большинство генов экспрессируются одновременно с обеих аллелей, тем не менее в 1 % генов экспрессируется только одна аллель. Выбор экспрессии зависит от пола родителя, передавшего аллель. Геномный импринтинг осуществляется во время гаметогенеза посредством маркировки отдельных генов, унаследованных от отца или от матери. После оплодотворения происходит регуляция экспрессии генов в пределах импринтируемой области в различных тканях развивающегося эмбриона, в клетках которых экспрессируется только отцовская или материнская копия гена. Управление данным процессом осуществляют центры импринтинга – специальные элементы ДНК, нахо-

дящиеся в пределах импринтируемых областей генома. Основной механизм импринтинга – метилирование ДНК в промоторных зонах с последующей блокировкой транскрипции [1].

Благодаря успехам современной генетики установлен новый тип наследственных болезней, связанный с геномным импринтингом, причиной которых являются нарушения моноаллельной экспрессии. Эффекты геномного импринтинга хорошо прослеживаются при исследовании случаев однородительских дисомий – ошибочного наследования двух гомологичных хромосом не от двух родителей, а только от одного – материнского или отцовского, в результате чего организм может унаследовать копии одного гена. При этом фенотипически данные однородительские дисомии не проявляются [13, 68]. Эффект возникает в том случае, если эта хромосома несет импринтированные локусы. В данном случае однородительские дисомии по этим хромосомам приводят либо к полному отсутствию экспрессии этих генов (функциональной нуллисомии), либо к их сверхэкспрессии и, как следствие, возникновению аномалий развития организма.

Явление геномного импринтинга не следует путать с другим проявлением эпигенетики – так называемым материнским эффектом. Данный механизм заключается во влиянии генотипа матери на характер потомства, передаваемый через свойства цитоплазмы яйцеклетки. Вследствие данного эффекта потомство развивается в преимущественной степени по материнскому генотипу. Материнский эффект не связан с известными цитоплазматическими наследственными детерминантами и не относится к классическому проявлению цитоплазматической наследственности [32]. Особенность материнского эффекта заключается в накоплении по мере роста и развития яйцеклетки в ее цитоплазме молекул мРНК, различных структурных белков, рибосом. Затем, уже после оплодотворения, в процессе деления, экспрессия генов происходит с участием указанного набора молекул в обход собственной ДНК, содержащей гены от обоих родителей [50]. Впоследствии начинается экспрессия генов собственной ДНК. Примечательным в данном эффекте является и тот факт, что определенные гены с материнским эффектом могут экспрессироваться не в яйцеклетке, а за ее пределами, в других клетках организма, где синтезируются вышеописанные мРНК и белки, которые затем поступают в яйцеклетку и принимают участие в синтезе белка согласно материнскому генотипу. Необходимо отметить, что наряду с существованием явления материнского эффекта подтверждено и наличие отцовского эффекта.

Рассмотренные варианты проявления регуляции функции генома на основе уже известных, однако еще не в полной мере изученных молекулярных механизмов на сегодняшний день уже не оставляют для ученых поводов для сомнений в существовании такого рода «надгенетического» контроля и необходимости формирования и накопления базы знаний в этой области. Однако, как оказалось, механизмы такого регулирования выходят за рамки классических представлений о чисто биохимической, электрохимической или другого рода известной нам основе функционирования живого организма. Не так давно обнаружены факты, свидетельствующие о возможности изменения проявления функции отдельного гена в результате его перемещения в системе генома – так называемых эффектов положения. Так, еще в 1934 г. выявлено ослабление доминирования определенных генов при перенесении их из участков с гетерохроматином в эухроматиновые зоны [4]. Затем был обнаружен эффект положения мозаичного типа – в результате хромосомных перестроек ген подвергался регуляторному воздействию при переносе из эухроматина в гетерохроматин, при этом в одних клетках он становился неактивным, в других же – наоборот [10]. Различные варианты позиционных эффектов, по видимому, связаны со специфическим окружением.

