

УДК 599:576.316.74:576.315.42

# Эволюционный путь процесса инактивации X-хромосомы у млекопитающих

А. И. Шевченко<sup>1,2,3</sup>, И. С. Захарова<sup>1,2,3</sup>, С. М. Закиан<sup>1,2,3\*</sup><sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10<sup>2</sup>Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития РФ, 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

\*E-mail: zakian@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 02.11.2012

**РЕФЕРАТ** Инактивация X-хромосомы – сложный эпигенетический процесс, который существует у сумчатых и плацентарных млекопитающих. Предполагают, что возникновение этого процесса связано с дифференцировкой половых хромосом и необходимостью компенсации дозы генов X-хромосомы у самцов и самок. В обзоре рассмотрены особенности процесса инактивации X-хромосомы у сумчатых и плацентарных, а также обсуждаются гипотезы о его происхождении и эволюции.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** млекопитающие, инактивация X-хромосомы, *Xist*.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ХИС – центр инактивации X-хромосомы; PAR – псевдоаутосомный район X-хромосомы млекопитающих.

## ВВЕДЕНИЕ

Класс Mammalia (млекопитающие) разделяется на два подкласса: Prototheria (первозвери, яйцекладущие, или однопроходные) и Theria (звери). В подклассе Theria, в свою очередь, выделяют инфраклассы Metatheria (сумчатые) и Eutheria (плацентарные). Дивергенция однопроходных и сумчатых произошла 166.2 млн лет назад, дивергенция сумчатых и плацентарных – 147.7 млн лет назад [1].

Онтогенез самок сумчатых и плацентарных млекопитающих сопровождается уникальным эпигенетическим феноменом – гетерохроматизацией одной из двух X-хромосом и инактивацией ее транскрипции, которые поддерживаются в поколениях клеток [2, 3]. Предполагают, что этот механизм произошел из-за необходимости компенсировать дозы генов гетероморфных половых хромосом у особей разного пола. У представителей Theria пол детерминруется парой гетероморфных половых хромосом – X и Y. Мужской пол определяется сочетанием половых хромосом XY, а женский – XX. Поскольку Y-хромосома содержит лишь несколько десятков генов, а X-хромосома – около тысячи генов, большинство генов X-хромосомы представлены одной копией у самцов (XY) и двумя копиями у самок (XX). Инактивация одной X-хромосомы у самок приводит

к тому, что у особей обоих полов транскрипционно активна только одна копия генов X-хромосомы, и соответственно в клетках синтезируется приблизительно равное количество продуктов X-сцепленных генов. Инактивация X-хромосомы осуществляется за счет специфических ядерных РНК и репрессирующих транскрипцию модификаций хроматина, которые отличаются у сумчатых и плацентарных млекопитающих [3, 4]. В данном обзоре рассмотрена эволюция процесса инактивации X-хромосомы.

## ФЕНОМЕНОЛОГИЯ ПРОЦЕССА ИНАКТИВАЦИИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

### Однопроходные используют для дозовой компенсации процесс, отличающийся от инактивации X-хромосомы

Нынеживущих представителей самого древнего среди млекопитающих подкласса первозвери (Prototheria) – один вид утконосов и четыре вида ехидн – объединяют в отряд однопроходные (Monotremata). В отличие от остальных млекопитающих, однопроходные имеют сложную систему определения пола. Самцы утконоса *Ornithorhynchus anatinus* имеют пять X- и пять Y-хромосом, у самцов ехидны *Tachyglossus aculeatus* обнаружено пять X- и четыре Y-хромосомы

**Таблица 1.** Соотношение уровня экспрессии генов X-хромосом в клетках у самок и самцов утконоса, а также частота их моноаллельной экспрессии [10]

Хромосома	Ген	Соотношение уровня экспрессии у самок и самцов	Доля ядер с моноаллельной экспрессией
Полная компенсация			
X <sub>1</sub>	<i>Ox_plat_124086</i>	1.10	46
X <sub>5</sub>	<i>ZNF474</i>	1.01	53
X <sub>5</sub>	<i>LOX</i>	1.06	53
X <sub>3</sub>	<i>APC</i>	1.17	48
X <sub>5</sub>	<i>SHB</i>	1.23	53
Частичная компенсация			
X <sub>5</sub>	<i>FBXO10</i>	1.37	50
X <sub>5</sub>	<i>EN14997</i>	1.40	61
Компенсация отсутствует			
X <sub>5</sub>	<i>SEMA6A</i>	1.82	74
X <sub>5</sub>	<i>DMRT2</i>	2.04	47
X <sub>5</sub>	<i>SLC1A1</i>	2.78	45

[5–7]. Гены, свойственные X-хромосомам сумчатых и плацентарных млекопитающих, у однопроходных располагаются на аутосомах [7–9]. Однако на X-хромосомах однопроходных обнаружены гены, характерные для половой хромосомы Z птиц, включая ген *Dmrt1*, который у птиц, предположительно, играет основную роль в определении пола. Наиболее протяженный участок, гомологичный Z-хромосоме курицы, обнаружен у утконоса на хромосоме X<sub>5</sub>, менее протяженные области гомологии располагаются на хромосомах X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> и X<sub>3</sub> (рис. 1).

На всех X- и Y-хромосомах однопроходных имеются гомологичные псевдоаутосомные районы, благодаря которым X- и Y-хромосомы конъюгируют друг с другом в мейозе [5–7]. Однако протяженные районы хромосом X<sub>1</sub>–X<sub>5</sub> утконоса, на долю которых приходится суммарно около 12% генома, не гомологичны и не имеют сходства с Y<sub>1</sub>–Y<sub>5</sub>. Можно ожидать, что существует механизм дозовой компенсации генов, локализующихся в этих районах. Количественный анализ транскрипции генов, расположенных в дифференцированных районах разных X-хромосом утконоса [10], показал, что часть из них имеют одинаковый уровень транскрипции в клетках самок и самцов, экспрессия остальных генов либо компенсируется лишь частич-

но, либо не компенсируется вообще, т.е. оказывается в 2 раза выше в клетках самок по сравнению с клетками самцов (табл. 1). Таким образом, вероятно, дозовая компенсация у однопроходных действует лишь в отношении отдельных генов половых хромосом, напоминая неполную и переменную дозовую компенсацию, наблюдающуюся у птиц [11, 12]. С частотой от 50 до 70% в ядрах клеток самок утконоса транскрипция генов, обнаруживающих дозовую компенсацию, выявляется только на одной из гомологичных X-хромосом. Тем не менее в суммарной мРНК в равном количестве присутствуют транскрипты, соответствующие каждому из гомологов. Эти данные позволяют предположить, что дозовая компенсация у однопроходных осуществляется за счет снижения уровня транскрипции одного из аллелей, выбор которого в каждой клетке происходит случайным образом [10]. Поскольку на цитологическом уровне у самок утконоса каждая пара X-хромосом не имеет видимых различий в модификациях хроматина, предполагают, что дозовая компенсация у однопроходных затрагивает отдельные гены, а не хромосомы в целом [13].

Псевдоаутосомная часть хромосомы X<sub>1</sub> ехидны характеризуется в некоторых типах клеток поздней репликацией [14], которую можно рассматри-

Таблица 2. Статус экспрессии генов X-хромосом у разных видов сумчатых [8]

Ген	Вид	Метод	Инактивация в соматических тканях
<i>G6pd</i>	<i>Macropus robustus</i>	Изоферментный анализ, SNUPE	Полная
	<i>Macropus rufogriseus</i>	Изоферментный анализ	Полная
	<i>Didelphis virginiana</i>	Изоферментный анализ	Неполная
<i>Gla</i>	<i>Monodelphis domestica</i>	ОТ-ПЦР	Полная
	<i>Antechinus stuartii</i>	Изоферментный анализ	Полная
<i>Pgk1</i>	<i>Kangaroo hybrids</i>	«	Полная
	<i>Macropus giganteus</i>	«	Тканеспецифичная
	<i>Macropus parryi</i>	«	«
	<i>Trichosurus vulpecula</i>	«	«
	<i>Didelphis virginiana</i>	«	«
	<i>Monodelphis domestica</i>	SNUPE	Неполная

вать как признак неактивного хроматина, хотя гены, локализуемые в данном районе, присутствуют как на  $X_1$ , так и на  $Y_1$  и не нуждаются в дозовой компенсации. Ранее этот район, учитывая его предрасположенность к инактивации, рассматривали в качестве предковой области, в которой предположительно мог сформироваться механизм сайленсинга целой хромосомы. Однако, поскольку содержащиеся в данном районе гены у сумчатых и плацентарных млекопитающих располагаются на аутосомах и не задействованы в инактивации, от этого предположения отказались.

