

Метилирование ДНК: распределение в геноме, механизм регуляции и мишень для терапии

Д. С. Каплун^{1,2}, Д. Н. Калюжный³, Е. Б. Прохорчук^{1,2}, С. В. Женило^{1,2}

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071 Россия

²Институт биологии гена РАН, Москва, 119991 Россия

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

E-mail: zhenilo@biengi.ac.ru

Поступила в редакцию 07.10.2022

Принята к печати 29.11.2022

DOI: 10.32607/actanaturae.11822

РЕФЕРАТ Метилирование – важнейшая эпигенетическая модификация ДНК, участвующая в регуляции транскрипции, импринтинге, установлении X-инактивации, формировании структуры хроматина. Метилирование ДНК в геноме чаще всего ассоциировано с подавлением транскрипции и с формированием закрытого гетерохроматина. Однако результаты полногеномных исследований профиля метилирования ДНК, транскрипционной активности генов заставили пересмотреть эту парадигму. Промоторы многих генов остаются активными, несмотря на их метилирование. Отличия в распределении метилирования ДНК в норме и патологии позволяют рассматривать метилирование в качестве диагностического маркера или терапевтической мишени. Все это повышает интерес к изучению факторов, влияющих на метилирование ДНК и участвующих в его интерпретации. За последнее время найдено большое количество белковых факторов, способных связываться с ДНК зависит от метилирования. Многие из этих белков выступают не только как активаторы или репрессоры транскрипции, но и влияют на уровень метилирования ДНК. Эти факторы рассматриваются как потенциальные терапевтические мишени при заболеваниях, в основе которых лежат или изменение метилирования ДНК, или изменение активности белков, связывающихся с метилированной ДНК. Помимо белковых факторов, на метилирование ДНК может влиять вторичная структура ДНК, которая также служит терапевтической мишенью. В представленном обзоре обобщены результаты последних исследований профиля метилирования геномной ДНК, обсуждаются причины избегания метилирования некоторыми участками ДНК, а также факторы, способные влиять на уровень метилирования ДНК и использоваться в качестве мишени для терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА метилирование ДНК, транскрипционный фактор, ДНК-метилтрансферазы, G-квадруплексы, ТЕТ-диоксигеназы, метил-ДНК-связывающие белки.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ТФ – транскрипционные факторы.

ВВЕДЕНИЕ

Самой распространенной модификацией ДНК в клетках млекопитающих является метилирование остатков цитозина, который называют пятым основанием ДНК. Чаще всего метилированию подвергаются остатки цитозина в составе CpG-динуклеотидов. Однако в стволовых клетках и нейронах метилированные цитозины, в отличие от CpG-динуклеотидов, могут составлять 25–50% от всех mC [1]. У млекопитающих около 70–80% цитозинов в CpG-динуклеотидах метилированы [2]. Метилирование ДНК осуществляется *de novo* ДНК-метилтрансферазами DNMT3a/3b, которые не являются взаимозаменяемыми и отвечают

за метилирование разных участков генома [3, 4]. При репликации метилирование ДНК поддерживается с помощью DNMT1 ДНК-метилтрансферазы. Деметилирование ДНК происходит как пассивно при делении клеток, так и активно за счет действия ферментов. Основными факторами, участвующими в активном деметилировании, являются диоксигеназы ТЕТ1,2,3. ТЕТ-белки окисляют метилцитозин до гидроксиметилцитозина, затем формилцитозина и карбоксицитозина, которые за счет эксцизионной репарации тимин-ДНК-гликозилазой (TDG/NEIL) переходят в цитозин (рис. 1) [5]. Производные метилцитозина рассматриваются не только как промежуточные состояния между метилированным

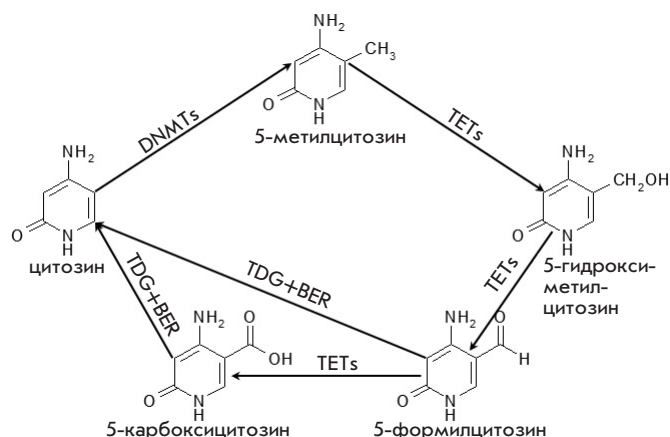


Рис. 1. Схема метилирования и деметилирования цитозина

и неметилированным основанием, но и как модификации ДНК, которые влияют на связывание факторов транскрипции, участвуя в регуляции экспрессии генов. (Производные метилцитозина рассмотрены в обзоре [6].)

Основные изменения метилирования ДНК происходят в ходе развития организма, при дифференцировке клеток. Для дифференцированных клеток характерен стабильный профиль метилирования ДНК, который тем не менее может варьировать при внешнем воздействии, различных патологических процессах, старении [7–11]. Динамическое изменение метилирования ДНК в дифференцированных клетках обнаружено также при обучении и формировании памяти в нервных клетках [12, 13]. Во всех остальных случаях метилирование ДНК

в дифференцированных клетках остается стабильным. Это позволяет рассматривать метилирование ДНК в качестве мишени для лечения и диагностики различных патогенетических состояний, в основе которых лежат нарушения в уровне метилирования ДНК, влияющие на транскрипцию генов.

В данном обзоре приведены основные характеристики распределения метилирования ДНК в геноме. На основании последних опубликованных данных проанализированы факторы, влияющие на установление метилирования ДНК, его поддержание или деметилирование. Обсуждается возможность терапевтического использования этих факторов.

1. ПРОФИЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Около 90% всех метилированных CpG в геноме млекопитающих находятся в различных повторяющихся последовательностях, таких, как сателлитные повторы и мобильные элементы [14]. Наибольшее количество CpG-богатых повторяющихся элементов расположено в структурных областях хромосом: центромерных, околоцентромерных и субтеломерных (рис. 2А). Нанопоровое полногеномное секвенирование генома человека позволило не только прочесть последовательности повторяющихся элементов, но и провести анализ их метилирования в геноме: в норме они в значительной степени метилированы [2, 15]. Отметим, что метилирование дублированных/повторяющихся последовательностей, находящихся на разных хромосомных участках, может сильно отличаться [2], то есть для установления определенного профиля метилирования повторяющихся последовательностей

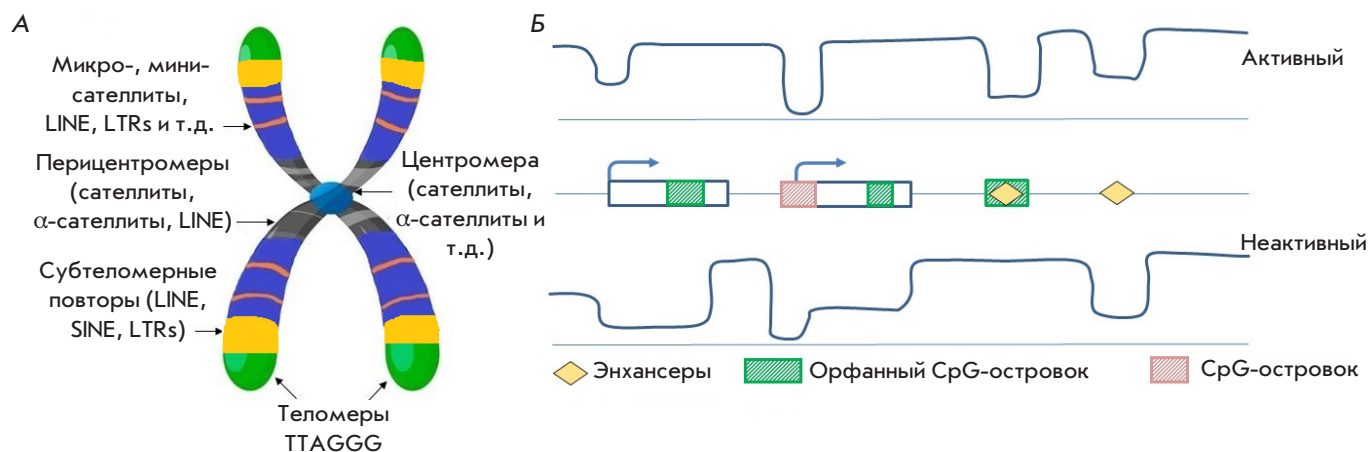


Рис. 2. Профиль метилирования ДНК и повторяющиеся последовательности (А). Расположение различных повторяющихся последовательностей на хромосоме. Б – профиль метилирования ДНК в геноме в зависимости от активности промоторов и энхансеров и наличия CpG-островков

важна не только сама последовательность, но и ее хромосомное окружение. Гипометилирование различных повторяющихся элементов характерно для различных патологических состояний, включая онкотрансформацию клеток, иммунодефицитные состояния, аутоиммунные, неврологические и психиатрические заболевания [7–9, 16, 17]. Необходимость метилирования сателлитных повторов в центромерных и околоцентромерных областях связывают с правильным расхождением хромосом при репликации [18]. Метилирование же мобильных элементов, транспозонов, ретротранспозонов направлено на подавление их транскрипции. Деметилирование этих повторов приводит к их активной транскрипции, транспозиции, что влияет на возникновение нестабильности генома. Возможно, этот механизм избыточен, так как для эволюционно ранних транспозонов, ретротранспозонов, характерно наличие мутаций или делеций в последовательностях, кодирующих транспозазу, что приводит к образованию неактивной формы белка.

В геноме млекопитающих есть CpG-динуклеотиды, которые избегают метилирования. Такие CpG обычно входят в состав так называемых CpG-островков. CpG-островок – участок ДНК, в котором уровень GC-пар превышает 50%, а соотношение ожидаемое/наблюдаемое количество CpG больше 0.6. Примерно 60% промоторов содержат CpG-островки. Для этих участков, независимо от активности промотора, характерна модификация активного хроматина – триметилирование четвертого остатка лизина в молекуле гистона H3 (H3K4me3) [19]. Активный хроматин представляет собой участок ДНК, в котором такие модификации гистонов, как ацетилирование H3K4me3, приводят к доступности ДНК для активаторов транскрипции. Наличие H3K4me3 в промоторных областях неактивных генов способствует инициации транскрипции, но не синтезу мРНК. При этом существует целый ряд промоторов неактивных генов, содержащих неметилированные CpG-островки, в которых не детектируется H3K4me3. Чаще всего к этому классу относятся гены, расположенные в кластерах с тремя или более гомологичными генами, кодирующими обонятельные рецепторы, кератины, аполипотеины, интерлейкины и антигены лейкоцитов [19]. Метилирование CpG-островков в промоторных районах коррелирует с подавлением транскрипции и может возникать как в норме, например, при развитии организма, так и при патологии [20]. Так, для злокачественной трансформации клеток и метастазирования характерно гиперметилирование CpG-островков в промоторах генов-онкосупрессоров, белков, участвующих в клеточной адгезии, в репарации

ДНК. В большинстве случаев гиперметилирование CpG-островков в промоторах приводит к подавлению транскрипции. Однако отметим, что в опухолях гиперметилирование может затрагивать промоторы генов, транскрипционно неактивных в данной ткани в норме, то есть их гиперметилирование не влияет на подавление экспрессии, а скорее закрепляет неактивный статус [21].