Определено, что эффект положения может распространяться как линейно на определенные участки вдоль хромосомы, так и прерывисто. Наглядно показана роль специфических небольших участков ДНК – энхансеров, принимающих участие в механизмах формирования эффекта положения [47]. Данные участки могут располагаться на значительных расстояниях относительно матричной цепи регулируемого гена и в любой ориентации к ней и при этом влиять на транскрипцию промоторных зон определенных генов [49]. Молекулярный механизм действия энхансера заключается в том, что он, благодаря собранному на нем белковому комплексу, привлекает РНК-полимеразу II и кофакторы транскрипции в область промотора [66]. Как оказалось, в формировании и модулировании сигналов эффекта положения принимают участие помимо энхансеров и другие элементы генома. К ним относят инсуляторы – последовательности ДНК в комплексе с особыми инсуляторными белками, несущие функцию блокирования сигналов, исходящих от окружения. Они способны блокировать взаимодействие между энхансером и промотором, а также служить специфическим барьером для позиционных сигналов, исходящих от гетерохроматина [20].

Дистанционное влияние гетерохроматина на инактивацию генов является вполне доказанным его свойством. Группе ученых удалось показать существование положительной корреляционной связи между частотой транскрипционной активности гена и его расстоянием от гетерохроматина. Был применен метод комбинированной гибридизации *in situ*, позволяющий выявлять в одной клетке мРНК маркерного гена и определять расстояние от инактивируемого гена до маркера гетерохроматина – сателлитной ДНК второй хромосомы [10]. Таким образом, гетерохроматизация хроматина оказывается существенным фактором, оказывающим влияние на экспрессию генов. В свою очередь, состояние, в котором находится хроматин в данный момент времени, позволило сформировать понятие функциональных модулей генома. Геномы в клетках организма, находящиеся в различном состоянии дифференцировки, формируют функциональные кластеры генов, функциональные группы, выполняющие различные задачи [2], что можно рассматривать как своеобразный эпигенетический контроль над «валентностью» генов и целых локусов хромосом.

Еще более загадочными явлениями в эпигенетике, вокруг которых наблюдается немало дискуссий и споров, являются парамутации. Данные генетические процессы подразумевают устойчивые наследуемые состояния гена, возникающие в результате взаимодействия с другим вариантом аллеля, без изменения нуклеотидной последовательности [8]. Другими словами, во время пребывания активного аллельного гена в одном генотипе с неактивным аллелем происходит его деактивация и «запоминание» данного состояния в последующих поколениях. Как и все эпигенетические процессы, парамутации абсолютно не согласовываются с классическими законами Менделя о наследовании генов, согласно которому гены расходятся в половые клетки в неизменном виде. Одним из важнейших свойств парамутаций является их способность возвращаться в исходное состояние (ревертироваться) и вновь возвращаться в парамутантное состояние в зависимости от условий окружающей среды.

Механизм парамутаций до сих пор неизвестен. Существовали попытки объяснить данное явление влиянием малых некодирующих РНК, которые, вероятно, передаются новому поколению при оплодотворении [29, 55, 69], а также эпигенетическими механизмами метилирования и модификацией гистонов [37]. Существовали предположения о влиянии специфических генов, участвующих в поддержании устойчивости парамутантного состояния. В частности, опре-

делен ген, кодирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу. Данный фермент необходим для синтеза малых некодирующих РНК, участвующих в сохранении «рисунка» метилирования ДНК, сохраняющегося в последующих поколениях. Также найден ген *rnr-1* (required to maintain repression 1), кодирующий специфический регуляторный белок, управляющий совместно с малыми некодирующими РНК метилированием ДНК [30]. Кроме того, установлено, что перед геном, отвечающим за парамутантное состояние, всегда находится особый мобильный некодирующий элемент ДНК – транспозон. Вероятно, метилирование участка данного транспозона является условием для сохранения неактивного состояния гена, однако не является определяющим фактором для возникновения парамутации [42].

Транспозоны вместе с другими некодирующими элементами ДНК относятся к так называемым мигрирующим генетическим элементам (МГЭ), которые могут менять свое положение в пределах генома одной клетки или переходить и встраиваться в геном другой клетки и даже в геном другого организма. Данный процесс был открыт в 1983 г. и получил название транспозиции. МГЭ широко представлены в растительных и животных геномах. Установлено, что ретротранспозоны, являющиеся подклассом транспозонов, составляют около 45 % всего генетического материала человека и, вероятно, возникли вследствие внедрения чужеродного генома (вирусного или бактериального) в процессе эволюционного развития.