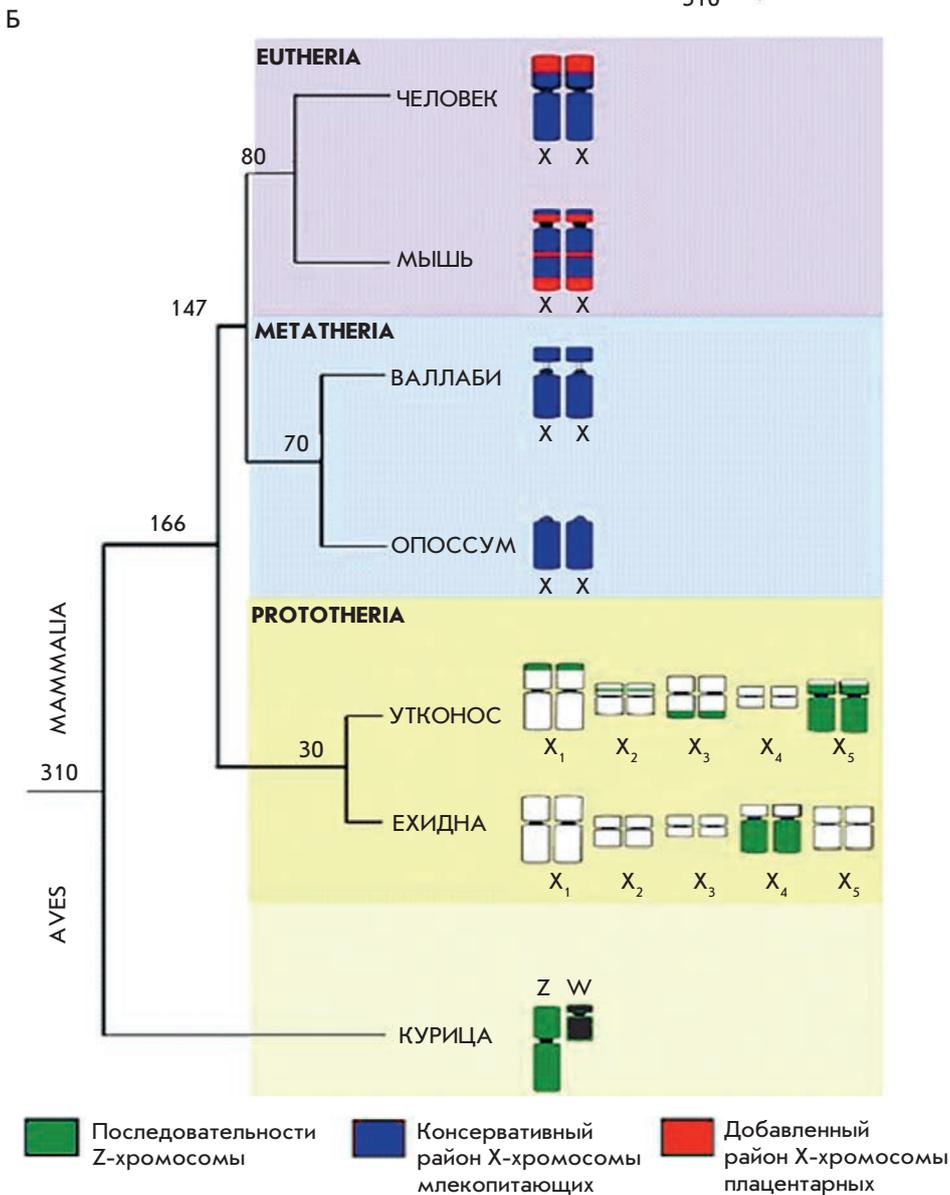
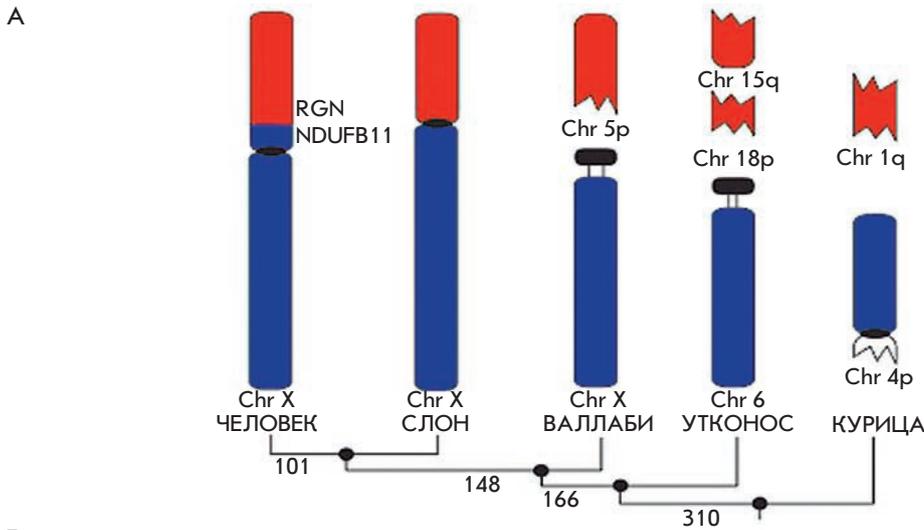
Таким образом, очевидно, что однопроходные, в отличие от сумчатых и плацентарных млекопитающих, используют для дозовой компенсации механизм, который отличается от процесса инактивации X-хромосомы.

#### Инактивация X-хромосомы у сумчатых – импринтированная, неполная и тканеспецифичная

Инфракласс сумчатые (Metatheria) включает 270 видов, 200 из которых обитают в Австралии, 69 – в Южной Америке и 1 – в Северной Америке. Эволюционное разделение австралийских и американских сумчатых произошло 70 млн лет назад [9, 15]. Половые хромосомы сумчатых и плацентарных млекопитающих имеют общее происхождение. X-хромосома сумчатых представляет собой 2/3 X-хромосомы плацентарных млекопитающих, оставшаяся треть генов локализуется на аутосоме (рис. 1). Сумчатые – наиболее древние млекопитающие, у самок которых до-

зовая компенсация происходит за счет инактивации X-хромосомы, однако процесс инактивации у сумчатых и плацентарных млекопитающих имеет ряд существенных отличий.

Для всех тканей сумчатых характерна неслучайная импринтированная инактивация, при которой наблюдается подавление транскрипции генов и устанавливается поздняя репликация в S-фазе клеточного цикла исключительно на X-хромосоме, унаследованной от отца [16, 17]. Вероятно, за процесс инактивации в масштабах хромосомы отвечает специфическая для сумчатых нетранслируемая ядерная РНК *Rsx* (RNA-on-the-silent X), которая способна распространяться по неактивной X-хромосоме и репрессировать транскрипцию генов [4]. Изучена импринтированная инактивация трех генов X-хромосомы в тканях у восьми видов (табл. 2). Обнаружено, что неактивное состояние X-хромосомы отцовского происхождения нестабильно, и зачастую происходит реактивация генов. Оказалось, что инактивация у сумчатых затрагивает не все гены в равной мере, т.е. является неполной. Кроме того, в зависимости от ткани одни и те же локусы X-хромосомы могут быть инактивированы в разной степени. Например, у североамериканского вирджинского опоссума *Didelphis virginiana* ген фосфоглицераткиназы А (*Pgk1*) полностью инактивирован во всех тканях, тогда как в большинстве тканей не наблюдается стабильной репрессии отцовского аллеля гена глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (*G6pd*) [18]. У южноамериканского серого короткохвостого опоссума *Monodelphis domestica*, в отличие



**Рис. 1.** Происхождение и эволюция X-хромосомы млекопитающих. **А** – У птиц (курица) и однопроходных (утконос, ехидна) гены X-хромосомы млекопитающих локализованы на аутосомах. У сумчатых (валлаби, опоссум) X-хромосома представляет собой наиболее древнюю часть X-хромосомы млекопитающих (отображена синим цветом) и содержит 2/3 генов, представленных на X-хромосоме плацентарных. X-хромосома плацентарных млекопитающих содержит добавленный участок (отображен красным цветом), который у сумчатых локализуется на аутосоме [7]. **Б** – У однопроходных выявлено пять X-хромосом, которые не имеют ничего общего с X-хромосомой плацентарных, однако содержат последовательности, гомологичные Z-хромосоме птиц [9]. В основании ветвей филогенетических деревьев указано время дивергенции таксонов в миллионах лет назад

от вирджинского опоссума, напротив, отцовский аллель *Gbpd* стабильно инактивирован, тогда как *Pgk1* демонстрирует во всех тканях неполную инактивацию [19]. Таким образом, ортологичные гены у разных видов сумчатых могут инактивироваться в разной степени.

Следует отметить, что инактивация X-хромосомы – не единственный механизм дозовой компенсации у сумчатых. У представителей семейства бандикутов (сумчатые барсуки, *Paramelidae*) на разных стадиях онтогенеза в соматических клетках элиминируются Y-хромосома у самцов и одна из двух X-хромосом у самок [20]. Элиминация половых хромосом в разных тканях может наблюдаться как во всех клетках, так и в части из них. Исследование экспрессии аллелей X-сцепленного гена *Pgk1* у южного бандикута *Isoodon obesulus* показывает, что у самок утрачивается исключительно X-хромосома, унаследованная от отца [21]. В тех клетках, где элиминация половых хромосом не произошла, X-хромосома отцовского происхождения у самок и Y-хромосома у самцов являются поздно-реплицирующимися. Механизм утраты половых хромосом неизвестен, однако преимущественная потеря X-хромосомы отцовского происхождения и асинхронная репликация X-хромосом у самок указывает на то, что у сумчатых этот процесс возник, вероятно, как направление в эволюции процесса инактивации X-хромосомы.