Промоторы, содержащие небольшое количество CpG-динуклеотидов, характерны для тканеспецифических генов и генов, вовлеченных в развитие организма. Метилирование таких промоторов не всегда коррелирует с подавлением транскрипции [22]. При сравнительном анализе клеток мозга и сетчатки было найдено, что метилирование 66% дифференциально метилированных промоторов отрицательно коррелируют с транскрипцией. Таким образом, метилирование этих промоторов соответствует подавлению транскрипции. В то же время для 34% транскрипционно активных генов наблюдалось метилирование их промоторов [22].

CpG-островки, которые не пересекаются с промоторными участками, называются орфанными, или сиротскими. Количество орфанных CpG-островков примерно в 2 раза меньше, чем промоторных. Орфанные CpG-островки часто содержат модификацию активного хроматина H3K4me3 и могут давать начало новым транскриптам [23]. Во время развития организма многие орфанные CpG-островки подвергаются метилированию, теряя модификации активного хроматина. Метилирование орфанного CpG-островка, расположенного внутри гена, препятствует возникновению сайтов инициации транскрипции внутри гена и коррелирует с активной транскрипцией [24]. Метилирование внутри генов может предотвращать связывание белков Polycomb репрессорного комплекса PRC2, что также способствует активной транскрипции [25]. Около 90% орфанных CpG-островков могут выступать в роли тканеспецифичных энхансеров [26]. Присутствие CpG-островка усиливает регуляторную активность энхансеров [27]. Активные энхансеры, содержащие орфанные CpG-островки, гипометилированы, в то время как классические энхансеры, работающие во всех типах тканей, имеют вариабельное метилирование [27] (рис. 2Б).

Построенные карты метилирования всей геномной ДНК в различных типах клеток, наряду с информацией об активности регуляторных элементов, позволяют рассматривать метилирование ДНК как инструмент регуляции транскрипционной активности при коррекции или для определения различных патогенетических состояний, связанных с изменением метилирования ДНК.

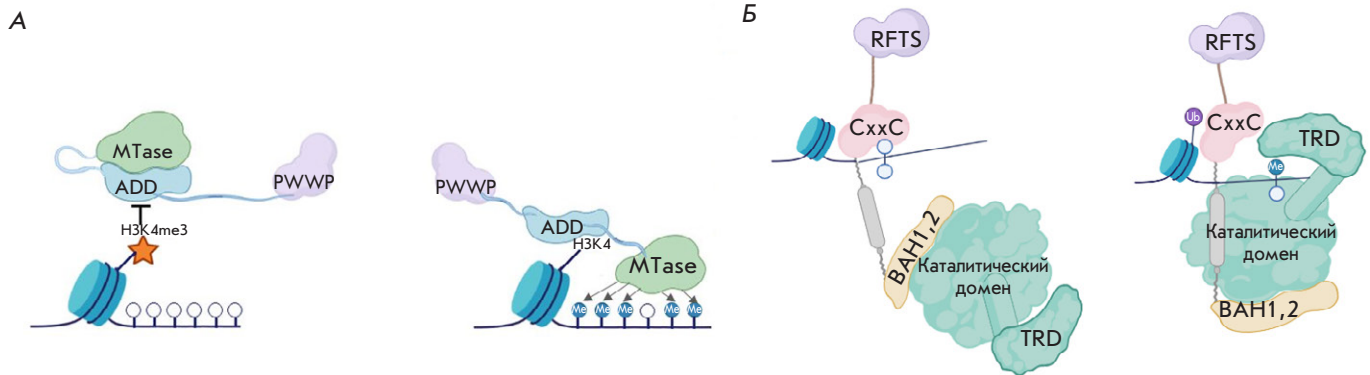


Рис. 3. Схема связывания DNMT3a/3b с немодифицированным H3K4 (А), наличие H3K4me3 препятствует связыванию ADD-домена с ДНК, что приводит к аутоингибированию фермента; DNMT1 с ДНК (Б), взаимодействие с неметилированной ДНК приводит к ингибированию каталитического домена [29, 30]

2. ГОМЕОСТАЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Гомеостаз метилирования ДНК основан на сложной регуляторной сети, уравнивающей метилирование и деметилирование. Основные механизмы, поддерживающие гомеостаз метилирования ДНК при пролиферации, дифференцировке клеток, представляют собой 1) пассивное деметилирование всего генома и поддержание профиля его метилирования DNMT1 при репликации; 2) направленное *de novo* метилирование и активное деметилирование отдельных участков. В данной главе мы рассмотрим факторы, вовлеченные в гомеостаз метилирования ДНК.

2.1. Поддержание участков ДНК в неметилированном состоянии

Около 20% CpG-динуклеотидов, большинство из которых расположены в CpG-островках, избегают метилирования. К основным факторам, препятствующим их метилированию, относятся модификации гистонов, взаимодействие ДНК с определенными факторами транскрипции (ТФ), первичная и вторичная структура ДНК.

2.1.1. Триметилирование четвертого лизина H3.

Одна из причин устойчивости CpG-островков к *de novo* метилированию вне зависимости от того, расположены они в транскрипционно активном регионе или нет, заключается в наличии в них триметилированного H3K4. H3K4me3 препятствует привлечению к ДНК *de novo* ДНК-метилтрансфераз DNMT3a/3b и их регулятора DNMT3L, который сам по себе не обладает каталитической активностью [28]. В состав ДНК-метилтрансфераз DNMT3a/3b входят каталитический домен, обладающий метилтрансферазной активностью (MTase), домены ADD и PWWP,

участвующие в связывании с хроматином. В несвязанном с ДНК состоянии ДНК-метилтрансферазы неактивны, поскольку подвергаются аутоингибированию: ADD-домен взаимодействует с каталитическим доменом, препятствуя его активности (рис. 3). ADD-домен не может взаимодействовать с H3K4me3. При этом немодифицированный H3K4 взаимодействует с ADD-доменом DNMT3a/3b, нарушая связывание ADD с каталитическим доменом и способствуя проявлению метилтрансферазной активности [28, 29]. Таким образом, метилирование ДНК и метилирование H3K4 являются взаимно исключающими событиями (рис. 3А).

Другая ситуация наблюдается для поддерживающей ДНК-метилтрансферазы DNMT1. DNMT1 локализуется в промоторных участках, содержащих неметилированные CpG-островки, не принимая участие в их метилировании. В состав DNMT1 входят домены RFTS (replication foci-targeting sequence), ZF-CxxC, два BAH- (bromo-adjacent homology) домена и каталитический домен. CxxC-домен DNMT1 может связываться с последовательностями, содержащими неметилированные CpG-динуклеотиды. При этом BAH1-домен физически препятствует взаимодействию каталитического домена и ДНК, предотвращая *de novo* метилирование (рис. 3Б) [30].

Характерная особенность CpG-островков – способность связываться с ТФ и ферментами, содержащими домен ZF-CxxC (CFP1, MLL1/2, KDM2A/2B, TET1/TET3, DNMT1) [31]. Многие из этих факторов связывают или сами являются гистон-метилтрансферазами, модифицирующими H3K4, что препятствует привлечению ДНК-метилтрансфераз. Отметим, что чем менее активен промотор гена, тем более важно присутствие H3K4me3 для поддержания его неметилированного состояния [32, 33].

2.1.2. TET-диоксигеназы. TET-диоксигеназы (ten-eleven translocation) – это ферменты, которые окисляют метилцитозин для дальнейшей эксцизионной репарации. TET-белки привлекаются к ДНК различными способами. TET связываются с CpG-островками через свой SxxC-домен или другие факторы транскрипции, содержащие SxxC-домен. При этом TET-белки могут привлекаться к ДНК, независимо от CpG-островков через белки-посредники, такие, как Klf4, Nanog, REST, GADD45, SEBPα и др., например, TET1 и TET2 привлекаются к ДНК, связываясь с ТФ Nanog, что приводит к деметилированию регуляторных областей генов, вовлеченных в поддержание плюрипотентного состояния клеток [34]. Отметим, что TET-белки, как и многие SxxC-содержащие белки, влияют на триметилирование H3K4. TET взаимодействуют с OGT-трансферазой (O-GLCNAc transferase), которая в свою очередь образует комплекс с SET1 и MLL гистонметилтрансферазами, триметилирующими H3K4 [35].

Большую роль в деметилировании ДНК TET-диоксигеназами играют так называемые факторы-пионеры [36]. Факторы-пионеры взаимодействуют с закрытым, неактивным хроматином, изменяя его доступность для активаторов транскрипции. Наибольшую активность факторы-пионеры проявляют при развитии организма, созревании иммунной системы, онкотрансформации клеток, репрограммировании соматических клеток. Факторами-пионерами являются FOXA1, FOXO, Sox, Pax, GATA, Oct4, PU1, SEBPα и другие ТФ [37]. Основной особенностью факторов-пионеров является способность узнавать не просто последовательность ДНК, а участок ДНК в контексте нуклеосом [38, 39]. Это объясняет, почему метилирование ДНК не всегда важно для привлечения факторов-пионеров. Действительно, многие факторы-пионеры имеют участки узнавания, не содержащие CpG-динуклеотиды, либо они нечувствительны к метилированию. К таким факторам можно отнести ASCL1, FOXA1 [40, 41]. Тем не менее, факторы-пионеры Oct4 и Klf4 взаимодействуют как с последовательностями, не содержащими CpG, так и с участками, в состав которых входят CpG. В последнем случае Oct4 и Klf4 связываются только с метилированными сайтами [42]. Среди факторов-пионеров, способных образовывать комплекс с TET-диоксигеназами, найдены Klf4, SEBPα и TFSP211 [37]. Показана функциональная значимость взаимодействия TET2 с Klf4 и SEBP при репрограммировании соматических клеток. Факторы-пионеры Klf4 и SEBPα привлекают диоксигеназу TET2 к метилированным энхансерным последовательностям, что приводит к их деметилированию и активации [37]. Причем в опре-

деленных областях хроматина, включая участки связывания Klf4, сначала снижается метилирование, а затем происходит ремоделирование хроматина. Клетки с нокаутом гена *TET2* не подвергаются репрограммированию [37]. Таким образом, деметилирование ДНК ферментами TET является одним из ключевых этапов репрограммирования клеток.

Несмотря на то что белки TET вовлечены в деметилирование многих участков, их удаление не приводит к катастрофическому изменению полного уровня метилирования ДНК. Основные изменения в метилировании ДНК при нокауте TET касаются дистальных регуляторных элементов, энхансерных последовательностей [43].

2.1.3. Вторичная структура ДНК. Одним из факторов, играющих роль в поддержании неметилированного состояния CpG-островков, является изменение конформации, вторичной структуры ДНК.