Повышение активности МГЭ является риском для правильного функционирования генома, в связи с чем их экспрессия находится под контролем эпигенетических механизмов – посредством метилирования ДНК, некодирующих РНК и белкового комплекса Аргонавт [46, 28]. Роль МГЭ до конца не разгадана, однако предполагается, что они участвуют в различных хромосомных перестройках, а также изменяют систему регуляции экспрессии генов. В эксперименте показано, что стрессовые воздействия внешней среды на организм приводят к увеличению числа транспозиций генома [16]. Таким образом, геном представляется не статичной, а достаточно динамичной структурой, способной к надгенетическим и непосредственно генетическим перестройкам под влиянием факторов внешней среды. С данной точки зрения – все МГЭ, включая транспозоны, ретротранспозоны, вирусы, кольцевые ДНК бактерий, являются единой генетической системой [17]. Помимо внутренних перестроек генома, данные элементы способны при перемещении из клетки-хозяина захватывать, переносить и

встраивать части соседней ДНК в клетки других организмов. Таким образом, появилось понятие горизонтального переноса генов – обмен генетической информацией между различными организмами неполовым путем [8].

К числу немаловажных факторов, оказывающих влияние на эпигеном, можно отнести и открытый совсем недавно особый класс белков – прионов. Интерес для эпигенетики они представляют, прежде всего, благодаря своей способности вызывать наследуемое изменение фенотипа без изменения нуклеотидной последовательности ДНК. В основе механизма прионизации лежит изменение нормальной пространственной структуры (включая конформацию) молекулы белка при воздействии на него прионного белка с измененной третичной структурой. В данном случае прион справедливо рассматривать как белковый носитель чужеродной информации, непосредственно воздействующий на протеом клетки. В отличие от генетических носителей информации, которыми являются вирусы или транспозоны, прионы не изменяют генетическую последовательность нуклеотидов в ДНК [6]. В настоящее время известно множество негативных эффектов прионизации белков, вызывающие такие заболевания у человека, как болезнь Крейтцфельда – Якоба, синдром Герстманна – Штреусслера, наследственная семейная бессонница. Наряду с ними существуют вполне обоснованные предположения о приспособительном характере воздействия прионов (в частности, у некоторых форм дрожжевых грибов): за счет присутствия в популяции клеток, содержащих прионы, она может быстро приспосабливаться к изменившимся условиям среды [12]. Особенно важна такая возможность при попадании в условия стресса [64]. Механизм данного эффекта обусловлен функционированием прионной формы белка – фактора терминации трансляции eRF3. Он способствует нарушению процесса терминации и увеличению количества прочтений нонсенс-кодонов, которые в норме не должны подвергаться трансляции. Результат данного эффекта сводится к изменению протеома клетки, необходимого для функционирования в измененных условиях среды. Кроме того, известны механизмы прионизации, влияющие на экспрессию некоторых генов непосредственно во время транскрипции. Осуществление такого механизма возможно лишь при существовании прионной формы какого-либо транскрипционного фактора, в результате чего ослабляется процесс транскрипции соответствующего гена в силу невозможности связывания данного фактора с ДНК [12, 63].

По мнению ряда исследователей, прионная регуляция генной функции является частью важного адаптивного механизма к меняющимся условиям окружающей среды, а потому, несомненно, должна рассматриваться как эпигенетическая составляющая функционирования клетки. Современное представление о молекулярных основах развития прионов у человека предусматривает наличие специфического гена *PRNP*, кодирующего первичную структуру нормального белка-приона (PrPC) и его изоформы – прионного белка PrPSc. Установлено, что переход нормальной формы в прионную связан с мутациями в данном гене [9]. Пока нет достоверных подтверждений о наследовании прионов у человека, однако существует мнение о предрасположенности к некоторым формам прионных заболеваний, связанной с аллельным полиморфизмом гена *PRNP*. Существование прионной (белковой) наследственности, связанной с определенными цитоплазматическими наследственными детерминантами, доказано у грибов – дрожжей-сахаромицетов [5].