### **Плацентарные млекопитающие имеют импринтированную и случайную инактивацию X-хромосомы, которые контролируются центром инактивации и геном *Xist***

Инфракласс плацентарных (*Eutheria*), подразделяющийся на четыре надотряда *Afrotheria*, *Xenarthra*, *Euarchontoglires* и *Laurasiatheria*, является самым многочисленным, разнообразным и распространенным среди млекопитающих. X-хромосома плацентарных млекопитающих на 2/3 состоит из генов, составляющих X-хромосому сумчатых, а также содержит добавленный участок, который у сумчатых локализуется на аутоosome [9] (рис. 1). В отличие от сумчатых, у самок плацентарных в клетках взрослых особей X-хромосомы отцовского и материнского происхождения инактивированы с равной вероятностью, таким образом, в среднем половина клеток экспрессирует гены отцовской X-хромосомы, а другая половина – материнской. Случайная инактивация, в отличие от импринтированной, охватывает большинство генов X-хромосомы и стабильно поддерживается в ряду клеточных поколений. Следует заметить, что гены добавленного района X-хромосомы плацентарных млекопитающих, которые у сумчатых

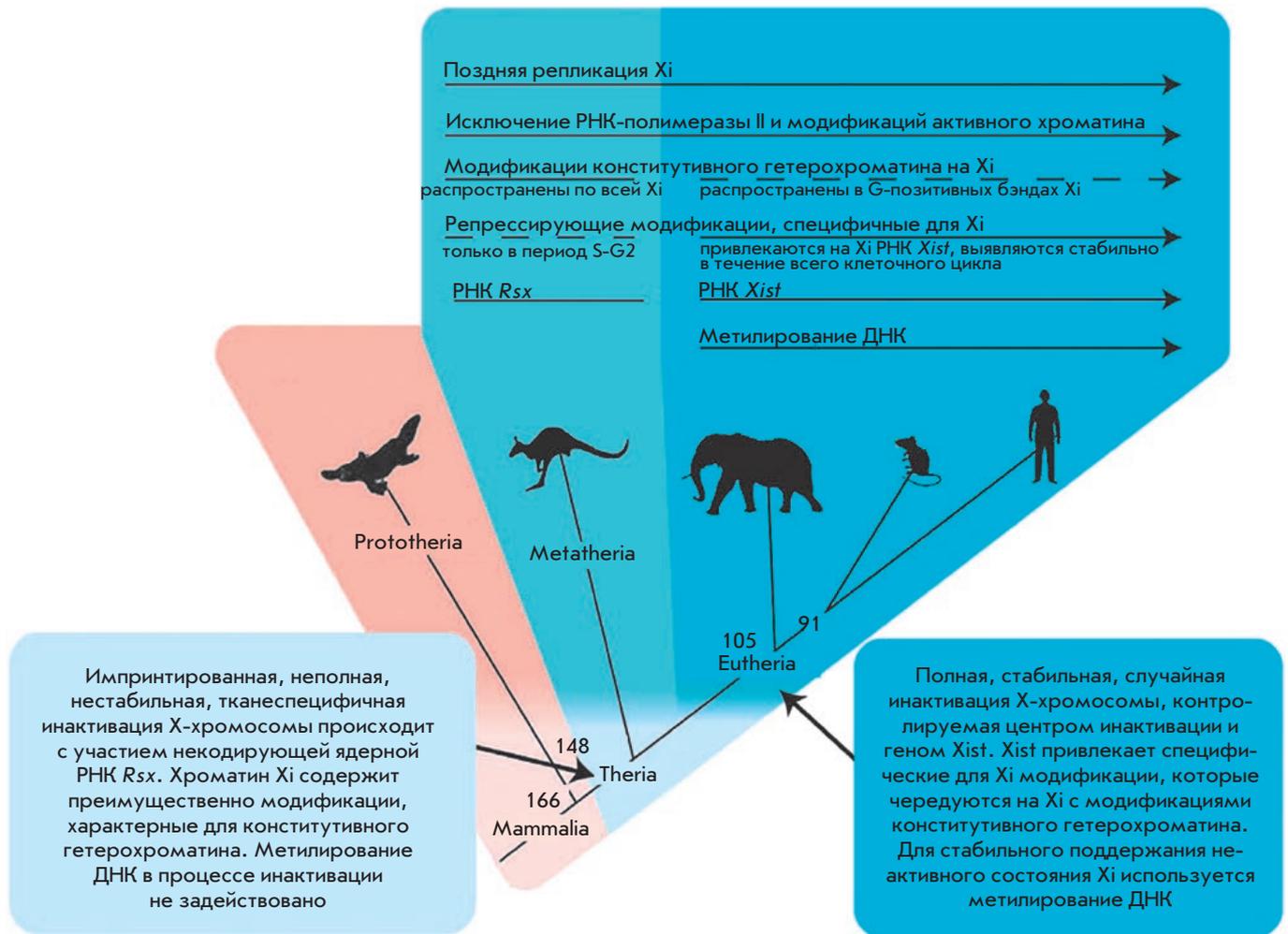
локализовались на аутоosome и не были вовлечены в процесс инактивации, инактивируются менее эффективно и способны избегать инактивации [22]. Процесс случайной инактивации у плацентарных включает несколько стадий: подсчет числа X-хромосом на диплоидный геном, выбор X-хромосомы для инактивации, инициацию инактивации, распространение неактивного состояния и его поддержание в ряду клеточных поколений [3, 23]. Вероятно, стадия выбора X-хромосом, на которой происходит взаимосключающий выбор будущей активной и неактивной X-хромосом, как у мыши, характерна не для всех видов плацентарных. Например, в раннем развитии кролика инактивация происходит стохастически, в результате образуются разные клетки, в которых ни одна из двух X-хромосом не инактивирована, инактивированы обе X-хромосомы, случайным образом инактивирована одна из двух X-хромосом. Впоследствии из-за нарушений дозы генов первые два типа клеток погибают, а оставшиеся с нормальной инактивацией формируют органы и ткани организма [24].

В некоторых таксонах плацентарных млекопитающих, например у грызунов и парнокопытных, наряду со случайной имеется также импринтированная, неполная и нестабильная инактивация X-хромосомы, унаследованной от отца, которая, однако, происходит только на предимплантационных стадиях развития эмбриона и сохраняется в клетках, из которых формируются внезародышевые органы – плацента и желточный мешок [25, 26].

Как случайная, так и импринтированная инактивация у плацентарных контролируются центром инактивации (XIC) и геном *Xist*, которые не обнаружены у однопроходных и сумчатых [3, 23]. Во время случайной инактивации ген *Xist* обеспечивает инициацию инактивации и распространение неактивного состояния, тогда как другие элементы центра инактивации работают на стадии подсчета X-хромосом и выбора хромосомы для инактивации.

### **Становление полной и стабильной инактивации сопровождалось заменой некодирующей РНК *Rsx* на *Xist* и появлением на неактивной X-хромосоме *Xist*-зависимых модификаций гистонов совместно с метилированием ДНК в промоторах**

Несмотря на отличия, инактивация X-хромосомы у сумчатых и плацентарных млекопитающих имеет много общих черт, которые, вероятно, отражают фундаментальные и наиболее древние механизмы, заложенные в этот процесс (рис. 2) [13, 27, 28]. Как у сумчатых, так и у плацентарных млекопитающих неактивная X-хромосома выявляется в интерфазных ядрах самок в виде цитологически разли-



**Рис. 2.** Эволюция эпигенетических механизмов процесса инактивации X-хромосомы у млекопитающих [28]. Xi – неактивная X-хромосома. В основании ветвей филогенетического дерева указано время дивергенции таксонов в миллионах лет назад

чимой глыбки компактного хроматина, называемой тельцем Барра. Из хромосомной территории неактивной X-хромосомы в интерфазных ядрах практически полностью исключена отвечающая за транскрипцию генов ДНК-зависимая РНК-полимераза II. Неактивная X-хромосома является поздне-реплицирующейся, на время репликации она перемещается в околоядрышковую область ядра, обогащенную ферментами, необходимыми для воспроизведения структуры неактивного хроматина. На неактивной X-хромосоме исключены ковалентные модификации гистонов, характерные для транскрипционно активного хроматина, и присутствуют модификации, свойственные транскрипционно неактивному хроматину. Хроматин неактивной X-хромосомы со-

держит нетранслируемую ядерную РНК, которая экспрессируется только с неактивной X-хромосомы и распространяется по ней, вызывая инактивацию генов.

Следует особо подчеркнуть, что сумчатые и плацентарные млекопитающие используют в процессе инактивации совершенно разные, неродственные по происхождению, некодирующие ядерные РНК *Rnx* и *Xist*, которые обладают сходными свойствами и поведением в процессе инактивации [4]. Обе некодирующие РНК обогащены микросателлитными повторами, которые, как показано для РНК гена *Xist*, являются важными функциональными доменами, необходимы для репрессии транскрипции, распространения по неактивной X-хромосоме и связывания бел-

ковых комплексов, ответственных за модификацию хроматина [29] (рис. 3). Важную роль в инактивации транскрипции генов X-хромосомы играют эволюционно консервативные мини-сателлитные A-повторы, расположенные в первом экзоне гена *Xist* [30]. Делеция A-повторов приводит к тому, что РНК *Xist* не способна вызывать инактивацию транскрипции X-сцепленных генов, хотя нормально распространяется по X-хромосоме [29, 31]. За распространение РНК *Xist* по X-хромосоме отвечает кумулятивное действие микросателлитных повторов B, C, D, E [32]. Район мини-сателлитных C-повторов отвечает за связывание РНК *Xist* с хроматином неактивной X-хромосомы посредством белка hnRNP U (известного также как SP120 и SAF-A (scaffold attachment factor A)) [31, 33–35]. hnRNP U (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U) – белок, имеющий три консервативных домена: SAF-Box, который связывается с AT-богатым районом ДНК, известным как S/MAR (scaffold- or matrix-attachment region), домен SPRY (Spla and Ryanodine receptor) с неизвестной функцией и РНК-связывающий домен RGG (arginine-glycine-glycine). Наличие этих доменов обуславливает взаимодействие hnRNP U с ДНК и с РНК *Xist*, что способствует ее удержанию у инактивируемой X-хромосомы [35].