Один из таких факторов – R-петля, которая представляет собой гибрид РНК-ДНК и вытесненную нить ДНК. GADD45A, связываясь с R-петлей в промоторе гена опухолевого супрессора TCF21, привлекает TET1, что способствует локальному деметилированию данного участка [44]. Таким образом, вторичная структура ДНК может влиять на деметилирование ДНК за счет связывания с диоксигеназами TET.

G-квадруплексы также могут влиять на метилирование как CpG-островков, так и CpG-динуклеотидов, не входящих в островки. Известно, что регуляторные области эукариотических геномов, обогащенные GC-парами, способны изменять локальную конформацию ДНК, перестраиваясь в альтернативные структуры в виде G-квадруплексов (G4) [45]. G-квадруплексная (G4) вторичная структура ДНК формируется гуанинбогатыми последовательностями. Попарное хугстиновское взаимодействие гуанинов приводит к образованию гуаниновых квартетов, стопки таких квартетов, стабилизированных катионами калия, формируют ядро G4-структуры. Термодинамическая стабильность таких структур зависит от нуклеотидной последовательности и порой превышает стабильность двойной спирали ДНК. Существует несколько теоретических и экспериментальных подходов к определению потенциальных G4-участков. Стабильные G4, которые образуются в геномной ДНК в присутствии ионов калия, служат барьером для прохождения ДНК-полимеразы. Это зачастую затрудняет проведение ПЦР-амплификации областей генома, содержащих GC-богатые участки, потенциально склонных к образованию G4-структур [46]. Подход, основанный на высокопроизводитель-

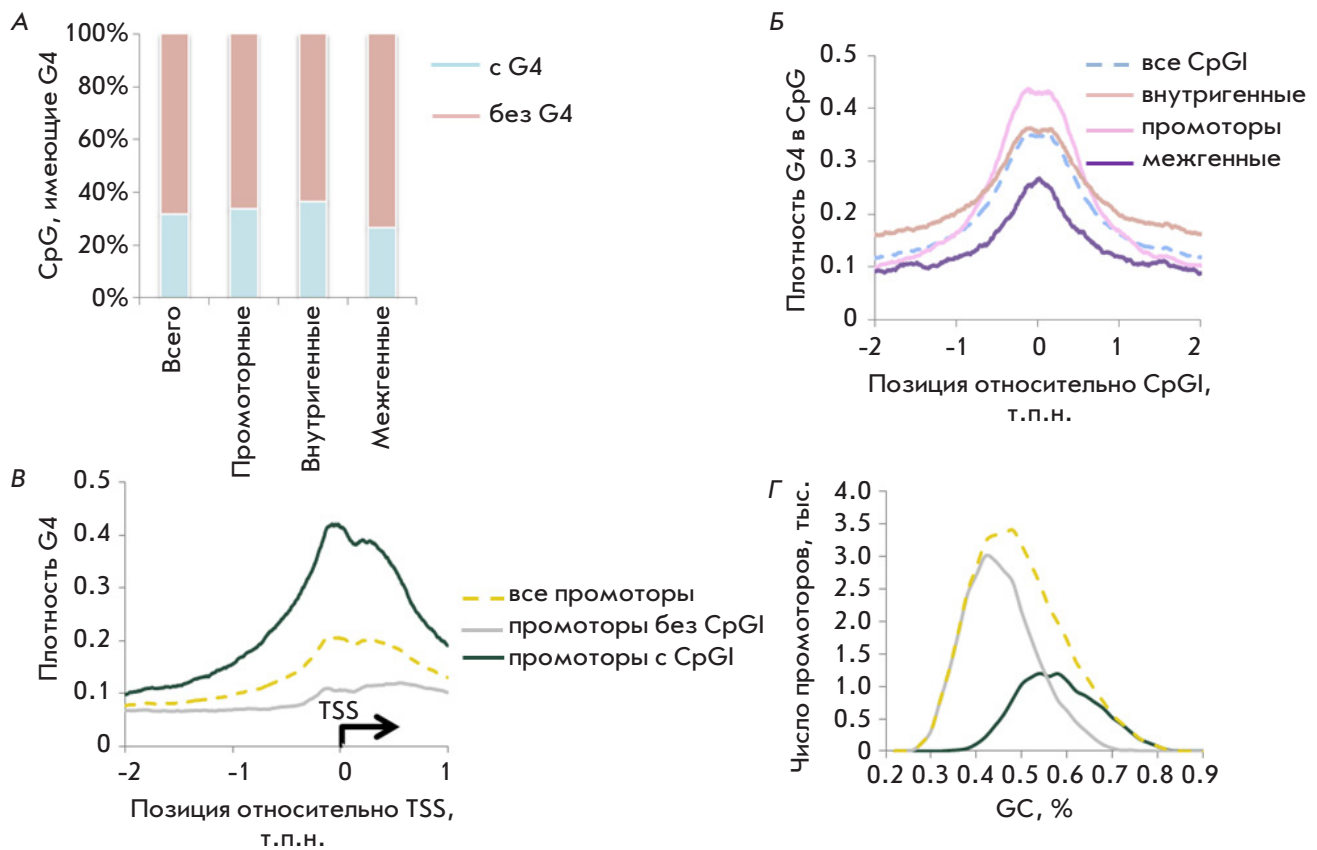


Рис. 4. Анализ распределения потенциальных G4-последовательностей в CpG-островках. А – доля CpG-островков с G4; Б – плотность распределения G4 в окрестностях CpG-островков в зависимости от локализации в геноме; В – плотность G4 и Г – GC-состав в промоторных участках в зависимости от наличия CpG-островков

ном секвенировании ошибок, возникающих в присутствии ионов калия, в настоящее время является лучшим экспериментальным предсказанием потенциала рефолдинга G4-областей геномной ДНК [47]. Изменение конформации ДНК влияет на ее физико-химические свойства и сродство разнообразных белков, специфичных к определенной нуклеотидной последовательности. Метилирование в CpG-контексте может изменять энергетический барьер для переходов между состоянием двойной спирали ДНК и образованием неканонических структур ДНК, таких, как G4 в частности [48]. Около 30% CpG-островков содержат нуклеотидные последовательности, способные образовывать G4-структуры (рис. 4А). Квадруплексными последовательностями наиболее обогащены внутригенные CpG-островки, в то время как вероятность встретить такие последовательности в межгенных CpG-островках снижается. Наибольшая плотность G4 детектируется в промоторных CpG-островках (рис. 4Б), где значительно превосходит среднюю плотность по всем промоторам (рис. 4В). Максимальная плотность G4

наблюдается вблизи сайта старта транскрипции (TSS). Снижение вероятности встретить G4 в промоторных областях без CpG-островков может быть связано с различием в GC-составе промоторов, пересекающихся с CpG-островками и расположенных вне их (рис. 4Г). Вероятность встретить потенциальный G4-квадруплекс в значительной степени зависит от GC-состава даже случайно сгенерированной последовательности нуклеотидов. Для случайной последовательности с GC-составом 40% вероятность встретить потенциальный G4 составляет около одного G4 на миллион пар оснований, в то время как увеличение GC-состава случайной последовательности до 70% повышает вероятность встречи G4 до одного на тысячу пар оснований [49]. В геномах высших организмов вероятность встретить G4-последовательность превышает случайную. Эти последовательности могут играть важную регуляторную роль, что подтверждается положительным отбором в процессах эволюции [50]. Наличие G4 в промоторах часто ассоциировано с подавлением транскрипции [51]. Тем не менее, в стволовых

клетках G4 детектируется на активных промоторах и на участках, взаимодействующих с ними, энхансерах, суперэнхансерах, участках связывания ТФ, которые определяют тип клетки. G4 найдены не только на активных регуляторных элементах, но и на участках с бивалентными модификациями хроматина, то есть содержащими как активные, так и неактивные модификации хроматина. При дифференцировке клеток снижение уровня детектируемых G4-структур коррелирует с появлением закрытого хроматина [48, 52]. Квадруплексные структуры могут взаимодействовать с ДНК-метилтрансферазами DNMT1, DNMT3A, DNMT3B *in vitro* [53, 54]. Действительно, неметилированные последовательности в CpG-островках, содержащие квадруплексы, обогащены участками связывания ДНК-метилтрансферазы DNMT1. При этом взаимодействие DNMT1 с G4 приводит к инактивации ее ДНК-метилтрансферазной активности [53]. Таким образом, формирование G4 препятствует метилированию ДНК. Это подтверждается корреляцией наличия стабильных квадруплексов, расположенных в открытом хроматине, с гипометилированием ДНК. Такая корреляция характерна, в первую очередь, для CG-бедных участков. Для CpG-островков, расположенных в закрытом хроматине, содержащих квадруплексы, также характерен более низкий уровень метилирования по сравнению с участками без квадруплексов [55].

На данный момент не ясно, какая из активностей DNMT1: связывание с неметилированными CpG, при котором расположение доменов препятствует каталитической активности, или взаимодействие с неканоническими структурами ДНК, является ключевой в поддержании неметилированного статуса CpG-островков. Отметим, что в геноме существуют участки, где DNMT1, связываясь с ДНК, проявляет *de novo* метилтрансферазную активность. К таким участкам относятся LTR-ретротранспозоны, обогащенные H3K9me3 и TRIM28. Здесь *de novo* активность DNMT1 регулируется UHRF1 [56]. Таким образом, для проявления *de novo* активности DNMT1 важно не только пространственное расположение ее доменов, но и наличие кофакторов.

2.1.4. Конкуренция транскрипционных факторов с ДНК-метилтрансферазами. ТФ, связываясь с ДНК, могут препятствовать привлечению ДНК-метилтрансфераз, защищая таким образом ДНК от метилирования. Классическим примером такой конкуренции между связыванием ТФ и ДНК-метилтрансфераз является Sp1. Sp1 взаимодействует с неметилированными последовательностями CCGCCC, которыми обогащены

CpG-островки, и препятствует привлечению ДНК-метилтрансфераз [57]. Мутация сайта связывания Sp1 приводит к увеличению метилирования данного участка и снижению транскрипции [58]. Таким образом, Sp1 рассматривается как ТФ, который предотвращает метилирование CpG-островков. Однако отсутствие современного полногеномного анализа метилирования ДНК при удалении Sp1 не позволяет подтвердить необходимость Sp1 для поддержания неметилированного статуса многих CpG-островков.