Огромное разнообразие рассмотренных в данном обзоре уже известных клеточных молекулярных событий, связанных с механизмами временного и пространственного контроля активности генов, в очередной раз подчеркивает важность эпигенетики как отдельной области знаний в биологии и генетике, заслуживающей глубокого и систематизированного подхода к изучению ее проблем. Сегодня достаточно активно развиваются технологии, направленные на анализ эпигенетических изменений. Среди них достаточно широко распространены такие, как определение «рисунка» метилирования ДНК при помощи иммунопреципитации хроматина и метилчувствительной ПЦР, анализ уровня экспрессии микроРНК, анализ посттрансляционных модификаций гистонов методом проточной цитометрии и лазерного сканирования. Кроме того, известны способы изучения пространственной организации генома и анализа характера взаимодействий между его удаленными регуляторными элементами при помощи различных способов фиксации конформаций хроматина.

В настоящее время уже разработаны и внедрены в практическое здравоохранение лекарственные препараты, обладающие модификацией некоторых эпигенетических механизмов. В частности, существуют онкологические препараты, подавляющие активность ДНК-метилтрансфераз, участвующих в процессе метилирования ДНК [31, 41]. Известны положительные результаты применения препаратов, устраняющих негативные последствия модификаций гистонов – так называемые ингибиторы гистоновой деацети-

лазы [45]. Все более отчетливо прослеживается роль эпигенетики в развитии многих заболеваний человека, таких как сахарный диабет, бронхиальная астма, ожирение, отдельные синдромальные заболевания, например синдром Прадера – Вилли, связанный с геномным импринтингом в определенном локусе хромосомы [25, 44, 51]. Такие факторы, как питание человека, его физическая активность, режимы труда, отдыха, инфекции, воздействие токсинов и многие другие аспекты, казалось бы, повседневной жизни, стали приобретать все большее значение в контексте рассмотрения их как важнейших эпигенетических «медиаторов». Многим проблемам изменений эпигенома, таких как партеногенез, канцерогенез, клонирование, дифференцировка клеток, посвящено множество научных работ [11, 36]. Большую роль отводят ученые эпигенетическим механизмам и в процессе старения организма, где были зафиксированы обширные зоны изменений профиля метилирования генома. По мнению ряда исследователей, тайны эпигенетических механизмов предстоит раскрывать еще не одно десятилетие, при этом ее вклад в развитие и лечение заболеваний человека по сравнению со вкладом генетики гораздо более весом и значим.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анпель Б., Мюллер С. Нуклеиновые кислоты: от А до Я. М., 2013. 413 с.
2. Делоне Н.Л. Очерки по проблемам наследственности в космической биологии. М., 2013. 208 с.
3. Ежова Т.А., Ву Х.Ч. Генетическая и эпигенетическая регуляция морфогенеза листа // Вестн. Твер. гос. ун-та. Сер. Биол. и экол. 2008. (9). 66–75.
4. Жимулев И.Ф. Мозаичный эффект положения гена // Сорос. образ. журн. 2001. 7. (1). 4–9.
5. Захаров-Гезехус И.А. Цитоплазматическая наследственность // Вавил. журн. генетики и селекции. 2014. 18. (1). 93–102.
6. Инге-Вечтомов С.Г., Борхсенцус А.С., Задорский С.П. Белковая наследственность: конформационные матрицы и эпигенетика // Вестн. ВОГиС. 2004. 8. (2). 60–66.
7. Коваленко Т.Ф. Метилирование генома млекопитающих // Молекуляр. медицина. 2010. (6). 24–267.
8. Курчанов Н.А. Поведение: эволюционный подход. М.: СпецЛит, 2011. 73 с.
9. Куширинов В.В. Прионные и неприонные амилоиды: изучение в дрожжевой модели: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2008.
10. Лавров С.А., Шацких А.С., Кибанов М.В., Гвоздев В.А. Транскрипционная инактивация генов при эффекте положения у *Drosophila melanogaster* коррелирует на уровне отдельных клеток с их перемещением в гетерохроматиновый компартмент ядра // Молекуляр. биология. 2013. 47. (2). 286–291.
11. Малецкий С.И., Роик Н.В., Драгавцев В.А. Третья изменчивость, типы наследственности и воспроизводства семян у растений // С.-х. биология. 2013. (5). 3–29.
12. Миронова Л.Н. Белковая наследственность и регуляция экспрессии генов у дрожжей // Экол. генетика. 2010. 8. (4). 10–16.
13. Назаренко С.А. Геномный импринтинг и его роль в этиологии наследственных болезней человека // Бюл. сиб. мед. 2004. (3). 8–17.
14. Паткин Е.Л., Квинн Дж. Эпигенетические механизмы предрасположенности к комплексным патологиям человека // Экол. генетика. 2010. 8. (4). 44–56.
15. Паткин Е.Л., Сучкова И.О. Регуляторные механизмы импринтинга у млекопитающих // Цитология. 2006. 48. (7). 578–594.
16. Ратнер В.А., Васильева Л.А. Мобильные генетические элементы (МГЭ): «эгоистическая ДНК» или функциональная часть генома? // Современные концепции эволюционной генетики: мат. конф. Новосибирск, 2000. 145–170.
17. Ратнер В.А. Генетика, молекулярная кибернетика: личности и проблемы. Новосибирск: Наука, 2002. 106 с.
18. Розанов В.А. Стресс-индуцированные эпигенетические феномены – еще один вероятный биологический фактор суицида // Суицидология. 2015. 6. (3). 3–19.
19. Саложин С.В. Метилирование ДНК как один из основных эпигенетических маркеров // Биохимия. 2005. 70. (5). 641–650.
20. Силичева М.А. Новые аспекты эффекта положения трансгенов *Drosophila melanogaster*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2008.
21. Фомченко Е.Е., Воронаев Е.В. Биологические аспекты метилирования ДНК // Пробл. здоровья и экологии. 2012. (3). 55–59.
22. Чехун В. Эпигенетика рака // Онкология. 2008. 10. (3). 301–312.
23. Ширин А.Д., Калетин Г.И., Баранова О.Ю. Эпигенетика в онкогематологии: краткий реферативный обзор // Клин. онкогематологии. 2015. 8. (1). 26–30.
24. Barr M.L., Bertram E.G. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis // Nature. 1949. 163. (4148). 676–677.
25. Bégin P., Nadeau K. C. Epigenetic regulation of asthma and allergic disease // Allergy Asthma Clin. Immunol. 2014. 10. (1). 27–28.
26. Benyajati C.W., Worcel A. Isolation, characterization, and structure of the folded interphase genome of *Drosophila melanogaster* // Cell. 1976. 9. (3). 393–407.