Следует также отметить, что неактивная X-хромосома сумчатых на протяжении всего клеточного цикла стабильно ассоциирована с гетерохроматиновым белком HP1, гистоном H3, триметилированным по лизину K9, и гистоном H4, триметилированным по лизину K20, которые характерны для районов центромерного и теломерного конститутивного гетерохроматина [13, 28, 36]. Некоторые из модификаций, специфичных для неактивной



**Рис. 3.** Функциональные домены РНК гена *Xist*. А, В, С, D, E, F – мини-сателлитные повторы, входящие в РНК *Xist*. (+++) – последовательности, ответственные за распространение РНК гена *Xist* по X-хромосоме. Стрелки показывают районы А- и Е-повторов, участвующие в связывании комплекса белков PRC2, и район С-повторов, отвечающий за связывание РНК *Xist* с неактивной X-хромосомой посредством белка hnRNP U (SP120/SAF-A). А-повторы РНК гена *Xist* необходимы также для установления транскрипционного сайленсинга генов и формирования хромосомной территории неактивной X-хромосомы [3]

X-хромосомы плацентарных (например, триметилированный гистон H3 по лизину 27), могут появляться на неактивной X-хромосоме сумчатых временно в период с S- до ранней G2-фазы клеточного цикла.

У плацентарных, подобно сумчатым, на ранних стадиях импринтированной инактивации репрессия всей X-хромосомы может осуществляться исключительно за счет модификаций, свойственных районам конститутивного гетерохроматина [37]. На более поздних стадиях импринтированной инактивации, а также при случайной инактивации эти модификации представлены на неактивной X-хромосоме только в районах, обогащенных повторенными последовательностями, которые соответствуют G-позитивным бэндам. Обогащенные генами области неактивной X-хромосомы стабильно в течение всего клеточного цикла репрессированы с помощью триметилирования H3 по лизину K27, моноубиквитинирования H2A по лизину K119, а также включения в состав хроматина гистона макроH2A1.2, которые солокализуются с РНК гена *Xist* [38–42]. Появление модификаций, солокализующихся с геном *Xist*, зависит от его экспрессии, репрессия *Xist* и нарушения в распространении его РНК ведут к утрате данных модификаций на неактивной X-хромосоме [29, 31, 43]. Более того, обнаружено, что в РНК гена *Xist* имеются два сайта, способных связываться с комплексом белков PRC2 (Polycomb repressive complex 2), выполняющих функцию гистонметилтрансфераз, отвечающих за триметилирование H3K27 [44].

Еще одно эпигенетическое отличие в процессе инактивации у сумчатых и плацентарных млекопитающих – метилирование ДНК неактивной X-хромосомы. У плацентарных млекопитающих в процессе случайной инактивации в тканях эмбриона ДНК неактивной X-хромосомы, в отличие от активной, гиперметируется по CpG-динуклеотидам, расположенным в промоторах и 5'-нетранслируемых областях генов [45]. Подобное метилирование не является при нестабильной импринтированной инактивации в экстраэмбриональных тканях плацентарных и в соматических тканях сумчатых [18, 19, 46]. Вероятно, метилирование промоторной ДНК во время случайной инактивации возникло у плацентарных как дополнительная стадия стабилизации неактивного состояния X-хромосомы в соматических клетках.

### ГИПОТЕЗЫ О ПРОИСХОЖДЕНИИ И ЭВОЛЮЦИИ ПРОЦЕССА ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ

#### Импринтированная инактивация, по-видимому, более древняя

Считают, что исходной и наиболее примитивной, вероятно, является импринтированная инактивация

X-хромосомы, которая происходит во всех тканях и органах сумчатых и во внезародышевых органах (плацента, желточный мешок) у ряда плацентарных. В дальнейшем импринтированная инактивация эволюционировала в более предпочтительный процесс случайной инактивации, интегрировав в себя контролируемые центром инактивации механизмы подсчета числа X-хромосом на диплоидный набор и выбора будущей неактивной X-хромосомы.

Импринтированная инактивация в отдельных таксонах у плацентарных могла сохраняться или возникать заново, интегрировав в себя новые механизмы, предлагаемые центром инактивации и геном *Xist*. Так, по крайней мере у мыши импринтированная инактивация происходит с участием ХИС и *Xist*, при этом в ХИС обнаружен импринтинг, предотвращающий экспрессию *Xist* и защищающий от инактивации X-хромосому, унаследованную от матери [23]. Однако в других таксонах, например у человека, импринтированная инактивация полностью утрачена [47].

**Процесс инактивации мог произойти от механизмов импринтированной или случайной моноаллельной экспрессии аутосомных генов, а также от мейотического сайленсинга половых хромосом**

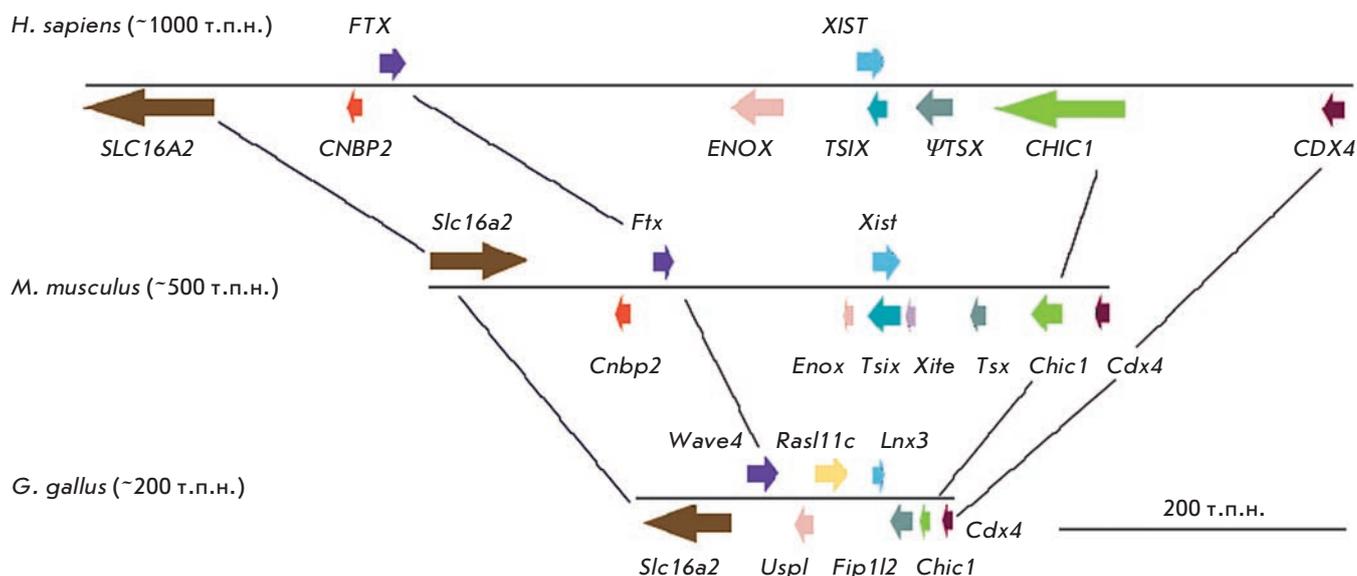
В настоящее время нет удовлетворительных объяснений того, как произошел процесс инактивации X-хромосомы. Механизм инактивации мог возникнуть на X-хромосоме *de novo* или быть заимствован от уже существовавшего процесса сайленсинга.

Предполагают, что основой для импринтированной инактивации X-хромосомы мог стать механизм, который используется для импринтированной моноаллельной экспрессии генов на одной из двух гомологичных аутосом [48]. Импринтинг экспрессии генов на аутосомах широко распространен и консервативен у сумчатых и плацентарных млекопитающих. У плацентарных млекопитающих как при импринтинге генов на аутосомах, так и при инактивации X-хромосомы задействованы ядерные РНК, экспрессия которых вызывает транскрипционное «молчание» генов *in cis*, утрату модификаций, характерных для активного хроматина, и привлечение модификаций, свойственных неактивному хроматину. У плацентарных оба эти процесса происходят на ранних стадиях эмбрионального развития, сохраняются в плаценте и утрачиваются в собственно эмбрионе.

Следует отметить, что моноаллельная экспрессия аутосомных генов, устанавливающаяся случайным образом, – феномен тоже достаточно распространенный. Так, гены иммуноглобулинов, обонятельных рецепторов, T-клеточных рецепторов, рецепторов нор-

мальных киллерных клеток служат примером генов с моноаллельной экспрессией, которая устанавливается стохастически. Многие гены со случайной моноаллельной экспрессией характеризуются асинхронной репликацией: в S-фазе клеточного цикла аллели на одном гомологе реплицируются рано, на другом – поздно. Похоже, что асинхронная репликация этих генов устанавливается в раннем развитии. Кластеры разных генов с моноаллельной экспрессией, локализуемые на одной хромосоме на большом расстоянии друг от друга, в пределах одного гомолога имеют одинаковое время репликации [49]. Это позволяет предположить, что у каждого гомолога из пары существует, вероятно, собственная специфическим образом организованная хромосомная территория, подобная области неактивной X-хромосомы, которая выявляется цитологически в интерфазных ядрах сумчатых и плацентарных в виде глыбы компактного хроматина, названной тельцем Барра [23]. Таким образом, не исключено, что инактивация X-хромосомы произошла от механизма стохастической моноаллельной экспрессии генов, в который затем мог быть привнесен импринтинг [50].