Еще один фактор, влияющий на поддержание неметилированного состояния ДНК, – CTCF. CTCF идентифицирован как ТФ, который связывается с неметилированными последовательностями и может действовать и как активатор, и как репрессор транскрипции. CTCF выполняет также роль инсультатора, блокируя действие энхансеров на промоторы, он принимает участие в формировании структуры хроматина [59]. В импринтированных локусах CTCF связывается с неметилированным аллелем, предотвращая взаимодействие энхансера с промотором. Связывание CTCF с неметилированным материнским аллелем локуса H19/Igf2 важно не только для взаимодействия энхансера с промотором, оно влияет и на поддержание материнского аллеля в неметилированном состоянии. Мутации сайтов связывания CTCF в этом локусе приводили к увеличению уровня метилирования материнского аллеля после оплодотворения яйцеклетки, но в герминальных клетках метилирование локуса H19/Igf2 не нарушено [60]. Снижение уровня самого CTCF в ооците с помощью РНК-интерференции (RNAi) приводило к увеличению уровня метилирования на материнском аллеле в данном локусе [61, 62]. Таким образом, CTCF важен для поддержания неметилированного состояния материнского аллеля локуса H19/Igf2. Потеря CTCF в раковых клетках приводит также к гиперметилированию участков связывания белка [63]. Согласно данным полногеномного анализа, в стволовых клетках мыши CTCF локализуется в основном на неметилированных или слабо метилированных участках. Тем не менее, часть участков связывания CTCF высокометилирована [64]. Оказалось, что метилирование препятствует взаимодействию CTCF с ДНК, только если расположено в определенных позициях сайта связывания [65]. Мутация метилированных участков связывания CTCF не приводит к изменению уровня их метилирования, хотя наличие CTCF на метилированных последовательностях коррелирует с более низким уровнем метилирования по сравнению с участками, не содержащими сайты узнавания CTCF [66]. Таким образом, взаимодействие CTCF с метилированными

последовательностями не связано с поддержанием метилирования этих участков. Отметим, что в клетках с нокаутом генов ДНК-метилтрансфераз, в которых снижен уровень метилирования ДНК, не наблюдалось перераспределения участков связывания CTCF на деметилированные участки [67]. Таким образом, само метилирование ДНК не является препятствием для связывания CTCF. В импринтированном локусе H19/Igf2 также найдены участки, с которыми CTCF может связываться *in vitro* вне зависимости от уровня их метилирования. Возможно CTCF не детектируется на метилированном аллеле *in vivo* из-за конкурентного связывания метил-чувствительных белков [68]. Таким образом, CTCF проявляет различную ДНК-связывающую активность, но связываясь с неметилированными последовательностями, поддерживает низкий уровень их метилирования.

Поиск факторов, которые по аналогии с CTCF или Sp1 защищают ДНК от гиперметилирования, позволит исследовать новые механизмы поддержания ДНК в неметилированном состоянии и рассматривать их как мишень для влияния на метилирование ДНК и транскрипционную активность генов при состояниях, связанных с нарушением метилирования ДНК.

2.2. Поддержание участков ДНК в метилированном состоянии

В этой главе мы рассмотрим процессы установления и поддержания метилирования ДНК, что важно для различных повторяющихся последовательностей, импринтированных участков, регуляторных элементов. В *de novo* метилирование ДНК вовлечены метилтрансферазы DNMT3a и DNMT3b, хотя, как отмечено ранее, DNMT1 также может проявлять *de novo* активность. ДНК-метилтрансфераза DNMT3a отвечает за установление метилирования в повторяющихся последовательностях, регуляторных элементах и телах генов, служащих мишенями белков Polycomb. DNMT3b важен для установления метилирования в области сателлитных повторов, последовательностей на инактивированной X-хромосоме [3, 4]. Для привлечения ДНК-метилтрансфераз важны модификации гистонов, взаимодействие с факторами транскрипции. В роли посредников, регулирующих связывание *de novo* метилтрансфераз с ДНК, могут также выступать длинные некодирующие РНК, PIWI-взаимодействующие некодирующие РНК [69].

2.2.1. Модификации гистонов. Привлечение DNMT3 к ДНК осуществляется с использованием разных механизмов, включающих модификации

гистонов. Как уже говорили ранее, немодифицированный H3K4 способствует связыванию ДНК-метилтрансфераз через ADD-домен и активации их каталитической активности. Также метилирование ДНК регулируется модификациями H3K36me3/me2 гистонов. DNMT3 метилируют CpG-богатые внутригенные последовательности активно транскрибируемых генов в участках, для которых характерно наличие гистонов с модификацией H3K36me3. В межгенных участках для связывания и метилирования ДНК DNMT3a необходим H3K36me2. За взаимодействия с H3K36me2/me3 отвечает PWWP-домен DNMT3 [70, 71].

Связывание DNMT3 с гетерохроматином, с повторяющимися последовательностями опосредовано метилированием H3K9. ДНК-метилтрансферазы привлекаются к ДНК за счет взаимодействия как с гистонметилтрансферазами, метилирующими H3K9 (Suv39h1/2, G9a/GLP, Setdb1), так и за счет связывания с белками HP1α и HP1β, узнающими метилированный H3K9 [72].

2.2.2. Транскрипционные факторы привлекают DNMT к ДНК. DNMT3a и DNMT3b не являются взаимозаменяемыми и мутации в них или делеции каждого из них приводят к изменению метилирования специфичных участков наряду с общими [3, 4]. Это связано с тем, что они могут привлекаться к ДНК за счет взаимодействия с различными ТФ. На данный момент открыто множество ТФ, способных взаимодействовать с обеими ДНК-метилтрансферазами или только с одной из них, или входят в комплекс с ними, но не взаимодействуют напрямую [73]. Интересно, что эти ТФ влияют лишь на метилирование ограниченного количества прямых мишеней, а во многих случаях лишь на единичные гены-мишени. Это позволяет рассматривать такие ТФ в качестве мишеней для точечной регуляции метилирования их генов-мишеней. Рассмотрим несколько таких факторов.

GCNF

Фактор GCNF (germ nuclear factor) участвует в установлении и поддержании метилирования различных промоторных участков за счет прямого взаимодействия с метилтрансферазами DNMT3a/3b [74]. Также GCNF может опосредованно привлекать метилтрансферазы DNMT3. При дифференцировке стволовых клеток GCNF связывается с промотором гена *Oct4* и взаимодействует с MBD2 и MBD3, которые, в свою очередь, входят в комплекс с DNMT3. Это приводит к метилированию промотора *Oct4* и подавлению его транскрипции в дифференцированных клетках. При дифференцировке стволовых

клеток с нокаутом GCNF MBD2/MBD3 не могут связаться с промотором *Oct4*, и ген продолжает активно работать [75]. Способность GCNF регулировать метилирование промотора *Oct4* может быть использовано для анализа статуса плюрипотентности клеток. Так, при репрограммировании соматических клеток наблюдается деметилирование промотора гена *GCNF*, что позволяет ему активироваться при дифференцировке клеток и эффективно подавлять транскрипцию гена *Oct4*. Такие плюрипотентные клетки являются зрелыми. Однако если в них репрограммирование прошло не до конца, то метилирование промотора *GCNF* сохраняется, он не может активироваться при дифференцировке, и *Oct4* будет оставаться активным в дифференцированных клетках, что делает клетки потенциально онкогенными. Таким образом, GCNF, а точнее метилирование его промотора, может рассматриваться в качестве маркера зрелости плюрипотентных клеток.

Kaiso (ZBTB33)

Белки, содержащие домен типа цинковых пальцев, часто выступают не только в роли метил-ДНК-связывающих белков, но и как факторы, влияющие на гомеостаз метилирования ДНК [42, 76]. Характерной чертой этих белков является способность узнавать не только метилированные, но и неметилированные участки, которые зачастую отличаются по нуклеотидной последовательности. Структура цинковых пальцев позволяет специфично распознавать метилированные CG, чаще всего в определенном контексте для каждого ТФ [77]. Первыми белками, содержащими домен цинковые пальцы, взаимодействующие с метилированными последовательностями, были Kaiso-подобные белки: Kaiso (ZBTB33), ZBTB4 и ZBTB38. Помимо цинковых пальцев в их состав на N-конце входит домен VTB/POZ, отвечающий за белок-белковое взаимодействие [78–80]. Позднее нашли и другие белки с цинковыми пальцами, взаимодействующие с метилированной ДНК, в том числе Znf57, CTCF, Klf4, Wt1, Egr1. Наибольшее сродство к метилированной ДНК имеют Kaiso и Znf57. Они связываются с метилированными последовательностями более чем в 20 раз лучше, чем с неметилированными последовательностями, в то время как чувствительность остальных белков с цинковыми пальцами к метилированным последовательностям всего в 1.5–3 раза выше или такая же, как у неметилированной последовательности [81, 82].

Kaiso связывается с метилированными последовательностями и с участками, содержащими CTGCNA [78, 80]. Этот белок может действовать как репрессор транскрипции за счет N-концевого

VTB/POZ-домена, привлекая корепрессорные комплексы NcoR, SMRT, и как активатор транскрипции [83–85]. Одна из мишеней Kaiso – импринтированный локус H19/Igf2. Kaiso связывается с метилированным аллелем этого локуса, причем удаление Kaiso приводит к снижению метилирования ICR1 в этом локусе [86, 87]. Возможно, снижение метилирования при удалении Kaiso основано на конкуренции с CTCF, который может связываться с метилированными последовательностями и приводить к их деметилированию. При нокауте гена Kaiso наблюдается снижение метилирования в промоторе гена *Oct4* в эмбриональных фибробластах мыши и в промоторе гена *TRIM25* в эмбриональных клетках почки человека, в телах генов, энхансерах и участках, не содержащих гистоновые модификации [83, 88, 89]. Показано, что деметилирование промотора гена *TRIM25*, вызванное удалением Kaiso, обратимо, оно восстанавливается при экспрессии экзогенного Kaiso, способного входить в комплекс с DNMT3a/3b [83, 89]. Отметим, что в клетках рака почки человека удаление Kaiso также приводит к небольшому увеличению уровня метилирования всего генома. Подобное равномерное распределение может быть связано со снижением транскрипции гена диоксигеназы TET1, то есть Kaiso может влиять на изменение уровня метилирования ДНК в обоих направлениях. Таким образом, Kaiso не только поддерживает нужный уровень метилирования, но и участвует в установлении метилирования различных локусов, взаимодействуя с ДНК-метилтрансферазами 3a и 3b [89].

Роль Kaiso в регуляции метилирования ДНК может быть связана также с его способностью взаимодействовать с убиквитин-подобными белками SUMO1,2,3. Белки SUMO ковалентно связываются с остатками лизина в белках-мишенях, как и убиквитин. При этом сумоилирование обычно не приводит к деградации белков, что наблюдается при убиквитинировании, а влияет на клеточную локализацию, на активность и взаимодействие с другими факторами. Сумоилирование Kaiso влияет на его транскрипционные свойства [83]. Наличие в аминокислотной последовательности Kaiso шести участков, взаимодействующих с SUMO (SIM-SUMO interacting motifs), и нековалентное взаимодействие Kaiso с SUMO1 позволяет предположить, что Kaiso может выступать в роли E3-лигазы SUMO. Участки SIM представляют собой последовательность из нескольких гидрофобных аминокислотных остатков, окруженных остатками серина или кислых аминокислот. Так называемые неканонические SUMO E3-лигазы содержат SIM и нековалентно взаимодействуют с SUMO [90]. Сумоилирование многих

белков происходит в так называемых PML и/или PcG-тельцах [90, 91]. Kaiso локализуется в PcG-тельцах при экспрессии экзогенного SUMO [92]. Это позволяет предположить, что Kaiso не только участвует в регуляции транскрипции и поддержании уровня метилирования ДНК, но и может участвовать в регуляции активности других факторов, влияя на их посттрансляционные модификации. Например, сумоилирование ДНК-метилтрансфераз увеличивает их каталитическую активность, способствуя повышению уровня метилирования ДНК [93]. С другой стороны, сумоилирование белка системы эксцизионной репарации XRC11 необходимо для эффективного удаления 5-формил- и 5-карбокситозинон при дифференцировке стволовых клеток, а значит, для эффективного деметилирования ДНК [94]. Поэтому изучение Kaiso с точки зрения E3-лигазы SUMO, поиск его потенциальных мишеней позволят выявить новые пути регуляции активности различных факторов, в том числе белков, влияющих на уровень метилирования ДНК.