27. Borunova V.A., Iarovaia O.V., Vassetzky Y.S., Razin S.V. The upstream area of the chicken α -globin gene domain is transcribed in both directions in the same cells // FEBS Lett. 2005. 579. (21). 4746–4750.
28. Castel S.E., Martienssen R.A. RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond // Nat. Rev. Genet. 2013. 14. (2). 100–112.
29. Catherine H., Antoine B., Laure T. et al. Paramutation in drosophila requires both nuclear and cytoplasmic actors of the piRNA pathway and induces cis-spreading of piRNA Production // Genetics. 2015. 201. 1381–1396.
30. Hale C.J., Stonaker J.L., Gross S.M., Hollick J.B. A novel *Snf2* protein maintains trans-generational regulatory states established by paramutation in maize // PLoS Biol. 2007. 5. (10). e275.
31. Dawson M.A., Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy // Cell. 2012. 150. (1). 12–27.
32. Fitch K.R., Wakimoto B.T. The paternal effect gene *ms(3)sneaky* is required for sperm activation and the initiation of embryogenesis in *Drosophila melanogaster* // Dev. Biol. 1998. 197. (2). 270–282.
33. Gavrilov A.A. Mapping of the nuclear matrix bound chromatin hubs by a new M3C experimental procedure // Nucleic Acids Res. 2010. 38. (22). 8051–8060.
34. Gavrilov A.A., Razin S.V. Spatial configuration of the chicken (alpha) globin gene domain: Immature and active chromatin hubs // Nucleic Acids Res. 2008. 36. 4629–4640.
35. Gavrilov A.A., Zukher I.S., Philonenko E.S. et al. Mapping of the nuclear matrix-bound chromatin hubs by a new M3C experimental procedure // Nucleic Acids Res. 2010. 38. 8051–8060.
36. Gurvich N., Berman M.G., Wittner B.S. et al. Association of valproate-induced teratogenesis with histone deacetylase inhibition *in vivo* // FASEB J. 2004. 19. (9). 1166–1168.
37. Harring M., Bader R., Louwers M. et al. The role of DNA methylation, nucleosome occupancy and histone modifications in paramutation // Plant J. 2010. 63. (3). 366–378.
38. Hoki Y., Kimura N., Kanbayashi M. et al. A proximal conserved repeat in the *Xist* gene is essential as a genomic element for X-inactivation in mouse // Development. 2009. 136. 139–146.
39. Herzog L.B., Romer J.T., Horn J.M. et al. *Xist* has properties of the X-chromosome inactivation centre // Nature. 1997. 386. 272–275.
40. Jeffrey J.J., Chang H.Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function // Nat. Rev. Genet. 2015. 17. (1). 47–62.
41. Kaminskas E., Farrell A., Abraham S. Approval summary: azacitidine for treatment of myelodysplastic syndrome subtypes // Clin. Cancer Res. 2005. 11. (10). 3604–3608.
42. Kaneko-Ishino T., Ishino F. Retrotransposon silencing by DNA methylation contributed to the evolution of placentation and genomic imprinting in mammals // Development. 2010. 52. (6). 533–543.
43. Klochkov D., Rincón-Arango H., Ioudinkova E.S. et al. A CTCF-dependent silencer located in the differentially methylated area may regulate expression of a housekeeping gene overlapping a tissue-specific gene domain // Mol. Cell. Biol. 2006. 26. 1589–1597.
44. Knoll J.H., Nicholls R.D., Magenis R.E. Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome deletion but differ in parental origin of the deletion // Am. J. Med. Genet. 1989. 32. (2). 285–290.
45. Laubach J.P., Moreau P., San-Miguel J.F. Panobinostat for the treatment of multiple myeloma // Clin. Cancer Res. 2015. 21. (21). 4767–4773.
46. Law J.A., Jacobsen S.E. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals // Nat. Rev. Genet. 2010. 11. (3). 204–220.
47. Lee T.I., Young R.A. Transcriptional regulation and its misregulation in disease // Cell. 2013. 152. (6). 1237–1251.
48. Lee J.T., Jaenisch R. Long-range cis effects of ectopic X-inactivation centres on a mouse autosome // Nature. 1997. 386. 275–279.
49. Li W., Notani D., Rosenfeld M.G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives // Nat. Rev. Genet. 2016. 17. (4). 207–223.
50. Mann J.R. Imprinting in the germ line // Stem Cells. 2001. 19. (4). 287–294.
51. Martínez J.A., Milagro F.I., Claycombe K.J., Schalinske K.L. Epigenetics in adipose tissue, obesity, weight loss, and diabetes // Adv. Nutr. 2014. 5. (1). 71–81.
52. Mehler M.F. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease // Progr. Neurobiol. 2008. 86. 305–341.
53. Merry C.R., Forrest M.E., Sabers J.N. et al. DNMT1-associated long non-coding RNAs regulate global gene expression and DNA methylation in colon cancer // Hum. Mol. Genet. 2015. 24. (21). 231–233.
54. Rassoulzadegan M., Grandjean V., Gounon P. et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse // Nature. 2006. 441. 469–474.
55. Rassoulzadegan M., Cuzin F. From paramutation to human disease: RNA-mediated heredity // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. 44. 47–50.
56. Ng K., Pullirsch D., Leeb M., Wutz A. *Xist* and the order of silencing // EMBO Rep. 2007. 8. 34–29.
57. Ohno S., Kaplan W.D., Kinoshita R. Formation of the sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of *rattus norvegicus* // Exp. Cell Res. 1959. 18. 415–419.