Предполагают также, что импринтированная инактивация X-хромосомы, унаследованная от отца, произошла от процесса мейотической инактивации половых хромосом в сперматогенезе либо является его продолжением [18]. В ходе сперматогенеза в результате мейотической инактивации половых хромосом на стадии пахитены мейоза половые хромосомы подвергаются транскрипционному сайленсингу и образуют половое, или XY-тельце. В пользу предположения о том, что импринтированная инактивация X-хромосомы может быть связана с процессом мейотической инактивации половых хромосом в сперматогенезе свидетельствуют, например, данные о том, что при импринтированной инактивации у сумчатых и на ранних стадиях импринтированной инактивации у плацентарных используются такие же модификации хроматина, как и при мейотической инактивации [37]. Предполагаемое родство мейотической и импринтированной инактивации дает основание думать, что на начальных этапах эволюции процесс инактивации X-хромосомы мог осуществляться без участия ядерной РНК, некодирующей белок, а если подобная РНК существовала, то не играла ключевой роли в репрессии транскрипции. Почву для подобного предположения дают сведения о том, что сходные модификации, обеспечивающие репрессию хроматина, при мейотической и импринтированной инактивации не специфичны для неактивной X-хромосомы, а характерны для всех областей конститутивного гетерохроматина в геноме, и их появление, по крайней мере на X-хромосоме плацентарных, не зависит



**Рис. 4.** Сравнение центра инактивации X-хромосомы человека (*Homo sapiens*) и мыши (*Mus musculus*) с гомологичным районом на хромосоме 4 курицы (*Gallus gallus*). Цветными стрелками показано расположение генов и направление их транскрипции. Стрелки гомологичных генов окрашены в одинаковый цвет. *Cdx4*, *Chic1* и *Slc16a2* – консервативные белоккодирующие гены, фланкирующие как XIC на X-хромосоме плацентарных, так и гомологичный ему район на хромосоме 4 курицы. *Cnbp2* – белоккодирующий ген, встроившийся в локус XIC плацентарных в результате ретропозиции. *Tsx* – белоккодирующий ген, специфически экспрессирующийся в семенниках, который частично произошел из гена *Fip112*. У человека ген *TSX* не функционален и представляет собой псевдоген. Гены XIC: *Xist*, *Enox* (*Jpx*) и *Ftx* – кодируют протяженные нетранслируемые ядерные РНК; они обнаруживают гомологию с родственными белоккодирующими генами курицы *Lnх3*, *Uspl* и *Wave4* соответственно. Дивергировавшие остатки белоккодирующего гена *Rasl11c* обнаружены у плацентарных между генами *Ftx* и *Enox*. Размеры локусов приведены в скобках в тысячах пар нуклеотидов (т.п.н.)

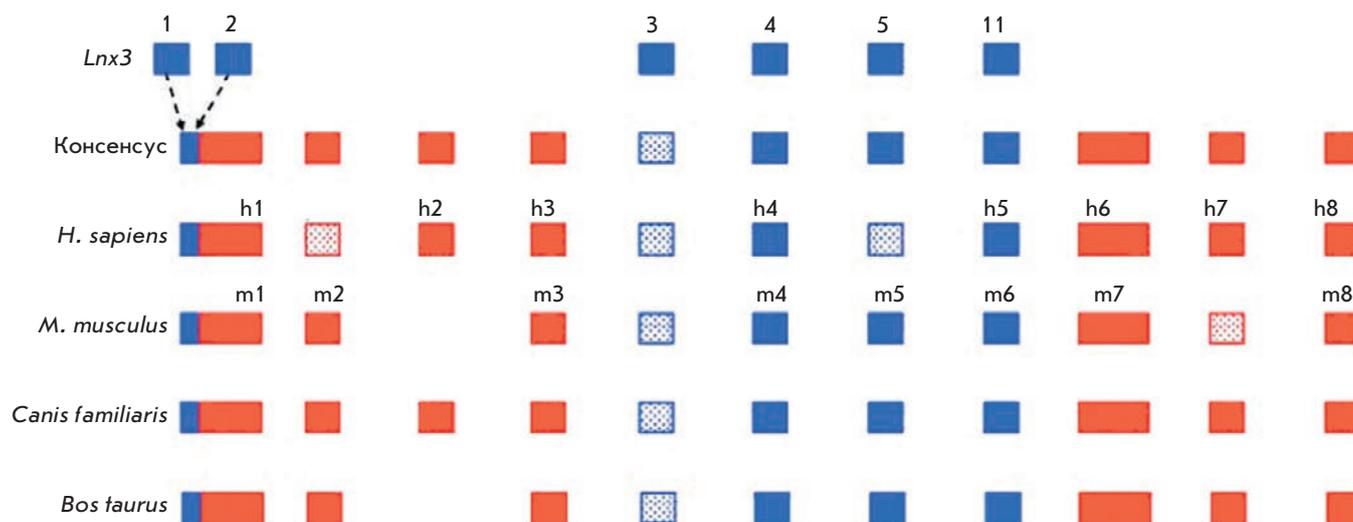
от экспрессии *Xist*. Более того, мейотическая инактивация и начальные стадии импринтированной инактивации у плацентарных могут успешно осуществляться в отсутствие РНК *Xist* [51, 52]. У сумчатых мейотическая репрессия генов в сперматогенезе также не зависит от гена *Rsx*, который на данной стадии не экспрессируется [4]. Таким образом, можно предположить, что изначально роль ядерной РНК в процессе инактивации X-хромосомы могла заключаться в организации специфической хромосомной территории или перемещении неактивной хромосомы в околядрышковый компартмент для обеспечения ее репликации, которые происходят с непосредственным участием РНК гена *Xist* [53–55]. Лишь впоследствии ядерные РНК стали использоваться непосредственно для репрессии транскрипции и привлечения белковых комплексов, репрессирующих хроматин. Следует, однако, помнить, что коровые гистоны вместе с эпигенетическими сведениями о транскрипционном статусе хроматина при упаковке хромосом в спермии в большинстве случаев замещаются на прота-

мины, а метилирование CpG-островков ДНК, используемое для наследования неактивного статуса, у X-сцепленных генов не обнаружено [19]. Таким образом, не вполне ясно, как неактивное состояние хроматина после мейотической инактивации может передаваться в зиготу. Кроме того, поскольку молекулярные механизмы как мейотической, так и импринтированной инактивации не известны, трудно судить, насколько в действительности родственны эти процессы.

### ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ И ГЕНА *Xist*

#### Гены центра инактивации произошли из белоккодирующих генов и мобильных элементов

У плацентарных млекопитающих процесс инактивации управляется сложным генетическим локусом X-хромосомы – центром инактивации (XIC). У эволюционно далеких видов плацентарных в составе



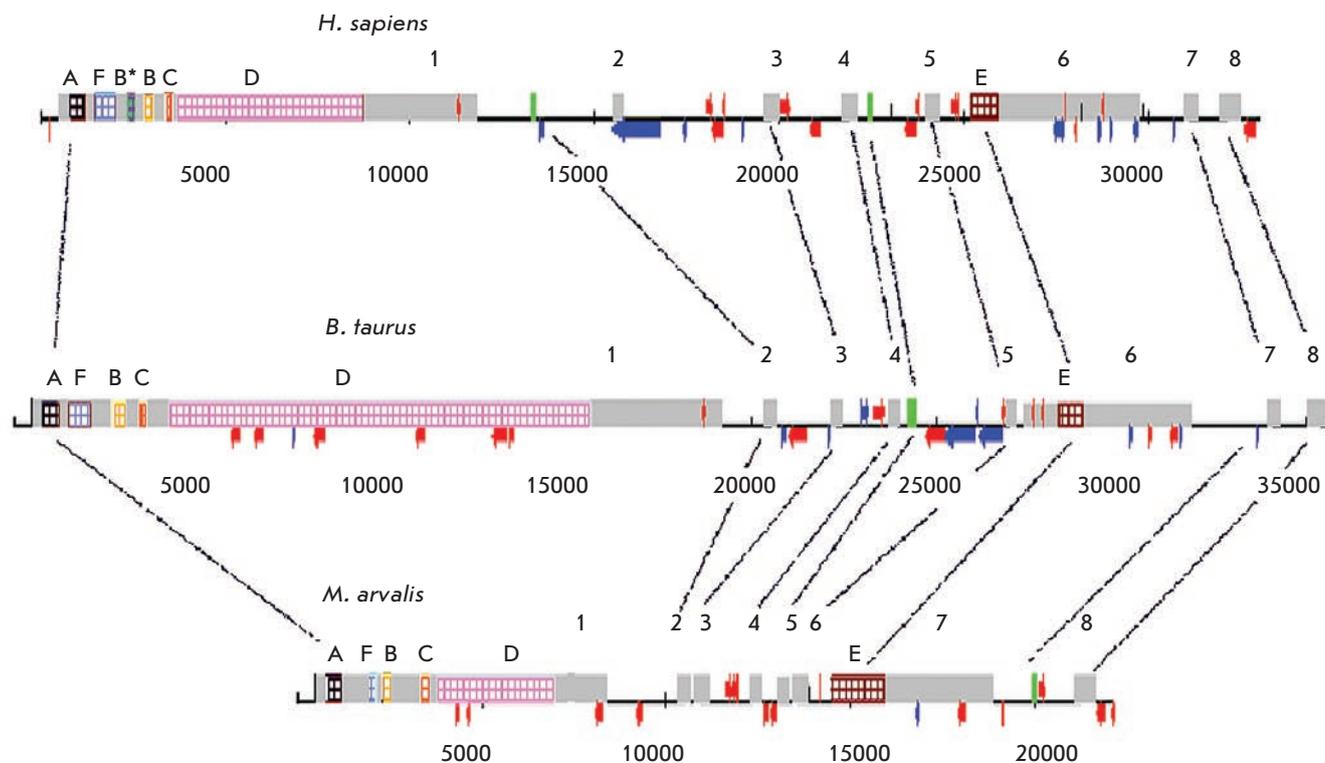
**Рис. 5.** Происхождение гена *Xist* из последовательностей белкокодирующего гена *Lnx3* и мобильных элементов разных классов [61]. Синие прямоугольники – экзоны, эволюционировавшие из гена *Lnx3*; красные прямоугольники – экзоны, произошедшие из мобильных элементов. Заштрихованные синие и красные прямоугольники – последовательности экзонов, выявляющиеся в геноме, но не входящие в состав транскрипта *Xist* у данного вида. Консенсус – предположительная предковая структура гена *Xist*. Для генов *Xist* человека (*Homo sapiens*) и мыши (*Mus musculus*) приведена нумерация экзонов (m1–m8 – экзоны *Xist* мыши, h1–h8 – экзоны *Xist* человека)