Znf57

В отличие от Kaiso, Znf57 содержит на N-конце домен KRAB (Krueppel-associated box). Связываясь с метилированными последовательностями, Znf57, используя KRAB-домен, привлекает корепрессор TRIM28 (KAP1), который формирует комплекс с H3K9 гистонметилтрансферазой SETDB1 и ДНК-метилтрансферазами – как поддерживающей DNMT1, так и с *de novo* DNMT3a/3b [95]. Такой репрессорный комплекс формируется в области транспозонов, импринтированных локусов, на неактивных энхансерах [96, 97]. Удаление Znf57 приводит к деметилированию импринтированных локусов и к эмбриональной гибели [96]. Отметим, что Znf57 отвечает за поддержание уровня метилирования, но не за его установление.

UHRF1

UHRF1 играет ключевую роль в поддержании метилирования ДНК при репликации. Этим объясняется профиль его экспрессии: UHRF1 детектируется только в активно делящихся клетках (например, в клетках костного мозга), в которых необходимо устанавливать метилирование ДНК на дочерней цепи при репликации, и не детектируется в терминально дифференцированных клетках (нейроны, гепатоциты). UHRF1 связывается с метилированной и полуметилированной ДНК с помощью домена SRA (SET and RING-associated domain). В состав UHRF1 также входят несколько доменов, участвующих в белок-белковых взаимодействиях: UBL (ubiquitin-like domain), TTD (tandem tudor domain), PHD (plant

homeodomain), RING (really interesting new gene domain). Эти домены обеспечивают взаимодействие с поддерживающей ДНК-метилтрансферазой DNMT1, с PCNA, гистондеацетилазой HDAC1, гистонметилтрансферазами G9a и SUV39H1, с PARP1 и др. [98]. Связываясь с полуметилированной ДНК в ходе репликации, UHRF1 убиквитинирует H3K18 и H3K23, привлекает метилтрансферазу DNMT1 для установления профиля метилирования на дочерней цепи ДНК. Активность DNMT1 регулируется взаимодействием с H3K18ub и H3K23ub [99]. При патогенетических опухолевых состояниях UHRF1 может также влиять на установление метилирования промоторов ряда генов [100]. Удаление UHRF1 приводит к геномной нестабильности, остановке клеточного цикла в фазе G2/M, апоптозу. Также наблюдается отсутствие репарации двухцепочечных разрывов в клетке [101]. Таким образом, UHRF1 влияет на установление и поддержание метилирования ДНК.

MBD-белки

Среди белков, не только узнающих метилированную ДНК, но и способных влиять на метилирование участков связывания, найдены метил-ДНК-связывающие белки, содержащие MBD (methyl DNA binding domain). Большинство белков MBD вовлечены в формирование и функционирование нервной системы. Среди факторов, принадлежащих к этому семейству, только четыре (MBD1, MBD2, MBD4 и MeCP2) могут связываться с метилированной ДНК. Наибольшее сродство эти MBD-белки проявляют к метилированным CpG-островкам [102]. В большинстве случаев эти белки выступают в качестве интерпретаторов метилирования: привлекают корепрессоры либо конкурируют за связывание с ДНК с активаторами транскрипции. Однако в последнее время появляются работы, показывающие, что данные факторы могут влиять на установление и поддержание статуса метилирования ДНК. Показано, что нокаут MeCP2 приводит к появлению как гипо-, так и гиперметилированных участков в различных типах нейронов мыши [103]. Механизм влияния MBD белков на уровень метилирования не изучен. MBD1 регулирует метилирование промоторов генов рецептора серотонина Htr2c и фактора роста bFGF [104, 105]. Нокаут MBD1 приводит к реактивации Htr2c, что рассматривается как одна из причин отклонений в нейрогенезе в гиппокампе, нарушений при обучении и появления аутистических симптомов, связанных с изменением социального поведения, дефицитом внимания, нарушениями в активации серотонина в нокаутных животных [104]. Реактивация фактора роста bFGF при нокауте

MBD1 влияет на способность поддерживать плюрипотентное состояние стволовых клеток, регуляция которого важна для последующей дифференцировки в клетки нервной системы [105].

Таким образом, есть факторы, такие, как UHRF1, которые влияют на поддержание метилирования во всем геноме, и есть факторы (белки MBD, Kaiso, GCNF), регулирующие метилирование определенного спектра мишеней. Последние представляют особый интерес: поиск их участков связывания, метилирование которых изменяется при инактивации или мутациях данных факторов, позволит, варьируя их активность, влиять на уровень метилирования их мишеней. Интересно, что целевое изменение метилирования ДНК может также регулироваться модулированием активности ДНК-метилтрансфераз с помощью посттрансляционных модификаций: Kaiso является потенциальной E3-лигазой SUMO.

3. РЕДАКТИРОВАНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Одним из способов изменения транскрипционной активности отдельных участков является изменение их метилирования с помощью современных методов редактирования ДНК. Таким образом можно менять активность промоторов, энхансеров. Для этого используют мутантную эндонуклеазу dCas9, не способную вносить разрывы в ДНК. Для гиперметилирования ДНК dCas9 соединяют с каталитическим доменом DNMT3, обладающим метилтрансферазной активностью, которую направляют на выбранный участок [106]. Вместо dCas9 применяют также TALEN и домен цинковых пальцев, но наиболее доступной остается система редактирования на основе dCas9. Основными проблемами при таком редактировании являются: 1) недостаточно высокий уровень метилирования, 2) деметилирование ДНК после определенного числа делений клетки. Для решения этих проблем к каталитическому домену DNMT3 добавляют DNMT3L, выступающий в роли кофактора, усиливающего метилирование ДНК. Поддержание высокого уровня метилирования при продолжительном делении клеток достигается также введением в клетки химерной конструкции dCas9-Ezh2 или dCas9-KRAB. Ezh2 триметирует H3K27, KRAB-домен фактора Znf57 служит основой для сборки репрессорного комплекса, модифицирующего гистоны и метилирующего ДНК [107]. Необходимо также определить, какой из факторов, Ezh2 или KRAB, будет более эффективно подавлять транскрипционную активность целевого участка [107].

Для деметилирования ДНК dCas9 соединяют с каталитическим доменом белков ТЕТ [108]. Введение каталитического домена ТЕТ приводит не только к деметилированию, но и к образованию

5-гидроксиметилцитозина, который вносит свой вклад в привлечение ТФ [109]. Для более надежного деметилирования ДНК (без появления промежуточных форм цитозина) можно использовать dCas9 с каталитическим доменом ROS1 ДНК-гликозилазы *Arabidopsis* [110].

Главное преимущество редактирования метилирования ДНК по сравнению с редактированием ДНК состоит в том, что вносимые изменения не затрагивают нуклеотидную последовательность, изменяют лишь модификацию ДНК, которая является обратимой и позволяет редактировать практически любую последовательность в геноме.

4. МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

За последние годы была обнаружена взаимосвязь между механизмом регуляции метилирования ДНК и различными патогенетическими состояниями, особенно с онкотрансформацией клеток, развитием ревматоидного артрита и различных неврологических заболеваний [11, 111]. Можно выделить две категории клинической значимости изменений уровня метилирования ДНК. Первая включает случаи, когда метилирование ДНК может выступать в роли маркера развития патогенетических состояний. Вторая категория включает случаи, когда, изменяя уровень метилирования ДНК и активность метил-ДНК-связывающих белков, мы влияем на прогрессирование и течение болезни.

4.1. Метилирование ДНК как диагностический и прогностический маркер развития заболеваний

В качестве маркеров развития заболеваний выбирают участки ДНК, изменения в уровне метилирования которых детектируются как в поврежденном органе или ткани, так и в геномной ДНК крови, в ДНК из различных биологических жидкостей и в свободно циркулирующей ДНК. Подобранные маркеры, позволяющие с высокой вероятностью детектировать онкологическое заболевание на ранних стадиях, оценивать эффект терапии и выявлять рецидивы, а в некоторых случаях определять даже тип опухоли [112–114].

4.2. Метилирование ДНК как мишень для лечения различных патогенетических состояний

При онкотрансформации клеток часто детектируется гиперметилирование CpG-островков, расположенных в промоторах генов-супрессоров, что приводит к их инактивации. Активировать гены опухолевых супрессоров можно, хотя и не всегда, деметилируя их промоторы. Так, при лечении

острого миелоидного лейкоза и миелодисплазии применяют децитабин, действующим веществом в котором является 5-азацитидин, который снижает уровень метилирования ДНК. Однако этот препарат действует не на определенный ген, а на весь геном, приводя к его нестабильности, повреждению ДНК, что может иметь серьезные последствия для пациента [115]. Снизить уровень метилирования промоторов генов-супрессоров опухолевого роста можно путем инактивации каталитической активности, поддерживающей ДНК-метилтрансферазы. Ингибиторы ДНК-метилтрансферазы DNMT1 RG108 и SG102 менее токсичны, чем 5-азацитидин, они не изменяют уровень метилирования сателлитных повторов, но влияют на деметилирование промоторов, в том числе некоторых промоторов генов-супрессоров [116, 117]. Основным ограничением применения таких ингибиторов является небольшое количество их мишеней – регуляторных элементов генов-супрессоров. Подавить каталитическую активность DNMT1 можно также с использованием олигонуклеотидов, формирующих квадруплексную структуру [53]. Предпринимаются попытки влиять на метилирование ДНК с помощью системы редактирования. Основная трудность этого подхода заключается в доставке dCas9 или его аналогов в нужные органы и ткани [118]. Одной из самых доступных мишеней являются клетки печени гепатоциты, в которые редактирующая система может быть доставлена инъекцией (например, в хвостовую вену мышей). Описаны попытки снижения уровня метилирования промотора гена *Fgf21* в печени мыши. *Fgf21* кодирует фактор, участвующий в метаболизме глюкозы и холестерина. Введение dCas9 с каталитическим доменом TET1 приводило к кратковременному снижению уровня метилирования промотора на шестой день после инъекции, а уже на 14-й день уровень метилирования восстанавливался [119]. Таким образом, пока не удастся добиться стабильного редактирования метилирования ДНК в живом организме.