58. Petrova N.V., Iarovaia O.V., Verbovoy V.A. Specific radial positions of centromeres of human chromosomes X, 1, and 19 remain unchanged in chromatin-depleted nuclei of primary human fibroblasts: evidence for the organizing role of the nuclear matrix // *J. Cell. Biochem.* 2005. 96. 850–857.
59. Razin S.V., Rynditch A., Borunova V. et al. The 33 kb transcript of the chicken α -globin gene domain is part of the nuclear matrix // *J. Cell Bioch.* 2004. 92. 445–457.
60. Reik W. Genomic imprinting and genetic disorders in man // *Trends Genet.* 1989. 5. (10). 331–336.
61. Tanaka K., Matsumoto K., Toh-e A. Dual regulation of the expression of the gene by cyclic AMP and heat shock in yeast // *EMBO J.* 1988. 7. (2). 495–502.
62. Tang W.Y., Ho S.M. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2007. 8. 173–182.
63. True H.L., Berlin I., Lindquist S.L. Epigenetic regulation of translation reveals hidden genetic variation to produce complex traits // *Nature.* 2004. 431. 184–187.
64. True H.L., Lindquist S.L. A yeast prion provides a mechanism for genetic variation and phenotypic diversity // *Nature.* 2000. 407. 477–483.
65. Valadez-Graham V., Razin S.V., Recillas-Targa F. CTCF-dependent enhancer blockers at the upstream region of the chicken α -globin gene domain // *Nucleic Acids Res.* 2004. 32. 1354–1362.
66. Li W., Notani D., Rosenfeld M.G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives // *Nat. Rev. Genet.* 2016. 17. 207–223.
67. Wilkins M. Proteomics data mining // *Expert Rev. Proteomics.* 2009. 6. (6). 599–603.
68. Wilkinson M., Lawrence S., William D. et al. Genomic imprinting effects on brain development and function // *Nat. Rev. Neurosci.* 2007. 8. (11). 832–843.
69. Fu Y., Lee I., Lee Y.S., Bao X. Small non-coding transfer RNA-derived RNA fragments (tRFs): their biogenesis, function and implication in human diseases // *Genomics Inform.* 2015. 13. (4). 94–101.