ХИС, кроме *Xist*, выявляются еще два гена, кодирующих ядерные РНК, *Enox* (*Jpx*) и *Ftx*, которые, как показано в экспериментах на мышах, являются активаторами экспрессии *Xist* [56–59]. Также ХИС содержит белкокодирующие гены *Tsx* и *Cnbp2*, продукты которых не участвуют в инактивации [56]. Показано, что на хромосоме 4 курицы несколько белкокодирующих генов в районе синтении с ХИС имеют гомологию с генами центра инактивации и, вероятно, были их предшественниками [60]. Основой для образования *Xist* послужил ген *Lnx3*, белковый продукт которого содержит убиквитин-лигазный домен PDZ (рис. 4). Сравнение этих генов показало, что промоторная область и, по крайней мере, три экзона гена *Xist* произошли из последовательностей гена *Lnx3*. Самый большой первый экзон гена *Xist*, вероятно, произошел из эндогенных ретровирусов, фрагменты которых после инсерции в локус амплифицировались и сформировали простые тандемные повторы нескольких типов, выявленные в его составе. Остальные экзоны гена *Xist* имеют сходство с мобильными элементами разных классов (рис. 5) [61]. Белкокодирующие гены, окружающие ген *Lnx3*, дали начало другим генетическим элементам центра инактивации млекопитающих (рис. 4). Из гена *Fip112* произошел ген *Tsx*. Два других гена – *Uspl* и *Wave4* – стали основой для формирования *Enox* (*Jpx*) и *Ftx* соответственно. Можно отметить, что в составе гена *Enox*

(*Jpx*), как и в *Xist*, обнаружены экзоны, образованные из мобильных элементов, которые у разных видов соответствуют различным типам повторов [56, 57, 61].

**У однопроходных и сумчатых ген *Xist* отсутствует, и район, гомологичный центру инактивации плацентарных, разделен на части хромосомными перестройками**

У однопроходных и сумчатых в результате скрининга геномных библиотек и тщательного поиска гомологии в секвенированных геномах не обнаружено прямого ортолога гена *Xist* или других последовательностей ХИС [62]. Более того, у них выявлены белкокодирующие гены-предшественники ХИС, разделенные независимыми хромосомными перестройками и локализующиеся в виде двух отдельных групп – у сумчатых на X-хромосоме и у однопроходных на хромосоме 6 [60, 62–64]. РНК гена *Lnx3* у сумчатых имеет нативную рамку считывания, экспрессируется как у самцов, так и у самок, и, очевидно, функционирует как белкокодирующий ген, а не как нетранслируемая ядерная РНК, подобная *Xist*. Таким образом, белкокодирующие гены-предшественники ХИС преобразовались в гены центра инактивации только у плацентарных млекопитающих, процесс инактивации у сумчатых происходит без участия *Xist* и ХИС. Ген *Rsx*, у сумчатых, выполняющий, вероятно, функции, сходные с геном *Xist* плацентарных, примыкает к бе-



**Рис. 6.** Вариабельность экзон–интронной структуры и размеров гена *Xist* у человека (*Homo sapiens*), коровы (*Bos taurus*) и полевки (*Microtus arvalis*). Серые прямоугольники – экзоны (1–8). Зеленые прямоугольники – фрагменты интронов *Xist*, которые являются экзонами у других видов. Гомологичные элементы *Xist* у разных видов соединены линиями. Цветные прямоугольники внутри экзонов *Xist* – тандемные микросателлитные повторы А, В, В\*, С, D, E и F. Эволюционно молодые видоспецифические мобильные элементы LINE и SINE указаны синими и красными стрелками соответственно. Размеры локусов даны в тысячах пар нуклеотидов (т.п.н.)

локкодирующему гену X-хромосомы *Hprt* и не имеет общего происхождения с *Xist* и XIC [4].

### Ген *Xist* и центр инактивации в процессе эволюции быстро накапливают видоспецифические различия

Ген *Xist* выявлен в геномах у представителей всех четырех надотрядов млекопитающих, включая наиболее древних Afrotheria и Xenarthra [62]. Однако ген *Xist* не консервативен и эволюционирует очень быстро [56, 60, 61, 65]. Экзоны гена *Xist* изменяются медленнее, чем интроны. Самый консервативный экзон 4 демонстрирует наибольшее сходство с экзоном гена *Lnx3*. Парадоксально, что выполняющий определенные функции первый экзон, и, в частности, район А-повтора, необходимый для установления транскрипционного «молчания» генов, изменяются в эволюции быстрее, чем экзон 4, делеция которого не влияет на инактивацию. У разных видов плацентарных число экзонов в гене варьирует от шести до восьми (рис. 6). Последовательности, являющиеся

экзонами у одних видов, могут входить в состав интронов у других. Размер некоторых экзонов может изменяться за счет образования новых экзон-интронных границ. Размер самого большого первого экзона гена *Xist* изменяется за счет амплификации и делеций входящих в его состав тандемных повторов и инсерций/делеций таксоноспецифических мобильных элементов. В результате этой вариабельности длина РНК *Xist* у представителей разных отрядов может различаться приблизительно в 2 раза. Считают, что различия гена *Xist* по размеру РНК, наличию экзонов, повторов и мобильных элементов связаны с его адаптацией к функционированию в геноме и X-хромосоме каждого конкретного вида.

В XIC мыши имеются еще два гена, кодирующих ядерную РНК – *Tsix*, экспрессирующийся с анти-смысловой цепи гена *Xist*, и *Xite* (X-inactivation intergenic transcriptional element). Эти гены регулируют экспрессию *Xist* при импринтированной и случайной инактивации, они вовлечены в механизмы под-

счета числа X-хромосом на диплоидный набор аутосом и выбора будущей неактивной X-хромосомы [66]. Эти гены менее консервативны. *Xite* выявляется даже не у всех грызунов и не обнаружен у человека [67]. Антисмысловая по отношению к гену *Xist* транскрипция, подобная *Tsix*, обнаружена у человека, однако она не имеет таких же функций, как у мыши [68, 69]. Таким образом, не обнаружено консервативных элементов ХИС, отвечающих за функции «подсчета» и «выбора», а следовательно, функциональные элементы ХИС, регуляция *Xist* и процесса инактивации хотя бы отчасти видоспецифичны [67].

В целом можно отметить, что в ХИС плацентарных млекопитающих гены ядерных РНК, вовлеченных в процесс инактивации, изменяются очень быстро. Меняется их экзон-интронная структура и границы, в процессе эволюции происходит утрата одних и появление новых некодирующих РНК, вовлеченных в реализацию процесса инактивации. На этом фоне замена гена *Rsx* у сумчатых на ген *Xist* у плацентарных млекопитающих выглядит рядовым явлением, которое вполне укладывается в общие тенденции эволюции процесса инактивации.

## КОЭВОЛЮЦИЯ X-ХРОМОСОМЫ И ПРОЦЕССА ИНАКТИВАЦИИ

### Процесс инактивации ограничивает обмен генетическим материалом между X-хромосомой и аутосомами

Эволюция половых хромосом млекопитающих и процесса инактивации X-хромосомы происходит взаимосвязано. Необходимость в дозовой компенсации X-сцепленных генов у млекопитающих возникла во время дифференциации половых хромосом, которые изначально были парой гомологичных аутосом. Процесс инактивации X-хромосомы появился после того, как в результате подавления рекомбинации между прото X и прото Y-хромосомами Y-хромосома стала терять гомологи генов X-хромосомы и аккумулировать гены, вовлеченные в гаметогенез у самцов [70]. Гомология на X- и Y-хромосомах сохранялась в небольшом участке, названном псевдоаутосомным районом (PAR), необходимом для правильной конъюгации X- и Y-хромосом в мейозе у самцов. Гены PAR, гомологичные на X- и Y-хромосомах, не нуждаются в дозовой компенсации и избегают инактивации. Процесс инактивации возник, вероятно, у общего предка сумчатых и плацентарных млекопитающих на X-хромосоме, которая по составу была близка к X-хромосоме сумчатых. Дальнейшие транслокации аутосомного материала на предковую X-хромосому, которые наблюдаются у плацентарных, должны были происходить таким образом, чтобы не нару-