4.3. Метил-ДНК-связывающие белки как новые терапевтические мишени

При выборе мишеней для терапии следует учитывать, насколько инактивация данного фактора критична для функционирования организма. Нокаут или мутации в метил-ДНК-связывающих белках MBD1, MBD2, MeCP2, Kaiso приводят, в первую очередь, к поведенческим отклонениям, не нарушающим жизненно важные процессы, которые могут быть восстановлены при возобновлении их экспрессии как в случае с MeCP2 [120, 121]. При этом при их инактивации общий уровень метилирования

меняется незначительно, не приводя к геномной нестабильности, реактивации повторяющихся элементов. Поэтому белки семейства MBD, Kaiso и его гомолог ZBTB4 имеют преимущество с точки зрения потенциальных мишеней. Поиск генов-мишеней данных факторов, ассоциированных с патогенетическими состояниями, является перспективным направлением.

Так, изучение участков связывания метил-ДНК-связывающих белков позволило выявить ген гамма-глобина как метил-зависимую мишень. В ходе развития человека происходит постепенное переключение форм гемоглобина: в эмбриональный период транскрибируется ген эILON-глобина, при рождении – гамма-глобина и во взрослом состоянии бета-глобина. У пациентов с серповидно-клеточной анемией и бета-талассемией нарушена экспрессия или мутирован ген бета-глобина, что приводит к тяжелым последствиям. Реактивация нормальной формы гамма-глобина позволила бы восстановить нормальный уровень гемоглобина в крови. Метил-ДНК-связывающий белок MBD2 регулирует привлечение корепрессорного комплекса NuRD к промотору гена гамма-глобина в клетках крови и поддерживает его в неактивном состоянии у взрослых [122]. Удаление MBD2 приводит к увеличению уровня экспрессии гена гамма-глобина в 20 раз [123]. Нарушая связывание MBD2 с корепрессорным комплексом NuRD и его компонентами с помощью ингибиторов, можно активировать транскрипцию гена гамма-глобина (рис. 5). На различных моделях показано, что инактивация только MBD2 не влияет на работу всего организма. У мышей с нокаутом гена *MBD2* наблюдается нарушение материнского поведения при уходе за потомством и вскармливании [120, 124]. При этом удаление MBD2 не вызывает каких-либо более выраженных неврологических отклонений. Поэтому можно ожидать, что ингибирование MBD2 не приведет к серьезным побочным эффектам у человека. Таким образом, метил-ДНК-связывающую репрессорную активность MBD2 можно использовать для восстановления уровня гемоглобина у пациентов с серповидно-клеточной анемией и бета-талассемией. Однако не всегда необходимо отключать активность метил-ДНК-связывающих белков, как в случае, описанном выше. Так, мутации или инактивация гена метил-ДНК-связывающего белка MeCP2 приводят к развитию синдрома Ретта. Нокаут MeCP2 у мышей, как и мутации в этом гене у человека, вызывают неврологические изменения. Причем изменения, которые возникают в нервных клетках при мутации или удалении MeCP2, обратимы [125]. В число мутаций в MeCP2, идентифи-

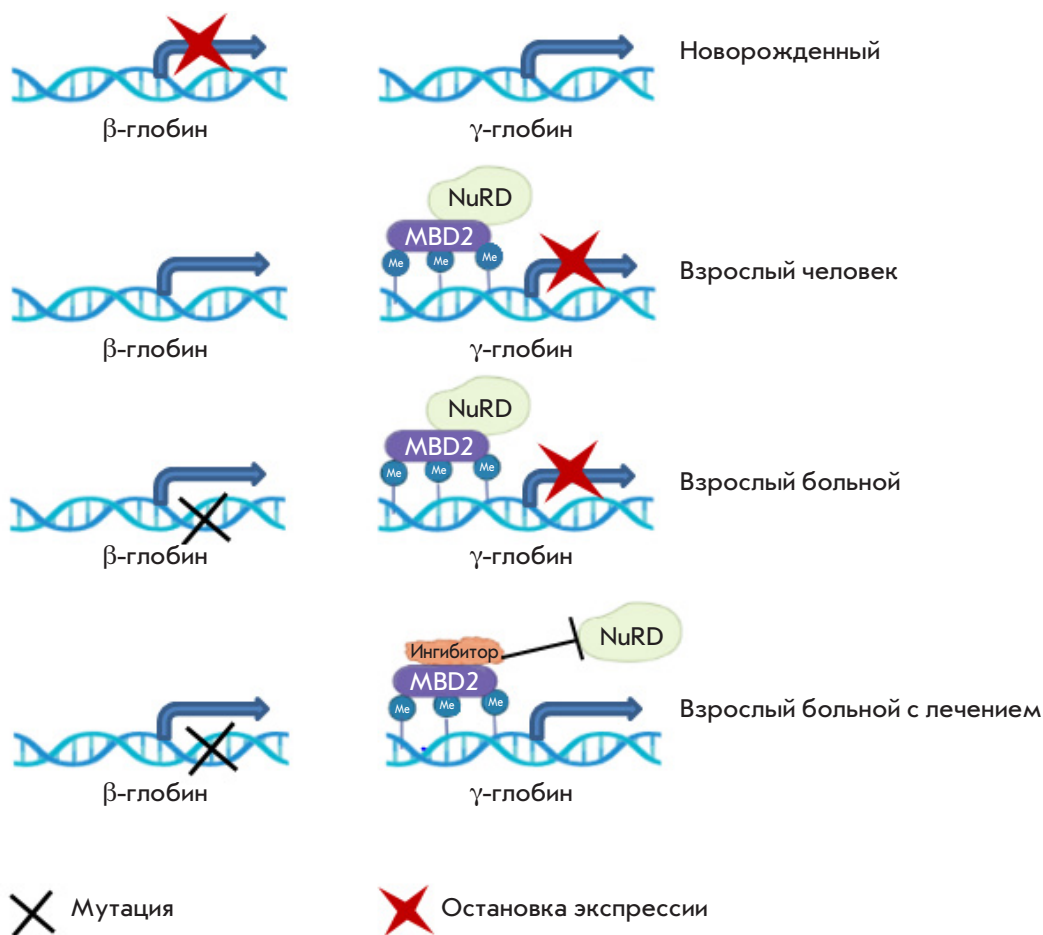


Рис. 5. Модель функционального значения взаимодействия белка MBD2 и репрессивного комплекса NuRD в регуляции гена гамма-глобина при бета-талассемии [122, 123]

цированных у пациентов с синдромом Ретта, входят и точечные мутации, которые приводят к деградации белка MeCP2, но не влияют на структуру его ДНК-связывающего и репрессорного доменов [126]. Такой белок, если его стабилизировать, будет способен выполнять свои функции [127]. Поиск малых молекул, связывающихся с местами убиквитинирования MeCP2, позволит предотвратить его убиквитинирование, последующую деградацию, восстановит функциональную активность белка.

Таким образом, поиск и характеристика участков связывания метил-ДНК-связывающих белков необходимы для выявления потенциальных мишеней, активность которых регулируется метилированием ДНК, формированием репрессорных комплексов. Дальнейший анализ различных патогенетических состояний, ассоциированных с генами-мишенями метил-ДНК-связывающих белков, позволяет рассматривать метил-ДНК-связывающие белки в качестве терапевтических мишеней. Исследование мутаций в метил-ДНК-связывающих белках позволяет понять, в каких случаях можно скомпенсировать

функциональные изменения, вызванные мутацией, а когда это невозможно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метилирование ДНК – регуляторный элемент, важный для экспрессии генов, стабилизации генома, инактивации повторяющихся последовательностей, установления импринтинга и X-инактивации. Методы современного полногеномного секвенирования позволили определить профиль метилирования ДНК во всем геноме, включая различные повторяющиеся последовательности. Это открыло новые возможности по определению и характеристике регуляторных элементов, работа которых может нарушаться при тех или иных патогенетических состояниях. На данный момент найдено большое число ТФ, которые участвуют в установлении, поддержании, деметилировании или интерпретации метилированной ДНК. Метилирование может как способствовать привлечению ТФ, так и наоборот препятствовать ему, то есть уровень метилирования ДНК влияет на выбор белковых факторов, которые

будут взаимодействовать с ДНК, переключая привлечение активаторов и репрессоров транскрипции к ДНК. Обнаружение новых факторов, зависящих от метилирования ДНК, изучение репрессорных или активирующих комплексов, в которые они входят, позволяют рассматривать эти факторы как новые терапевтические мишени, влияя на которые мы можем достигать более узконаправленного эффекта, чем ингибируя метилирование ДНК во всем геноме. Таким образом, исследование новых метил-ДНК-чувствительных белков позволит искать новые подходы, терапевтические мишени для лечения

различных патогенетических состояний, связанных с изменением регуляции или установления метилирования ДНК. ●

*Работа выполнена при поддержке
Российского фонда фундаментальных
исследований (грант № 19-29-04139) (главы 3–4),
Российского научного фонда
(грант №19-74-30026) (главы 1–2).*