EPIGENETICS AND METHODS OF ITS REALIZATION

**Andrey Gennadievich SHCHUKO^{1,2}, Alexey Alexandrovich VESELOV¹,
Tatyana Nikolaevna YURIEVA^{1,2}, Nataliya Vasilievna VOLKOVA^{1,2},
Gennadiy Anatolievich SHABANOV³, Alexandr Alekseevich RYBCHENKO³,
Tatyana Vasilievna POCHTARENKO¹**

¹ *Irkutsk State Medical University of Minzdrav of Russia
664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstania str., 1*

² *Eye Microsurgery Institute n.a. academician S.N. Fedorov of Minzdrav of Russia, Irkutsk Branch
664033, Irkutsk, Lermontov str., 337*

³ *Research Center «Arctic» FEB RAS
690022, Vladivostok, Kirov str., 95*

The most actual aspects of genetics associated with the epigenetic component of the regulation of gene expression are considered. Attention is paid to the development of ideas on epigenetics, as a separate field of knowledge on the functioning of genes, and an integral part of classical genetics. The concepts of epigene and epigenetic reprogramming are highlighted. The most known molecular mechanisms of epigenetic regulation of the gene function are considered. The importance of research in the field of epigenetics for the development of science and medicine was emphasized.

Key words: epigenetics, expression, epigenome, paramutation, DNA methylation, imprinting.

Shchuko A.G. – doctor of medical sciences, professor, head of chair of eye diseases, director

Veselov A.A. – candidate of medical sciences, associate professor of the chair of eye diseases,
e-mail: Magicjack@mail.ru

Yurieva T.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on research work, professor
of the chair of eye diseases

Volkova N.V. – candidate of medical sciences, associate professor in the chair of eye diseases,
head of scientific and educational department

Shabanov G.A. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory
for ecological neurocybernetics

Rybchenko A.A. – doctor of technical sciences, director of the laboratory for ecological neurocybernetics

Pochtarenko T.V. – assistant of the department of eye diseases