шалась дозовая компенсация. В противном случае такие перестройки элиминировались бы отбором. Предполагают, что дозовая компенсация не нарушалась, когда аутосомный материал добавлялся в PAR X-хромосомы, а затем в результате рекомбинации переносился в PAR на Y-хромосому. На начальных этапах аутосомные гены, вновь добавленные в PAR X- и Y-хромосом, не требовали дозовой компенсации. Впоследствии по мере деградации генов в PAR на Y-хромосоме их гомологи на X-хромосоме вовлекались в процесс инактивации. Всего на X-хромосоме млекопитающих произошло пять последовательных транслокаций, в результате которых аутосомные гены добавлялись к предковой X-хромосоме и формировали более молодые эволюционные страты. У современных млекопитающих в наиболее древней (консервативной) части X-хромосомы (рис. 1) сохранилось наименьшее число активных гомологов Y-хромосомы, тогда как в добавленных районах выявлено больше генов, избегающих инактивации и имеющих активный гомолог на Y-хромосоме [71]. Тем не менее на X-хромосоме плацентарных есть гены, которые избегают инактивации, несмотря на то, что их гомолог на Y-хромосоме утрачен. Таким образом, вовлечение генов в процесс инактивации занимает, вероятно, определенное время, а не устанавливается немедленно вслед за утратой Y-гомологов. Кроме того, отмечено, что двукратное уменьшение количества продукта одного гена может не иметь вредных последствий для клетки и организма, и поэтому не нуждается в корректировке дозы генов [72]. По-видимому, дозовая компенсация генов половых хромосом направлена на поддержание коллективных функций генов, например, общей концентрации белков в клетке, которая зависит от множества экспрессирующихся генов. Значительные изменения концентрации цитоплазматических белков могут нарушить градиент концентрации ионов на мембране клетки. Избыток белковых продуктов генов X-хромосомы в результате нарушения инактивации приводит к развитию аутоиммунных заболеваний. Таким образом, нарушение коллективных функций генов может играть роль движущей силы в эволюции дозовой компенсации.

Интересное решение проблемы транслокации аутосомного материала на X-хромосому выявлено у бурозубок *Sorex araneus*. Рекомбинационного переноса транслоцированного фрагмента аутосомы на Y-хромосому у бурозубок не произошло, и теперь их X-хромосома имеет два гомолога. Один соответствует предковой Y-хромосоме ( $Y_1$ ), другой – транслоцированной аутосоме ( $Y_2$ ) [73]. Большая часть короткого плеча X-хромосомы (original X) ведет себя как типичная X-хромосома плацентарных млекопи-

тающих – конъюгирует с истинной Y-хромосомой в мейозе у самцов и подвергается инактивации в соматических клетках самок. Добавленный район, который занимает длинное плечо и небольшой прицентромерный район короткого плеча, по поведению идентичен аутосоме – конъюгирует с Y<sub>2</sub> и не подвергается инактивации.

**X-хромосомы плацентарных млекопитающих насыщены ретротранспозонами LINE1, которые, по-видимому, вовлечены в распространение и/или поддержание неактивного состояния**

Обнаружено, что аутосомные гены, сцепленные с центром инактивации, инактивируются менее эффективно, чем гены X-хромосомы. Предполагали, что, вероятно, X-хромосома аккумулировала специфические последовательности, которые участвуют в распространении и/или поддержании неактивного состояния. М. Лайон [74] отметила, что эту роль могут выполнять ретротранспозоны LINE1, плотность которых у мыши на X-хромосоме больше, чем на аутосомах. Эта гипотеза получила дальнейшее подтверждение при анализе секвенированных геномов млекопитающих. Содержание LINE1 на X-хромосомах мыши, крысы и человека в 2 раза выше, чем на аутосомах. На протяжении X-хромосомы плацентарных LINE1 распределены относительно равномерно, и их доля снижена только в районах, содержащих гены, избегающие инактивации [75, 76]. У южноамериканского сумчатого опоссума *M. domestica* доля LINE1 на X-хромосоме и аутосомах достоверно не отличается, что согласуется с данными о неполной и нестабильной инактивации у сумчатых, и показывает, что повышенное содержание LINE1 действительно связано с их ролью в процессе инактивации, а не обусловлено менее эффективным негативным отбором LINE1 из-за уменьшения частоты мейотической рекомбинации X-хромосомы по сравнению с аутосомами. Экспериментальные данные показывают, что LINE1 могут принимать участие в организации хромосомной территории неактивной X-хромосомы, при этом эволюционно наиболее молодые LINE1 экспрессируются на инактивируемой X-хромосоме и способствуют распространению неактивного состояния [77].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В заключение можно отметить, что процесс инактивации X-хромосомы у сумчатых и плацентарных млекопитающих имеет общие эпигенетические и, вероятно, молекулярные механизмы (рис. 2). Ключевая особенность процесса инактивации у млекопитающих – скоординированная репрессия генов в масштабах X-хромосомы, по-видимому, достигается за счет распространения по ней некодирующей ядерной РНК. Однако в ходе эволюции у плацентарных произошла замена гена некодирующей ядерной РНК *Rsx* на *Xist*, который, вероятно, лучше, чем его предшественник, способен привлекать на X-хромосому модификации, более подходящие для стабильной инактивации генов. Вокруг гена *Xist* сформировался центр инактивации с элементами, способными производить подсчет и выбор будущих активной и неактивной X-хромосом, что позволило осуществлять реPRESSION одну из двух X-хромосом случайным образом. Кроме того, формированию более полной и стабильной инактивации у плацентарных способствовало привлечение к поддержанию неактивного состояния механизмов метилирования ДНК и обогащение X-хромосомы последовательностями LINE1, позволяющими более эффективно распространять неактивное состояние. Тем не менее эволюция процесса инактивации X-хромосомы у млекопитающих изучена недостаточно. Изложенные в этом обзоре предположения о его происхождении и эволюции не всегда логичны и пока слишком спекулятивны, поскольку опираются, в основном, на феноменологические данные, а не на знания о механизмах, которые при одинаковой феноменологии могут отличаться. Вероятно, дальнейшие исследования молекулярных и эпигенетических механизмов этого процесса позволят восстановить более полную картину эволюции системы дозовой компенсации у млекопитающих. ●

*Работа поддержана РФФИ (грант №12-04-31465 мол\_а), Программой РАН «Молекулярная и клеточная биология», Министерством образования и науки РФ (соглашение 8264).*

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- Bininda-Emonds O.R., Cardillo M., Jones K.E., MacPhee R.D., Beck R.M., Grenyer R., Price S.A., Vos R.A., Gittleman J.L., Purvis A. // *Nature*. 2007. V. 446. № 7135. P. 507–512.
- Lyon M.F. // *Nature*. 1961. V. 190. № 4773. P. 372–373.
- Escamilla-Del-Arenal M., da Rocha S.T., Heard E. // *Hum. Genet.* 2011. V. 130. № 2. P. 307–327.
- Grant J., Mahadevaiah S.K., Khil P., Sangrithi M.N., Royo H., Duckworth J., McCarrey J.R., Vandeberg J.L., Renfree M.B., Taylor W., et al. // *Nature*. 2012. V. 487. № 7406. P. 254–258.
- Grützner F., Rens W., Tsend-Ayush E., El-Mogharbel N., O'Brien P.C., Jones R.C., Ferguson-Smith M.A., Graves J.A.M. // *Nature*. 2004. V. 432. № 7019. P. 913–917.
- Rens W., Grützner F., O'Brien P.C., Fairclough H., Graves J.A., Ferguson-Smith M.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. № 46. P. 16257–16261.