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lister R., Mukamel E.A., Nery J.R., Urich M., Puddifoot C.A., Johnson N.D., Lucero J., Huang Y., Dwork A.J., Schultz M.D., et al. // *Science*. 2013. V. 341. № 6146. 1237905.
- Gershman A., Sauria M.E.G., Guitart X., Vollger M.R., Hook P.W., Hoyt S.J., Jaun M., Shumate A., Razaghi R., Koren S., et al. // *Science*. 2022. V. 376. № 6588. eabj5089.
- Yagi M., Kabata M., Tanaka A., Ukai T., Ohta S., Nakabayashi K., Shimizu M., Hata K., Meissner A., Yamamoto T., et al. // *Nat. Commun.* 2020. V. 11. № 1. P. 3199.
- Kato Y., Kaneda M., Hata K., Kumaki K., Hisano M., Kohara Y., Okano M., Li E., Nozaki M., Sasaki H. // *Hum. Mol. Genet.* 2007. V. 16. № 19. P. 2272–2280.
- Dodd T., Yan C., Kossman B.R., Martin K., Ivanov I. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018. V. 115. № 23. P. 5974–5979.
- Shi D.-Q., Ali I., Tang J., Yang W.-C. // *Front. Genet.* 2017. V. 8. P. 100.
- Velasco G., Grillo G., Touleimat N., Ferry L., Ivkovic I., Ribierre F., Deleuze J.-F., Chantalat S., Picard C., Francastel C. // *Hum. Mol. Genet.* 2018. V. 27. № 14. P. 2409–2424.
- Sun Z., Wu Y., Ordog T., Baheti S., Nie J., Duan X., Hojo K., Kocher J.-P., Dyck P.J., Klein C.J. // *Epigenetics*. 2014. V. 9. № 8. P. 1184–1193.
- Wang X., Zhao C., Zhang C., Mei X., Song J., Sun Y., Wu Z., Shi W. // *Cell Commun. Signal.* 2019. V. 17. № 1. P. 1183–1193.
- Salameh Y., Bejaoui Y., Hajj E.N. // *Front. Genet.* 2020. V. 11. P. 171.
- Nishiyama A., Nakanishi M. // *Trends Genet.* 2021. V. 37. № 11. P. 1012–1027.
- Hwang J.-Y., Zukin R.S. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2018. V. 48. P. 193–200.
- Day J.J., Sweatt D.J. // *Nat. Neurosci.* 2010. P. 1319–1323.
- Rollins R.A., Haghighi F., Edwards J.R., Das R., Zhang M.Q., Ju J., Bestor T.H. // *Genome Res.* 2006. V. 16. № 2. P. 157–163.
- Toubiana S., Larom G., Smoom R., Duszynski R.J., Godley L.A., Francastel C., Velasco G., Selig S. // *Hum. Mol. Genet.* 2020. V. 29. № 19. P. 3197–3210.
- Toubiana S., Velasco G., Chityat A., Kaindl A.M., Hershtig N., Tzur-Gilat A., Francastel C., Selig S. // *Hum. Mol. Genet.* 2018. V. 27. № 20. P. 3568–3581.
- Rajshekar S., Yao J., Arnold P.K., Payne S.G., Zhang Y., Bowman T.V., Schmitz R.J., Edwards J.R., Goll M. // *eLife*. 2018. V. 7. e39658. doi: 10.7554/elife.39658
- Scelfo A., Fachinetti D. // *Cells*. 2019. V. 8. № 8. P. 912.
- Guethner M.G., Levine S.S., Boyer L.A., Jaenisch R., Young R.A. // *Cell*. 2007. V. 130. № 1. P. 77–88.
- Mohn F., Weber M., Rebhan M., Roloff T.C., Richter J., Stadler M.B., Bibel M., Schübeler D. // *Mol. Cell*. 2008. V. 30. № 6. P. 755–766.
- Sproul D., Nestor C., Culley J., Dickson J.H., Dixon M., Harrison D.J., Meehan R.R., Sims A.H., Ramsahoye B.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. P. 4364–4369.
- Wan J., Oliver V.F., Wang G., Zhu H., Zack D.J., Merbs S.L., Qian J. // *BMC Genomics*. 2015. V. 16. № 1. P. 49.
- Illingworth R.S., Gruenewald-Schneider U., Webb S., Kerr A.R.W., James K.D., Turner D.J., Smith C., Harrison D.J., Andrews R., Bird A.P., et al. // *PLoS Genet.* 2010. V. 6. № 9. e1001134.
- Jeziorska D.M., Murray R.J.S., De Gobbi M., Gaentzsch R., Garrick D., Ayyub H., Chen T., Li E., Telenius J., Lynch M., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017. V. 114. № 36. P. E7526–E7535.
- Wu H., Coskun V., Tao J., Xie W., Ge W., Yoshikawa K., Li E., Zhang Y., Sun Y.E. // *Science*. 2010. V. 329. № 5990. P. 444–448.
- Bell J.S.K., Vertino P.M. // *Epigenetics*. 2017. V. 12. № 6. P. 449–464.
- Pachano T., Sánchez-Gaya V., Ealo T., Mariner-Faúl M., Bleckwehl T., Asenjo H.G., Respuela P., Cruz-Molina S., Muñoz-San Martín M., Haro E., et al. // *Nat. Genet.* 2021. V. 53. № 7. P. 1036–1049.
- Zhang Y., Jurkowska R., Soeroes S., Rajavelu A., Dhayalan A., Bock I., Rathert P., Brandt O., Reinhardt R., Fischle W., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2010. V. 38. № 13. P. 4246–4253.
- Otani J., Nankumo T., Arita K., Inamoto S., Ariyoshi M., Shirakawa M. // *EMBO Rep.* 2009. V. 10. № 11. P. 1235–1241.
- Zhang Z.-M., Liu S., Lin K., Luo Y., Perry J.J., Wang Y., Song J. // *J. Mol. Biol.* 2015. V. 427. № 15. P. 2520–2531.
- Long H.K., Blackledge N.P., Klose R.J. // *Biochem. Soc. Trans.* 2013. V. 41. № 3. P. 727–740.
- Brown D.A., Di Cerbo V., Feldmann A., Ahn J., Ito S., Blackledge N.P., Nakayama M., McClellan M., Dimitrova E., Turberfield A.H., et al. // *Cell Rep.* 2017. V. 20. № 10. P. 2313–2327.
- Clouaire T., Webb S., Skene P., Illingworth R., Kerr A., Andrews R., Lee J.-H., Skalknik D., Bird A. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. № 15. P. 1714–1728.
- Costa Y., Ding J., Theunissen T.W., Faiola F., Hore T.A., Shliha P.V., Fidalgo M., Saunders A., Lawrence M., Dietmann S., et al. // *Nature*. 2013. V. 495. P. 370–374.
- Deplus R., Delatte B., Schwinn M.K., Defrance M., Méndez J., Murphy N., Dawson M.A., Volkmar M., Putmans P., Calonne E., et al. // *EMBO J.* 2013. V. 32. № 5. P. 645–655.

36. Sardina J.L., Collombet S., Tian T.V., Gómez A., Di Stefano B., Berenguer C., Brumbaugh J., Stadhouders R., Segura-Morales C., Gut M., et al. // *Cell Stem Cell*. 2018. V. 23. № 6. P. 727–741.e9.
37. Fernandez Garcia M., Moore C.D., Schulz K.N., Alberto O., Donague G., Harrison M.M., Zhu H., Zaret K.S. // *Mol. Cell*. 2019. V. 75. № 5. P. 921–932.e6.
38. Michael A.K., Grand R.S., Isbel L., Cavadini S., Kozicka Z., Kempf G., Bunker R.D., Schenk A.D., Graff-Meyer A., Pathare G.R., et al. // *Science*. 2020. V. 368. № 6498. P. 1460–1465.
39. Donovan B.T., Chen H., Jipa C., Bai L., Poirier M.G. // *Elife*. 2019. V. 8. № 7. e43008.
40. VandenBosch L.S., Wohl S.G., Wilken M.S., Hooper M., Finkbeiner C., Cox K., Chipman L., Reh T.A. // *Sci. Rep.* 2020. V. 1. P. 13615.
41. Metzakopian E., Bouhali K., Alvarez-Saavedra M., Whitsett J.A., Picketts D.J., Ang S.-L. // *Development*. 2015. V. 142. № 7. P. 1315–1324.
42. Yin Y., Morgunova E., Jolma A., Kaasinen E., Sahu B., Khund-Sayeed S., Das P.K., Kivioja T., Dave K., Zhong F., et al. // *Science*. 2017. V. 356. № 6337. aaj2239.
43. Lu F., Liu Y., Jiang L., Yamaguchi S., Zhang Y. // *Genes Dev.* 2014. V. 28. № 19. P. 2103–2119.
44. Arab K., Karaulanov E., Musheev M., Trnka P., Schäfer A., Grummt I., Niehrs C. // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. P. 217–223.
45. Marsico G., Chambers V.S., Sahakyan A.B., McCauley P., Boutell J.M., Antonio M.D., Balasubramanian S. // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. № 8. P. 3862–3874.
46. Чашина Г.В., Бениаминов А.Д., Калужный Д.Н. // *Биохимия*. 2019. Т. 84. № 5. С. 730–738.
47. Chambers V.S., Marsico G., Boutell J.M., Di Antonio M., Smith G.P., Balasubramanian S. // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 8. P. 877–881.
48. Isaakova E., Varizhuk A., Pozmogova G. // *Signif. Bioeng. Biosci.* 2018. V. 1. № 3. P. 1–7.
49. Chashchina G.V., Shchyolkina A.K., Kolosov S.V., Beniaminov A.D., Kaluzhny D.N. // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. P. 647851.
50. Wu F., Niu K., Cui Y., Li C., Lyu M., Ren Y., Chen Y., Deng H., Huang L., Zheng S., et al. // *Commun. Biol.* 2021. V. 4. № 1. P. 98.
51. Stevens A.J., de Jong L., Kennedy M.A. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 5. P. 2407.
52. Hasegawa H., Sasaki I., Tsukakoshi K., Ma Y., Nagasawa K., Numata S., Inoue Y., Kim Y., Ikebukuro K. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 23. P. 13159.
53. Mao S.-Q., Ghanbarian A.T., Spiegel J., Martínez Cuesta S., Beraldi D., Di Antonio M., Marsico G., Hänsel-Hertsch R., Tannahill D., Balasubramanian S. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2018. V. 25. P. 951–957.
54. Cree S.L., Fredericks R., Miller A., Pearce F.G., Filichev V., Fee C., Kennedy M.A. // *FEBS Lett.* 2016. V. 590. № 17. P. 2870–2883.
55. Jara-Espejo M., Line S.R. // *FEBS J.* 2020. V. 287. № 3. P. 483–495.
56. Haggerty C., Kretzmer H., Riemenschneider C., Kumar A.S., Mattei A.L., Bailly N., Gottfreund J., Giesselmann P., Weigert R., Brändl B., et al. // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2021. V. 28. № 7. P. 594–603.
57. Tian H.-P., Lun S.-M., Huang H.-J., He R., Kong P.-Z., Wang Q.-S., Li X.-Q., Feng Y.-M. // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 31. P. 19173–19183.
58. Lienert F., Wirbelauer C., Som I., Dean A., Mohn F., Schübeler D. // *Nat. Genet.* 2011. V. 43. № 11. P. 1091–1097.
59. Braccioli L., de Wit E. // *Essays Biochem.* 2019. V. 63. № 1. P. 157–165.
60. Schoenherr C.J., Levorse J.M., Tilghman S.M. // *Nat. Genet.* 2003. V. 33. № 1. P. 66–69.
61. Fedoriw A.M., Stein P., Svoboda P., Schultz R.M., Bartolomei M.S. // *Science*. 2004. V. 303. № 5655. P. 238–240.
62. Freschi A., Del Prete R., Pignata L., Cecere F., Manfredola F., Mattia M., Cobellis G., Sparago A., Bartolomei M.S., Riccio A., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2021. V. 30. № 16. P. 1509–1520.
63. Damaschke N.A., Gawdzik J., Avilla M., Yang B., Svaren J., Roopra A., Luo J.-H., Yu Y.P., Keles S., Jarrard D.F., et al. // *Clin. Epigenetics*. 2020. V. 12. № 1. P. 80.
64. Luo X., Zhang T., Zhai Y., Wang F., Zhang S., Wang G. // *Front. Genet.* 2021. V. 12. P. 639461.
65. Hashimoto H., Wang D., Horton J.R., Zhang X., Corces V.G., Cheng X. // *Mol. Cell*. 2017. V. 66. № 5. P. 711–720.
66. Stadler M.B., Murr R., Burger L., Ivanek R., Lienert F., Schöler A., van Nimwegen E., Wirbelauer C., Oakeley E.J., Gaidatzis D., et al. // *Nature*. 2011. V. 480. P. 490–495.
67. Reshef Y.A., Finucane H.K., Kelley D.R., Gusev A., Kotliar D., Ulirsch J.C., Hormozdiari F., Nasser J., O'Connor L., van de Geijn B., et al. // *Nat. Genet.* 2018. V. 50. № 10. P. 1483–1493.
68. Kurukuti S., Tiwari V.K., Tavoosidana G., Pugacheva E., Murrell A., Zhao Z., Lobanenko V., Reik W., Ohlsson R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. № 28. P. 10684–10689.
69. Schmitz K.-M., Mayer C., Postepska A., Grummt I. // *Genes Dev.* 2010. V. 24. № 20. P. 2264–2269.
70. Baubec T., Colombo D.F., Wirbelauer C., Schmidt J., Burger L., Krebs A.R., Akalin A., Schubeler D. // *Nature*. 2015. V. 520. P. 243–247.
71. Weinberg D.N., Papillon-Cavanagh S., Chen H., Yue Y., Chen X., Rajagopalan K.N., Horth C., McGuire J.T., Xu X., Nikbakht H. // *Nature*. 2019. V. 573. P. 281–286.
72. Li Y., Chen X., Lu C. // *EMBO Rep.* 2021. V. 22. № 5. e51803.
73. Hervouet E., Vallette F.M., Cartron P.-F. // *Epigenetics*. 2009. V. 4. № 7. P. 487–499.
74. Sato N., Kondo M., Arai K.-I. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 344. № 3. P. 845–851.
75. Gu P., Le Menuet D., Chung A.C.-K., Cooney A.J. // *Mol. Cell. Biol.* 2006. V. 26. № 24. P. 9471–9483.
76. Tullius T., Parker S. // *Faculty Opinions – Post-Publication Peer Review of the Biomedical Literature*. 2013. V. 152. № 1–2.
77. Hudson N.O., Buck-Koehntop B.A. // *Molecules*. 2018. V. 23. № 10. P. 2555.
78. Prokhortchouk A., Hendrich B., Jørgensen H., Ruzov A., Wilm M., Georgiev G., Bird A., Prokhortchouk E. // *Genes Dev.* 2001. V. 15. № 13. P. 1613–1618.
79. Filion G.J.P., Zhenilo S., Salozhin S., Yamada D., Prokhortchouk E., Defossez P.-A. // *Mol. Cell Biol.* 2006. V. 26. № 1. P. 169–181.
80. Daniel J.M., Spring C.M., Crawford H.C., Reynolds A.B., Baig A. // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 13. P. 2911–2919.
81. Nikolova E.N., Stanfield R.L., Dyson H.J., Wright P.E. // *Biochemistry*. 2018. V. 57. № 14. P. 2109–2120.
82. Liu Y., Toh H., Sasaki H., Zhang X., Cheng X. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. № 21. P. 2374–2379.
83. Zhenilo S., Deyev I., Litvinova E., Zhigalova N., Kaplun D., Sokolov A., Mazur A., Prokhortchouk E. // *Cell Death Differ.* 2018. V. 25. № 11. P. 1938–1951.
84. Yoon H.-G., Chan D.W., Reynolds A.B., Qin J., Wong J. // *Mol. Cell*. 2003. V. 12. № 3. P. 723–734.