7. Rens W., O'Brien P.C., Grützner F., Clarke O., Graphodatskaya D., Tsend-Ayush E., Trifonov V.A., Skelton H., Wallis M.C., Johnston S., et al. // *Genome Biol.* 2007. V. 8. № 11. P. R243.
8. Veyrunes F., Waters P.D., Miethke P., Rens W., McMillan D., Alsop A.E., Grützner F., Deakin J.E., Whittington C.M., Schatzkamer K., et al. // *Genome Res.* 2008. V. 18. № 6. P. 965–973.
9. Deakin J.E., Chaumeil J., Hore T.A., Marshall Graves J.A. // *Chromosome Res.* 2009. V. 17. № 5. P. 671–685.
10. Deakin J.E., Hore T.A., Koina E., Graves J.A.M. // *PLoS Genet.* 2008. V. 4. № 7. P. e1000140.
11. Ellegren H., Hultin-Rosenberg L., Brunstrom B., Dencker L., Kultima K., Scholz B. // *BMC Biol.* 2007. V. 5. P. 40.
12. Itoh Y., Melamed E., Yang X., Kampf K., Wang S., Yehya N., van Nas A., Replogle K., Band M.R., Clayton D.F., et al. // *J. Biol.* 2007. V. 6. № 1. P. 2.
13. Rens W., Wallduck M.S., Lovell F.L., Ferguson-Smith M.A., Ferguson-Smith A.C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 41. P. 17657–17662.
14. Wrigley J.M., Graves J.A. // *J. Hered.* 1988. V. 79. № 2. P. 115–118.
15. Kirsch J.A.W., Lapointe F.J., Springer M.S. // *Aust. J. Zool.* 1997. V. 45. № 3. P. 211–280.
16. Richardson B.J., Czuppon A.B., Sharman G.B. // *Nat. New Biol.* 1971. V. 230. № 13. P. 154–155.
17. Sharman G.B. // *Nature.* 1971. V. 230. № 5291. P. 231–232.
18. Cooper D.W., Johnston P.G., Graves J.A.M. // *Sem. Dev. Biol.* 1993. V. 4. № 2. P. 117–128.
19. Hornecker J.L., Samollow P.B., Robinson E.S., Vandeberg J.L., McCarrey J.R. // *Genesis.* 2007. V. 45. № 11. P. 696–708.
20. Hayman D.L., Martin P.G. // *Genetics.* 1965. V. 52. № 6. P. 1201–1206.
21. Johnston P.G., Watson C.M., Adams M., Paull D.J. // *Cytogenet. Genome Res.* 2002. V. 99. № 1–4. P. 119–124.
22. Dementyeva E.V., Shevchenko A.I., Zakian S.M. // *Bioessays.* 2009. V. 31. № 1. P. 21–28.
23. Heard E., Distech C.M. // *Genes Dev.* 2006. V. 20. № 14. P. 1848–1867.
24. Okamoto I., Patrat C., Thépot D., Peynot N., Fauque P., Daniel N., Diabangouaya P., Wolf J.P., Renard J.P., Duranthon V., Heard E. // *Nature.* 2011. V. 474. № 7350. P. 239–240.
25. Takagi N., Sasaki M. // *Nature.* 1975. V. 256. № 5519. P. 640–642.
26. Dindot S.V., Kent K.C., Evers B., Loskutoff N., Womack J., Piedrahita J.A. // *Mamm. Genome.* 2004. V. 15. № 12. P. 966–974.
27. Mahadevaiah S.K., Royo H., VandeBerg J.L., McCarrey J.R., Mackay S., Turner J.M. // *Curr. Biol.* 2009. V. 19. № 17. P. 1478–1484.
28. Chaumeil J., Waters P.D., Koina E., Gilbert C., Robinson T.J., Graves J.A.M. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 4. P. e19040.
29. Kohlmaier A., Savarese F., Lachner M., Martens J., Jenuwein T., Wutz A. // *PLoS Biol.* 2004. V. 2. № 7. P. e171.
30. Wutz A., Rasmussen T. P., Jaenisch R. // *Nat. Genet.* 2002. V. 30. № 2. P. 167–174.
31. Pullirsch D., Hartel R., Kishimoto H., Leeb M., Steiner G., Wutz A. // *Development.* 2010. V. 137. № 6. P. 935–943.
32. Wutz A., Jaenisch R. // *Mol. Cell.* 2000. V. 5. № 4. P. 695–705.
33. Helbig R., Fackelmayer F.O. // *Chromosoma.* 2003. V. 112. № 4. P. 173–182.
34. Sarma K., Levasseur P., Aristarkhov A., Lee J.T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. № 51. P. 22196–22201.
35. Hasegawa Y., Brockdorff N., Kawano S., Tsutsui K., Nakagawa S. // *Dev. Cell.* 2010. V. 19. № 3. P. 469–476.
36. Zakharova I.S., Shevchenko A.I., Shilov A.G., Nesterova T.B., Vandeberg J.L., Zakian S.M. // *Chromosoma.* 2011. V. 120. № 2. P. 177–183.
37. Деметьева Е.В. Статус экспрессии генов и модификации хроматина на активной и неактивной X-хромосоме у обычных полевых: Автореф. дис. канд. биол. наук. Новосибирск: Институт цитологии и генетики СО РАН, 2010. 17 с.
38. Chadwick B.P., Willard H.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 50. P. 17450–17455.
39. Brinkman A.B., Roelofsen T., Pennings S.W., Martens J.H., Jenuwein T., Stunnenberg H.G. // *EMBO Rep.* 2006. V. 7. № 6. P. 628–634.
40. Chadwick B.P. // *Chromosoma.* 2007. V. 116. № 2. P. 147–157.
41. Coppola G., Pinton A., Joudrey E.M., Basrur P.K., King W.A. // *Sex Dev.* 2008. V. 2. № 1. P. 12–23.
42. Shevchenko A.I., Pavlova S.V., Dementyeva E.V., Zakian S.M. // *Mamm. Genome.* 2009. V. 20. № 9–10. P. 644–653.
43. Csankovszki G., Nagy A., Jaenisch R. // *J. Cell Biol.* 2001. V. 153. № 4. P. 773–784.
44. Zhao J., Sun B.K., Erwin J.A., Song J.J., Lee J.T. // *Science.* 2008. V. 322. № 5902. P. 750–756.
45. Hellman A., Chess A. // *Science.* 2007. V. 315. № 5815. P. 1141–1143.
46. Kratzer P.G., Chapman V.M., Lambert H., Evans R.E., Liskay R.M. // *Cell.* 1983. V. 33. № 1. P. 37–42.
47. Zeng S.M., Yankowitz J. // *Placenta.* 2003. V. 24. № 2–3. P. 270–275.
48. Reik W., Lewis A. // *Nat. Rev. Genet.* 2005. V. 6. № 5. P. 403–410.
49. Singh N., Ebrahimi F.A., Gimelbrant A.A., Ensminger A.W., Tackett M.R., Qi P., Gribnau J., Chess A. // *Nat. Genet.* 2003. V. 33. № 3. P. 339–341.
50. Ohlsson R., Paldi A., Graves J.A.M. // *Trends Genet.* 2001. V. 17. № 3. P. 136–141.
51. Turner J.M., Mahadevaiah S.K., Elliott D.J., Garchon H.J., Pehrson J.R., Jaenisch R., Burgoyne P.S. // *J. Cell Sci.* 2002. V. 115. № 21. P. 4097–4105.
52. Kalantry S., Purushothaman S., Bowen R.B., Starmer S., Magnuson T. // *Nature.* 2009. V. 460. № 7255. P. 647–651.
53. Chaumeil J., Le Baccon P., Wutz A., Heard E. // *Genes Dev.* 2006. V. 20. № 16. P. 2223–2237.
54. Clemson C.M., Hall L.L., Byron M., McNeil J., Lawrence J.B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. № 20. P. 7688–7693.
55. Zhang L.F., Huynh K.D., Lee J.T. // *Cell.* 2007. V. 129. № 4. P. 693–706.
56. Chureau C., Prissette M., Bourdet A., Barbe V., Cattolico L., Jones L., Eggen A., Avner P., Duret L. // *Genome Res.* 2002. V. 12. № 6. P. 894–908.
57. Johnston C.M., Newall A.E., Brockdorff N., Nesterova T.B. // *Genomics.* 2002. V. 80. № 2. P. 236–244.
58. Tian D., Sun S., Lee J.T. // *Cell.* 2010. V. 143. № 3. P. 390–403.
59. Chureau C., Chantalat S., Romito A., Galvani A., Duret L., Avner P., Rougeulle C. // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. № 4. P. 705–718.
60. Duret L., Chureau C., Samain S., Weissenbach J., Avner P. // *Science.* 2006. V. 312. № 5780. P. 1653–1655.
61. Elisaphenko E.A., Kolesnikov N.N., Shevchenko A.I., Rogozin I.B., Nesterova T.B., Brockdorff N., Zakian S.M. // *PLoS One.* 2008. V. 3. № 6. P. e2521.
62. Hore T.A., Koina E., Wakefield M.J., Graves J.A. // *Chromosome Res.* 2007. V. 15. № 2. P. 147–161.
63. Davidow L.S., Breen M., Duke S.E., Samollow P.B., McCarrey J.R., Lee J.T. // *Chromosome Res.* 2007. V. 15. № 2. P. 137–146.
64. Shevchenko A.I., Zakharova I.S., Elisaphenko E.A., Kolesnikov N.N., Whitehead S., Bird C., Ross M., Weidman J.R., Jirtle

- R.L., Karamysheva T.V., et al. // *Chromosome Res.* 2007. V. 15. № 2. P. 127–136.
65. Nesterova T.B., Slobodyanyuk S.Y., Elisaphenko E.A., Shevchenko A.I., Johnston C., Pavlova M.E., Rogozin I.B., Kolesnikov N.N., Brockdorff N., Zakian S.M. // *Genome Res.* 2001. V. 11. № 5. P. 833–849.
66. Lee J.T. // *Science.* 2005. V. 309. № 5735. P. 768–771.
67. Shevchenko A.I., Malakhova A.A., Elisaphenko E.A., Mazurok N.A., Nesterova T.B., Brockdorff N., Zakian S.M. // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 8. P. e22771.
68. Migeon B.R., Lee C.H., Chowdhury A.K., Carpenter H. // *Am. J. Hum. Genet.* 2002. V. 71. № 2. P. 286–293.
69. Migeon B.R. // *Nat. Genet.* 2003. V. 33. № 3. P. 337–338.
70. Graves J.A. // *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol. Part A.* 1991. V. 99. № 1–2. P. 5–11.
71. Carell L., Willard H.F. // *Nature.* 2005. V. 434. № 7031. P. 400–404.
72. Forsdyke D.R. // *Bioessays.* 2012. V. 34. № 11. P. 930–933.
73. Pack S.D., Borodin P.M., Serov O.L., Searle J.B. // *Chromosoma.* 1993. V. 102. № 5. P. 355–360.
74. Lyon M.F. // *Cytogenet. Cell Genet.* 1998. V. 80. № 1–4. P. 133–137.
75. Bailey J.A., Carrel L., Chakravarti A., Eichler E.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 12. P. 6634–6639.
76. Mikkelsen T.S., Wakefield M.J., Aken B., Amemiya C.T., Chang J.L., Duke S., Garber M., Gentles A.J., Goodstadt L., Heger A., Jurka J., Kamal M., Mauceli E., Searle S.M., Sharpe T., Baker M.L., Batzer M.A., Benos P.V., et al. // *Nature.* 2007. V. 447. № 7141. P. 167–177.
77. Chow J.C., Ciaudo C., Fazzari M.J., Mise N., Servant N., Glass J.L., Attreed M., Avner P., Wutz A., Barillot E., et al. // *Cell.* 2010. V. 141. № 6. P. 956–969.