85. Raghav S.K., Waszak S.M., Krier I., Gubelmann C., Isakova A., Mikkelsen T.S., Deplancke B. // *Mol. Cell.* 2012. V. 46. № 3. P. 335–350.
86. Bohne F., Langer D., Martiné U., Eider C.S., Cencic R., Begemann M., Elbracht M., Bülow L., Eggermann T., Zechner U., et al. // *Clin. Epigenet.* 2016. V. 8. P. 47.
87. Prokhortchouk A., Sansom O., Selfridge J., Caballero I.M., Salozhin S., Aithozhina D., Cerchietti L., Guo Meng F., Augenlicht L.H., Mariadason J.M., et al. // *Mol. Cell. Biol.* 2006. V. 26. № 1. P. 199–208.
88. Каплун Д.С., Фок Р.Э., Коростина В.С., Прохорчук Е.Б., Женило С.В. // *Биохимия.* 2019. Т. 84. № 3. С. 404–412.
89. Kaplun D., Starshin A., Sharko F., Gainova K., Filonova G., Zhigalova N., Mazur A., Prokhortchouk E., Zhenilo S., et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 14. P. 7587.
90. Shi X., Du Y., Li S., Wu H. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 7. P. 3639.
91. Kagey M.H., Melhuish T.A., Wotton D. // *Cell.* 2003. V. 113. № 1. P. 127–137.
92. Zhenilo S., Kaplun D., Prokhortchouk E. // *FEBS Open Bio.* 2018. V. 8 (S1). P. 134.
93. Lee B., Muller M.T. // *Biochem. J.* 2009. V. 421. № 3. P. 449–461.
94. Steinacher R., Barekati Z., Botev P., Kuśnierczyk A., Slupphaug G., Schär P. // *EMBO J.* 2019. V. 38. № 1. e99242.
95. Quenneville S., Verde G., Corsinotti A., Kapopoulou A., Jakobsson J., Offner S., Baglivo I., Pedone P.V., Grimaldi G., Riccio A., et al. // *Mol. Cell.* 2011. V. 44. № 3. P. 361–372.
96. Riso V., Cammisa M., Kukreja H., Anvar Z., Verde G., Sparago A., Acuzio B., Lad S., Lonardo E., Sankar A., et al. // *Nucl. Acids Res.* 2016. V. 44. № 17. P. 8165–8178.
97. Shi H., Strogantsev R., Takahashi N., Kazachenka A., Lorincz M.C., Hemberger M., Ferguson-Smith A.C. // *Epigenetics Chromatin.* 2019. V. 12. № 1. P. 49.
98. Mancini M., Magnani E., Macchi F., Bonapace I.M. // *Nucl. Acids Res.* 2021. V. 49. № 11. P. 6053–6068.
99. Qin W., Wolf P., Liu N., Link S., Smets M., La Mastra F., Forné I., Pichler G., Hörl D., Fellinger K., et al. // *Cell Res.* 2015. V. 25. № 8. P. 911–929.
100. Beck A., Trippel F., Wagner A., Joppien S., Felle M., Vokuhl C., Schwarzmayer T., Strom T.M., von Schweinitz D., Längst G., et al. // *Clin. Epigenetics.* 2018. V. 10. P. 27.
101. Tian Y., Paramasivam M., Ghosal G., Chen D., Shen X., Huang Y., Akhter S., Legerski R., Chen J., Seidman M.M., et al. // *Cell Rep.* 2015. V. 10. № 12. P. 1957–1966.
102. Baubec T., Ivánek R., Lienert F., Schübeler D. // *Cell.* 2013. V. 153. P. 480–492.
103. Jin Y., Su K., Kong H.E., Ma W., Wang Z., Li Y., Li R., Allen E.G., Wu H., Jin P. // *Hum. Mol. Genet.* 2022. ddac189.
104. Allan A.M., Liang X., Luo Y., Pak C., Li X., Szulwach K.E., Chen D., Jin P., Zhao X. // *Hum. Mol. Genet.* 2008. V. 17. № 13. P. 2047–2057.
105. Li X., Barkho B.Z., Luo Y., Smrt R.D., Santistevan N.J., Liu C., Kuwabara T., Gage F.H., Zhao X. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 41. P. 27644–27652.
106. Katayama S., Andou M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021. V. 581. P. 20–24.
107. O'Geen H., Bates S.L., Carter S.S., Nisson K.A., Halmaj J., Fink K.D., Rhie S.K., Farnham P.J., Segal D.J. // *Epigenetics Chromatin.* 2019. V. 12. P. 26.
108. Choudhury S.R., Cui Y., Lubecka K., Stefanska B., Irudayaraj J. // *Oncotarget.* 2016. V. 7. № 29. P. 46545–46556.
109. Kang J.G., Park J.S., Ko J.-H., Kim Y.-S. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 11960.
110. Devesa-Guerra I., Morales-Ruiz T., Pérez-Roldán J., Parrilla-Doblas J.T., Dorado-León M., García-Ortiz M.V., et al. // *J. Mol. Biol.* 2020. V. 432. № 7. P. 2204–2216.
111. Ciechomska M., Roszkowski L., Maslinski W. // *Cells.* 2019. V. 8. № 9. P. 953.
112. Jung G., Hernández-Illán E., Moreira L., Balaguer F., Goel A. // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2020. V. 17. № 2. P. 111–130.
113. Müller D., Györfy B. // *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* 2022. V. 1877. № 3. 188722.
114. Taryma-Leśniak O., Sokolowska K.E., Wojdacz T.K. // *Clin. Epigenetics.* 2020. V. 12. № 1. P. 107.
115. Brocks D., Schmidt C.R., Daskalakis M., Jang H.S., Shah N.M., Li D., Li J., Zhang B., Hou Y., Laudato S., et al. // *Nat. Genet.* 2017. V. 49. № 7. P. 1052–1060.
116. Graça I., Sousa E.J., Baptista T., Almeida M., Ramalho-Carvalho J., Palmeira C., Henrique R., Jerónimo C. // *Curr. Pharm. Des.* 2014. V. 20. № 11. P. 1803–1811.
117. Segura-Pacheco B., Perez-Cardenas E., Taja-Chayeb L., Chavez-Blanco A., Revilla-Vazquez A., Benitez-Bribiesca L., Duenas-González A. // *J. Transl. Med.* 2006. V. 4. P. 32.
118. Ansari I., Chaturvedi A., Chitkara D., Singh S. // *Semin. Cancer Biol.* 2022. V. 83. P. 570–583.
119. Hanzawa N., Hashimoto K., Yuan X., Kawahori K., Tsujimoto K., Hamaguchi M., Tanaka T., Nagaoka Y., Nishina H., Morita S., et al. // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 5181.
120. Wood K.H., Johnson B.S., Welsh S.A., Lee J.Y., Cui Y., Krizman E., Brodtkin E.S., Blendy J.A., Robinson M.B., Bartolomei M.S., et al. // *Epigenomics.* 2016. V. 8. № 4. P. 455–473.
121. Kulikov A.V., Korostina V.S., Kulikova E.A., Fursenko D.V., Akulov A.E., Moshkin M.P., Prokhortchouk E.B. // *Behav. Brain Res.* 2016. V. 297. P. 76–83.
122. Gnanapragasam M.N., Scarsdale J.N., Amaya M.L., Webb H.D., Desai M.A., Walavalkar N.M., Wang S.Z., Zhu S.Z., Ginder G.D., Williams Jr., D.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. № 18. P. 7487–7492.
123. Yu X., Azzo A., Bilinovich S.M., Li X., Dozmorov M., Kurita R., Nakamura Y., Williams Jr., D.C., Ginder G.D. // *Haematologica.* 2019. V. 104. № 12. P. 2361–2371.
124. Hendrich B., Guy J., Ramsahoye B., Wilson V.A., Bird A. // *Genes Dev.* 2001. V. 15. № 6. P. 710–723.
125. Robinson L., Guy J., McKay L., Brockett E., Spike R.C., Selfridge J., De Sousa D., Merusi C., Riedel G., Bird A., et al. // *Brain.* 2012. V. 135. P. 9. P. 2699–2710.
126. Scarsdale J.N., Webb H.D., Ginder G.D., Williams D.C., Jr. // *Nucl. Acids Res.* 2011. V. 39. № 15. P. 6741–6752.
127. Ghosh R.P., Horowitz-Scherer R.A., Nikitina T., Gierasch L.M., Woodcock C.L. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 29. P. 20523–20534.